

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.90102

鸡内金酶解物制备工艺优化及抗氧化活性研究

Optimization of preparation technology and antioxidant activity of enzymatic hydrolysates from corneum gigerii galli endothelium

张慧莹¹ 杨为乔¹ 陈瑶¹ 黎攀^{1,2} 杜冰^{1,2}ZHANG Hui-ying¹ YANG Wei-qiao¹ CHEN Yao¹ LI Pan^{1,2} DU Bing^{1,2}

(1. 华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642; 2. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室, 广东 广州 510642)

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China; 2. Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

摘要:目的:研究鸡内金的最佳酶解工艺条件,并分析其酶解物的氨基酸组成、分子量分布及抗氧化活性。方法:以鸡内金多肽得率、酶解液水解度为指标,采用正交试验优化鸡内金的酶解工艺条件;采用氨基酸分析仪、高效凝胶渗透色谱法测定鸡内金酶解物的氨基酸组成和分子量分布;并考察鸡内金酶解物对 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基的清除能力。结果:鸡内金最佳酶解工艺条件为以中性蛋白酶和碱性蛋白酶共同酶解,酶解温度 60 ℃,酶解时间 9 h,酶解 pH 值 11,蒸煮时间 6 h。该条件下鸡内金多肽得率为 75.68%,水解度为 14.43%;鸡内金酶解物的必需氨基酸与非必需氨基酸的比值为 58.56%,具有较高的营养价值;鸡内金酶解物相对分子质量 < 1 000 Da 所占比例为 90.2%,易于消化吸收;当鸡内金酶解物质量浓度为 1.5 mg/mL 时,其对 ABTS⁺ 自由基的清除率达到 94.19%。结论:最佳酶解工艺下,鸡内金多肽得率高达 75.68%,具有较好的抗氧化活性。

关键词:鸡内金;酶解;氨基酸组成;相对分子质量;抗氧化性

Abstract: Objective: In order to study the optimal enzymatic hydrolysis process conditions of corneum galli gigerii endothelium, and analyze the amino acid composition, molecular weight distribution and antioxidant activity of the enzymatic hydrolysate. **Methods:** With the yield of polypeptide and the degree of hydrolysis as indicators, the orthogonal experiment was used to optimize the enzymatic hydrolysis conditions of corneum galli gigerii endothelium. Amino acid analyzer and high-performance gel permeation chromatography were used to

determine the amino acid composition and molecular weight distribution of the enzymatic hydrolysate of corneum galli gigerii endothelium. The clear ability of corneum galli gigerii endothelium to DPPH free radicals and ABTS⁺ radical were also investigated. **Results:** The results showed that the optimal enzymatic hydrolysis conditions of corneum galli gigerii endothelium were as follows: co-enzymatic hydrolysis with neutral protease and alkaline protease, enzymatic hydrolysis temperature at 60 ℃, enzymatic hydrolysis for 9 h at pH 11, and cooking time for 6 h. Under the control of these conditions, the yield of polypeptide was 75.68%, and the degree of hydrolysis was 14.43%. The ratio of the essential amino acid to the non-essential amino acid of the enzymatic hydrolysate was 58.56%, which has high nutritional value. The proportion of enzymatic hydrolysate with a relative molecular mass of < 1 000 accounts for 90.2%, which was easy to be digested and absorbed. When the concentration of the enzymatic hydrolysate was 1.5 mg/mL, the scavenging rate of ABTS⁺ free radicals reached 94.19%. **Conclusion:** Using the optimal enzymatic hydrolysis process strategy, the yield of corneum galli gigerii endothelium polypeptide is as high as 75.68%, and it has good antioxidant activity.

Keywords: corneum galli gigerii endothelium; enzymolysis; amino acid composition; relative molecular mass; oxidation resistance

鸡内金为雉科动物家鸡 (*Gallus gallus domesticus* Brisson) 的干燥沙囊内壁,始载于《神农本草经》,表述为上品丹雄鸡项下^[1],于 2002 年被国家卫生计生委收录于“既是食品又是药品的物品名单”的药食同源名单中^[2],具有降血脂^[3-4]、保护心脏^[5]、健胃消食^[6]、增强肠道屏障功能^[7]等功效。近年来,有关生物酶解制取多肽的研究越来越多,其效率高、污染低,而且酶解产物包含许多人体必需氨基酸。另一方面,通过酶解可以得到具有抗氧化活性、缓解疲劳和降血压等功能性的更利于人体吸

基金项目:财政部和农业农村部:国家现代农业产业技术体系资助(编号:CARs-21)

作者简介:张慧莹,女,华南农业大学在读硕士研究生。

通信作者:杜冰(1973—),男,华南农业大学教授,博士。

E-mail:gzdubing@163.com

收稿日期:2021-09-03

收的小分子多肽^[8-9]。但目前有关鸡内金酶解及酶解产物的研究较少^[10]。研究拟利用中性蛋白酶及碱性蛋白酶对鸡内金进行酶解,探究鸡内金的最佳酶解工艺和酶解物的相对分子质量分布、氨基酸组成和抗氧化活性,以期对鸡内金的进一步开发利用及鸡内金多肽的分离纯化与功能开发等提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

干鸡内金:市售;

氢氧化钠、五水合硫酸铜、四水合酒石酸钾钠、甲醛、二水合 5-磺基水杨酸:分析纯,广州化学试剂厂;

三氯乙酸:分析纯,上海麦克林生化科技有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

杜马斯快速定氮分析仪:rapid N exceed 型,德国元素 Elementar 公司;

全自动氨基酸分析仪:S-433D 型,赛卡姆公司;

全自动氨基酸分析仪:日立 L-8900 型,日立高新技术公司;

笔式酸度计:PHB-3 型,上海悦丰仪器仪表有限公司;

磁力搅拌器:85-2WS 型,上海沪析实业有限公司;

数显恒温循环水箱:HH-420 型,上海力辰邦西仪器科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 鸡内金基本成分分析

(1) 粗多糖含量:按 SN/T 4260—2015 执行。

(2) 粗脂肪含量:按 GB 5009.6—2016 执行。

(3) 蛋白质含量:按 GB 5009.5—2016 执行。

1.3.2 单因素试验 将干燥鸡内金粉碎过 60 目筛,称取一定量的鸡内金粉末,以中性蛋白酶添加量为 0.5% 和碱性蛋白酶添加量为 1.5% 作为单因素试验的基础条件,分别对酶解 pH、酶解温度、酶解时间和蒸煮时间进行单因素试验分析,以鸡内金多肽得率及水解度(以干重计)为衡量指标。

(1) 蒸煮时间:固定酶解 pH 为 8,酶解温度 50 ℃,酶解时间 3 h,100 ℃ 灭酶 10 min,考察蒸煮时间(2,3,4,5,6 h)对酶解上清液水解度和多肽得率的影响。

(2) 酶解 pH:固定蒸煮时间 4 h,酶解温度 50 ℃,酶解时间 6 h,100 ℃ 灭酶 10 min,考察酶解 pH(7,8,9,10,11)对酶解上清液水解度和多肽得率的影响。

(3) 酶解时间:固定蒸煮时间 4 h,酶解 pH 为 8,酶解温度 50 ℃,100 ℃ 灭酶 10 min,考察酶解时间(5,6,7,8,9 h)对酶解上清液水解度和多肽得率的影响。

(4) 酶解温度:固定蒸煮时间 4 h,酶解 pH 为 8,酶解时间 6 h,100 ℃ 灭酶 10 min,考察酶解温度(45,50,55,60,65 ℃)对酶解上清液水解度和多肽得率的影响。

1.3.3 正交试验 根据单因素试验结果,以水解度及多

肽得率为衡量指标,选取酶解温度、酶解时间、酶解 pH 值和蒸煮时间为影响因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进行酶解试验。

1.3.4 水解度测定 参照冯倩等^[8]的方法并修改。先测定鸡内金总氮含量;再测定酶解液中游离氨基酸态氮(C_N)含量,并按式(1)计算水解度。

$$D_H = C_N \times V / N \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

D_H ——水解度,%;

C_N ——酶解液中游离氨基酸态氮含量,g/mL;

N ——总氮含量,g;

V ——酶解液总体积,mL。

1.3.5 多肽含量测定 参照冯倩等^[8]的方法。

1.3.6 氨基酸组成分析

(1) 水解氨基酸:参照 GB 5009.124—2016 并修改。准确称取 0.050 0 g 鸡内金粉末及 0.030 0 g 鸡内金酶解物,分别加入 10 mL 盐酸溶液(6 mol/L),充入氮气,110 ℃ 电热鼓风恒温箱中水解 23 h,过滤,取 1 mL 滤液,56 ℃ 水浴蒸干,再加入 1 mL 一级水,蒸干,重复两次。彻底蒸干后加入 4 mL 柠檬酸钠缓冲溶液(pH 2.2),振荡混匀,过 0.22 μ m 滤膜,进样进行氨基酸自动分析仪分析。

(2) 游离氨基酸:准确称取 1 g 鸡内金粉末,加入 3 mL 5% 磺基水杨酸研磨 30 min,静置 2 h,离心,上清液过 0.22 μ m 滤膜,进样进行氨基酸自动分析仪分析。

1.3.7 多肽相对分子质量分布测定 参照朱翰林等^[11]的方法。色谱柱为 TOSOH TSKgel G2000SWXL 凝胶柱,流动相为乙腈—水溶液($V_{水}:V_{乙腈}=80:20$,内含 0.1% 的三氯乙酸),流速 0.5 mL/min,进样量 5 μ L(质量浓度 1 g/L),检测器为紫外检测器,检测波长 220 nm。

1.3.8 多肽抗氧化性测定 按 GB/T 39100—2020 执行。

1.3.9 数据处理 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析, $P < 0.05$ 认为具有显著差异。

2 结果与分析

2.1 基本成分

由表 1 可知,鸡内金营养成分组成绝大部分为蛋白质,其含量(干基)高达 97.54%,多糖、脂肪等营养成分含量低,除杂工序简单,且鸡内金作为一种畜产品加工的副产品,具有便宜易得的特点,是一种理想的酶解原料。基于经济效益和时间考虑,采用无需预先进行脱脂、脱糖处理,直接进行酶解的试验方法。

表 1 鸡内金的基本成分

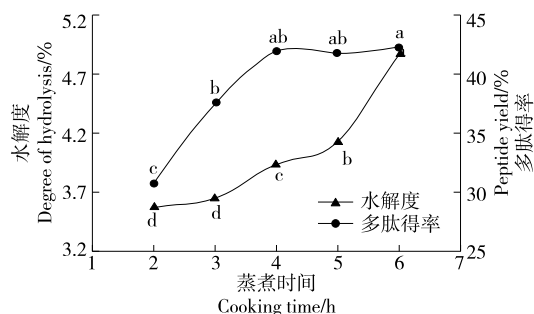
					%
蛋白质	脂肪	多糖	水解氨基酸	游离氨基酸	
97.54	1.78	1.67	95.73	0.05	

2.2 单因素试验

2.2.1 蒸煮时间对水解度及多肽得率的影响 由图 1 可知,随着蒸煮时间的延长,鸡内金水解度逐渐增大,鸡内金多肽得率则先增大后趋于平稳。这是因为酶解前进行高温蒸煮会破坏鸡内金的蛋白质结构,使得更多酶作用位点暴露出来,有利于蛋白质肽键的断裂和酶解反应的进行,在一定范围内,适当延长蒸煮时间有利于提高水解度和多肽得率,当水解度和多肽得率达到最大值时,由于底物有限,水解度和多肽得率便不再增加^[12]。综合分析,选择蒸煮时间 4,5,6 h 作为正交试验的 3 个水平。

2.2.2 酶解 pH 对水解度及多肽得率的影响 由图 2 可知,随着 pH 值的增大,鸡内金水解度先增加后趋于平稳,多肽得率先增加后降低。当酶解 pH 值为 10 时,多肽得率最高为 61.27%。多肽得率降低可能是因为酶解 pH 值 >10 时,将大分子蛋白酶解为由 3 个或 3 个以上氨基酸组成的多肽的酶在非最适 pH 值环境下活性减弱^[8]。综合考虑,选择酶解 pH 值为 9,10,11 作为正交试验的 3 个水平。

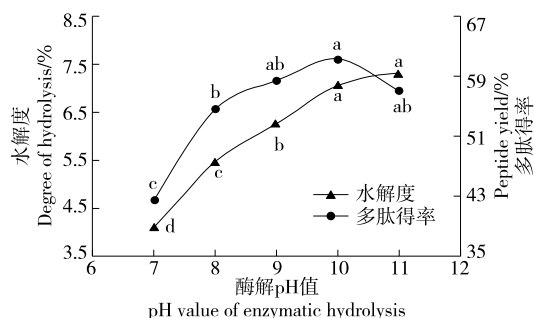
2.2.3 酶解时间对水解度及多肽得率的影响 由图 3 可知,随着酶解时间的延长,鸡内金水解度先增加后趋于平稳,多肽得率先增加后下降,当酶解时间为 8 h 时,多肽得率最高。当酶解时间 >8 h 时,多肽得率开始下降,可能是因为酶解时间过长,多肽被进一步酶解成二肽或少数



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 蒸煮时间对水解度及多肽得率的影响

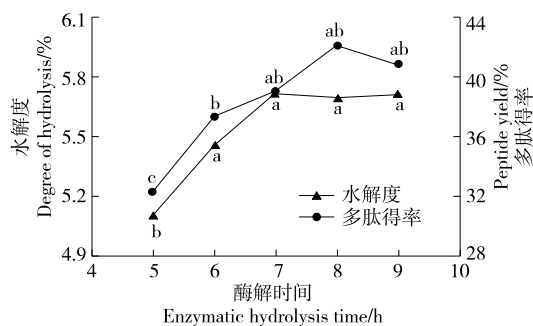
Figure 1 Effect of cooking time on degree of hydrolysis and peptide yield



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 2 酶解 pH 值对水解度及多肽得率的影响

Figure 2 Effect of the pH value of enzymatic hydrolysis on degree of hydrolysis and peptide yield



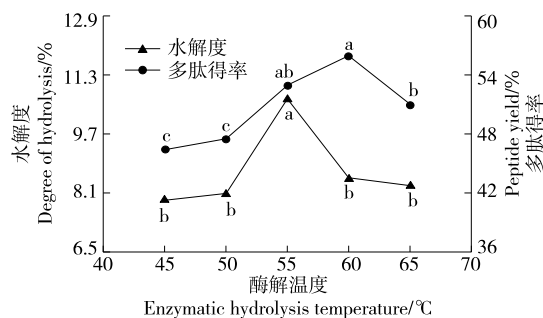
小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 酶解时间对水解度及多肽得率的影响

Figure 3 Effect of enzymatic hydrolysis time on degree of hydrolysis and peptide yield

分的游离氨基酸^[13-14],无法被双缩脲法检测出来。综合考虑,采用酶解时间 7,8,9 h 作为正交试验的 3 个水平。

2.2.4 酶解温度对水解度及多肽得率的影响 由图 4 可知,随着酶解温度的增加,鸡内金水解度和多肽得率均先增加后降低。当酶解温度为 55 °C 时,水解度达到最高为 10.67%,当酶解温度为 60 °C 时,多肽得率达到最高为 55.95%。酶的催化活性受酶解温度影响较大,当鸡内金酶解温度超出其最适反应温度范围,酶活性小,酶解程度低,水解度和多肽得率低^[11, 15]。综合考虑,采用酶解温度 55,60,65 °C 作为正交试验的 3 个水平。



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 酶解温度对水解度及多肽得率的影响

Figure 4 Effect of enzymatic hydrolysis temperature on degree of hydrolysis and peptide yield

2.3 正交试验

在单因素试验基础上,选择酶解温度、酶解时间、酶解 pH 值和蒸煮时间为影响因素,以多肽得率和水解度为响应值,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验对鸡内金酶解工艺进行优化,正交试验因素水平表见表 2,试验设计及结果见表 3。

由表 3 可知,各因素对鸡内金多肽得率影响大小为酶解 pH 值 > 酶解时间 > 蒸煮时间 > 酶解温度,理论最优鸡内金酶解工艺组合为 $A_2B_3C_3D_3$;各因素对鸡内金水解度影响大小为酶解 pH 值 > 蒸煮时间 > 酶解时间 > 酶解温度,理论最优鸡内金酶解工艺组合为 $A_2B_1C_3D_3$ 及 $A_2B_3C_3D_3$ 。从多肽得率和水解度两方面综合考虑,确定

表 2 正交试验因素水平表
Table 2 The factor level of orthogonal experiment

水平	A 酶解温度/℃	B 酶解时间/h	C 酶解 pH 值	D 蒸煮时间/h
1	55	7	9	4
2	60	8	10	5
3	65	9	11	6

表 3 正交试验设计与结果分析
Table 3 Orthogonal experimental design and result analysis

试验号	A	B	C	D	多肽得率/%	水解度/%
1	1	1	1	1	49.24	6.98
2	1	2	3	2	56.61	8.52
3	1	3	2	3	63.83	9.22
4	2	1	3	3	73.78	14.53
5	2	2	2	1	53.19	7.00
6	2	3	1	2	54.33	7.80
7	3	1	2	2	49.70	6.80
8	3	2	1	3	49.62	7.40
9	3	3	3	1	68.84	11.29
	k_1	56.56	57.57	51.06	57.09	
多肽得率	k_2	60.44	53.14	55.57	53.55	优组合
	k_3	56.05	62.34	66.41	62.41	$A_2B_3C_3D_3$
	R	4.38	9.19	10.84	8.87	
	k_1	8.24	9.44	7.39	8.42	
水解度	k_2	9.78	7.64	7.68	7.71	优组合
	k_3	8.50	9.44	11.45	10.38	$A_2B_1C_3D_3$
	R	1.54	1.79	3.77	2.68	$A_2B_3C_3D_3$

$A_2B_3C_3D_3$ 为最优鸡内金酶解工艺,即酶解温度 60 ℃,酶解时间 9 h,酶解 pH 值 11,蒸煮时间 6 h。该条件下进行验证实验($n=3$),得到鸡内金多肽得率为 75.68%,水解度为 14.43%。

2.4 鸡内金及其酶解物氨基酸组成分析

由表 4 可知,鸡内金酶解后,大部分氨基酸含量略微减少,是因为在碱性条件下进行酶解,除色氨酸外,绝大部分氨基酸都会受到不同程度的破坏。但鸡内金与鸡内金酶解物的 17 种氨基酸及不同呈味特征氨基酸的占比相差无几,含量最丰富的 5 种氨基酸均为谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)、精氨酸(Arg)、亮氨酸(Leu)和缬氨酸(Val),与李泽鸿等^[16]的结果较为相似,说明碱性蛋白酶与中性蛋白酶共同酶解较好地保留了鸡内金的氨基酸多样性。鸡内金与鸡内金酶解物的必需氨基酸(EAA)与非必需氨基酸(NEAA)的比值(EAA/NEAA)分别为 57.02%,58.56%,均高于 FAO/WHO 的比值(40%)^[8],说明鸡内金和鸡内金酶解物含有较高的营养价值。

由表 5 可知,甲硫氨酸 RC 值最低,RC 值>1 表示该

表 4 氨基酸组成分析
Table 4 Analysis of amino acid composition

水解氨基酸	鸡内金		鸡内金酶解物	
	含量/ (10 ⁻² g·g ⁻¹)	比例/ %	含量/ (10 ⁻² g·g ⁻¹)	比例/ %
谷氨酸(Glu)	11.45	0.13	10.27	0.13
天冬氨酸(Asp)	10.32	0.12	9.72	0.12
精氨酸(Arg)	8.18	0.09	6.75	0.09
亮氨酸(Leu)	6.73	0.08	6.22	0.08
缬氨酸(Val)	6.54	0.08	5.69	0.07
酪氨酸(Tyr)	6.04	0.07	5.36	0.07
异亮氨酸(Ile)	4.82	0.06	4.39	0.06
甘氨酸(Gly)	4.73	0.05	4.34	0.06
苏氨酸(Thr)	4.58	0.05	4.32	0.06
苯丙氨酸(Phe)	4.57	0.05	4.25	0.05
丙氨酸(Ala)	4.20	0.05	4.02	0.05
脯氨酸(Pro)	3.91	0.05	3.13	0.04
丝氨酸(Ser)	3.42	0.04	3.27	0.04
赖氨酸(Lys)	2.80	0.03	2.77	0.04
半胱氨酸(Cys)	1.61	0.02	1.11	0.01
甲硫氨酸(Met)	1.24	0.01	1.15	0.01
组氨酸(His)	0.67	0.01	1.18	0.02
必需氨基酸	31.27	0.36	28.78	0.37
非必需氨基酸	54.86	0.64	49.15	0.63
鲜味氨基酸	24.56	0.29	22.76	0.31
甜味氨基酸	21.50	0.25	15.93	0.22
苦味氨基酸	27.50	0.32	24.20	0.33
芳香氨基酸	12.21	0.14	10.72	0.15
水解氨基酸总和			85.78	77.93
蛋白质含量			87.77	

氨基酸相对过剩,RC 值<1 表示该氨基酸相对不足,RC 值最小的氨基酸为限制氨基酸,故甲硫氨酸为二者的限制性氨基酸^[17]。

2.5 鸡内金酶解物相对分子质量分布

由图 5 和表 6 可知,鸡内金酶解物的数均分子量为 108.50 Da,重均分子量为 376.63 Da,峰位分子量为 103.95 Da,平均分子量为 1 057.4 Da。其中,相对分子质量<1 000 Da 的酶解物所占比例为 90.2%,相对分子质量为 1 000~2 000 Da 的酶解物所占比例为 7.9%,相对分子质量为 2 000~5 000 Da 的酶解物所占比例为 1.9%。说明酶解后,绝大部分难溶的大分子鸡内金蛋白被酶解成易溶于水的小分子多肽,更加有利于消化吸收^[18]。

2.6 鸡内金酶解物的抗氧化性

2.6.1 对 DPPH 自由基的清除能力 由图 6 可知,在 0~10 mg/mL 的质量浓度范围内,随着鸡内金酶解物质量浓度的提高,DPPH 自由基清除率也随之提高。与谷胱甘肽相比,鸡内金酶解物的 DPPH 自由基清除效果较差,但

表 5 各种必需氨基酸的氨基酸比值(RAA)、比值系数(RC)及比值系数分(SRC)

Table 5 RAA, RC and SRC of human essential amino acids

氨基酸	FAO/WHO 模式/ (10 ⁻² g · g ⁻¹)	鸡内金				鸡内金酶解物			
		含量/(10 ⁻² g · g ⁻¹)	RAA	RC	SRC	含量/(10 ⁻² g · g ⁻¹)	RAA	RC	SRC
甲硫氨酸	3.5	1.44	0.41	0.41		1.48	0.42	0.42	
缬氨酸	5.0	7.59	1.52	1.50		7.30	1.46	1.45	
亮氨酸	7.0	7.81	1.12	1.11		7.98	1.14	1.13	
赖氨酸	5.5	3.25	0.59	0.58	63.23	3.55	0.65	0.64	65.30
异亮氨酸	4.0	4.82	1.21	1.20		4.39	1.10	1.09	
苯丙氨酸	6.0	5.31	0.89	0.88		5.45	0.91	0.90	
苏氨酸	4.0	5.32	1.33	1.32		5.54	1.39	1.38	

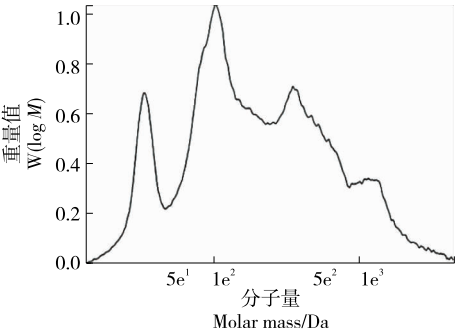


图 5 鸡内金酶解物分子量分布图

Figure 5 Molecular weight distribution diagram of enzymatic hydrolysate of galli gigerii endothelium corneum

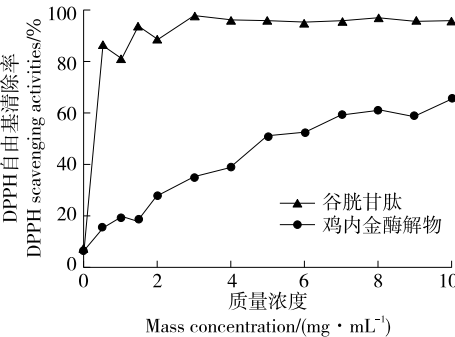


图 6 鸡内金酶解物对 DPPH 自由基的清除能力

Figure 6 Scavenging ability of enzymatic hydrolysis products of galli gigerii endothelium corneum on DPPH free radicals

与南极磷虾多肽^[19]和乌贼墨多肽^[20]的效果相当,说明鸡内金酶解物仍具有一定的抗氧化活性,能在一定程度上减轻机体的氧化损伤。

2.6.2 对 ABTS⁺ 自由基的清除能力 由图 7 可知,在 0~10 mg/mL 的质量浓度范围内,随着鸡内金酶解物质量浓度的提高,ABTS⁺ 自由基清除率也随之提高,且在 1.5 mg/mL 质量浓度时,鸡内金酶解物对 ABTS⁺ 自由基的清除率达 (94.19±0.26)%,与谷胱甘肽的最大清除率

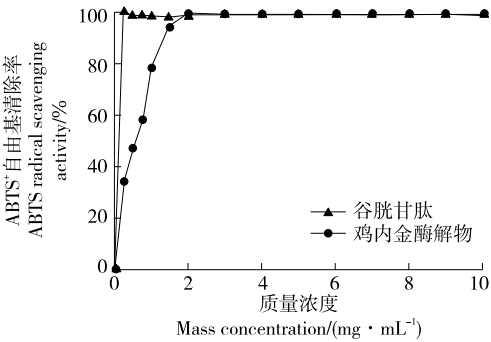


图 7 鸡内金酶解物对 ABTS⁺ 自由基的清除能力

Figure 7 Scavenging ability of enzymatic hydrolysis products of galli gigerii endothelium corneum on ABTS⁺ free radicals

相近,且与南极磷虾多肽^[19]和乌贼墨多肽^[20]相比,鸡内金酶解物具有较强的 ABTS⁺ 自由基清除能力,说明鸡内金酶解物可能是多肽类抗氧化剂的良好来源。

3 结论

试验表明,鸡内金的最佳酶解工艺条件为利用中性蛋白酶和碱性蛋白酶共同酶解,酶解温度 60℃,酶解时间 9 h,酶解 pH 值 11,蒸煮时间 6 h,此条件下鸡内金多肽得率为 75.68%,水解度为 14.43%;该酶解工艺较好地保留了鸡内金氨基酸的多样性和营养价值,氨基酸组成与酶解前相差无几,相对分子质量<1 000 Da 的酶解物所占比例为 90.2%,使得鸡内金更易被人体消化吸收利用;此外,采用该工艺制备的鸡内金酶解物还具有一定的抗氧化活性。后续可分析酶解物中具体类别的多肽、单一多肽的提纯及特异生理功能。

参考文献

[1] 王宝庆,郭宇莲,练有扬,等. 鸡内金化学成分及药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(33): 137-139.
WANG Bao-qing, GUO Yu-lian, LIAN You-yang, et al. Research progress on the chemical constituents and pharmacological effects of Gallus gallus domesticus[J]. Journal of Anhui Agricultural Sci-

- ences, 2017, 45(33): 137-139.
- [2] 王楠, 顾笑妍, 吴怡, 等. 鸡内金的临床应用及药理作用研究概况[J]. 江苏中医药, 2021, 53(1): 77-81.
- WANG Nan, GU Xiao-yan, WU Yi, et al. Overview of clinical application and pharmacological effects of *Gallus gallus domesticus* [J]. Jiangsu Traditional Chinese Medicine, 2021, 53(1): 77-81.
- [3] 王会, 金平, 梁新合, 等. 鸡内金化学成分和药理作用研究[J]. 吉林中医药, 2018, 38(9): 85-87.
- WANG Hui, JIN Ping, LIANG Xin-he, et al. Studies on the chemical constituents and pharmacological effects of *Gallus gallus domesticus* [J]. Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 38(9): 85-87.
- [4] 王鹏飞, 高慧敏, 邹忠梅, 等. 药食两用中药鸡内金的研究概况[J]. 中国药杂志, 2017, 52(7): 535-538.
- WANG Peng-fei, GAO Hui-min, ZOU Zhong-mei, et al. Research overview of *Gallus gallus domesticus*, a traditional Chinese medicine for food and medicine [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2017, 52(7): 535-538.
- [5] XIONG Q, JING Y, LI X, et al. Characterization and bioactivities of a novel purified polysaccharide from *Endothelium corneum gigeriae Galli* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 78: 324-332.
- [6] 李卫先, 李飞燕, 李达, 等. 鸡内金不同炮制方法水提液对小鼠胃肠运动比较的研究[J]. 湖南中医杂志, 2008, 24(2): 100-101.
- LI Wei-xian, LI Fei-yan, LI Da, et al. Comparative study on the effects of different processing methods of *Gallus gallus domesticus* on gastrointestinal motility in mice [J]. Hunan Journal of Traditional Chinese Medicine, 2008, 24(2): 100-101.
- [7] LI S, ZHENG M, ZHANG Z, et al. *Galli gigeriae endothelium corneum*: Its intestinal barrier protective activity in vitro and chemical composition [J]. Chinese Medicine, 2021, 16(1): 22.
- [8] 冯倩, 曾里, 冉旭, 等. 低分子量鲢鱼蛋白肽的酶解工艺优化及氨基酸分析[J]. 中国调味品, 2020, 45(1): 84-89.
- FENG Qian, ZENG Li, RAN Xu, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of low molecular weight catfish protein peptides and amino acid analysis [J]. China Seasoning, 2020, 45(1): 84-89.
- [9] 李晓叶, 张珍, 王琼, 等. 羊骨多肽酶法制备工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(10): 130-135, 142.
- LI Xiao-ye, ZHANG Zhen, WANG Qiong, et al. Optimization of enzymatic preparation of sheep bone polypeptide and study on antioxidant activity [J]. Food & Machinery, 2020, 36(10): 130-135, 142.
- [10] 张秀桥, 赵刚, 陈家春. 鸡内金酶解产物氨基酸分析研究[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(7): 864-866.
- ZHANG Xiu-qiao, ZHAO Gang, CHEN Jia-chun. Amino acid analysis of enzymatic hydrolysis products of *Gallus gallus domesticus* [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2007, 27(7): 864-866.
- [11] 朱翰林, 刘茜, 郑思瑶, 等. 牡蛎多肽的酶解工艺及抗氧化活性与相对分子质量分布研究[J]. 食品科技, 2020, 45(6): 142-149.
- ZHU Han-lin, LIU Qian, ZHENG Si-yao, et al. Study on the enzymatic hydrolysis process, antioxidant activity and relative molecular mass distribution of oyster peptides [J]. Food Science and Technology, 2020, 45(6): 142-149.
- [12] 张新武, 麦雄健. 酶与高压蒸煮耦合水解蛹虫草蛋白质的工艺研究[J]. 食品工业, 2018, 39(4): 129-133.
- ZHANG Xin-wu, MAI Xiong-jian. Study on the hydrolysis of *Cordyceps militaris* protein by enzyme and high-pressure cooking [J]. Food Industry, 2018, 39(4): 129-133.
- [13] 徐仰丽, 叶剑, 余海, 等. 南方刺参性腺多肽酶解工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(19): 181-187.
- XU Yang-yi, YE Jian, YU Hai, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of gonadal peptides from southern sea cucumber and analysis of antioxidant activity [J]. Food Industry Science and Technology, 2018, 39(19): 181-187.
- [14] 王思琪, 傅晶依, 丁修庆, 等. 双酶法提取甜瓜籽多肽的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(8): 94-99.
- WANG Si-qi, FU Jing-yi, DING Xiu-qing, et al. Study on the extraction process of melon seed polypeptides by double enzyme method [J]. Food Research and Development, 2020, 41(8): 94-99.
- [15] 郑瑞生, 林雅萍, 孙秋琼, 等. 酶解马鲛鱼下脚料制备海鲜酱工艺优化[J]. 食品与机械, 2021, 37(6): 201-206, 212.
- ZHENG Rui-sheng, LIN Ya-ping, SUN Qiu-qiong, et al. Optimization of the preparation of seafood sauce by enzymatic hydrolysis of mackerel scraps [J]. Food & Machinery, 2021, 37(6): 201-206, 212.
- [16] 李泽鸿, 陈丹, 李振华. 鸡内金中氨基酸及营养元素含量的测定[J]. 氨基酸和生物资源, 2002, 24(4): 20-21.
- LI Ze-hong, CHEN Dan, LI Zhen-hua. Determination of amino acid and nutrient elements in *Gallus gallus domesticus* [J]. Amino Acids and Biological Resources, 2002, 24(4): 20-21.
- [17] 朱圣陶, 吴坤. 蛋白质营养价值评价——氨基酸比值系数法[J]. 营养学报, 1988, 10(2): 187-190.
- ZHU Sheng-tao, WU Kun. Evaluation of protein nutritional value: Amino acid ratio coefficient method [J]. Acta Nutrition Sinica, 1988, 10(2): 187-190.
- [18] 王洁, 何桂珍, 王玉康, 等. 小肽的吸收转运机制及生理学作用[J]. 中华临床营养杂志, 2013, 21(5): 300-304.
- WANG Jie, HE Gui-zhen, WANG Yu-kang, et al. The absorption and transport mechanism and physiological effects of small peptides [J]. Chinese Journal of Clinical Nutrition, 2013, 21(5): 300-304.
- [19] 刘小芳, 颜征, 冷凯良, 等. 南极磷虾多肽的组成及其抗氧化与 ACE 抑制活性[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(23): 7-13.
- LIU Xiao-fang, YAN zheng, LENG Kai-liang, et al. The composition of Antarctic krill peptides and their antioxidant and ACE inhibitory activities [J]. Food Research and Development, 2020, 41(23): 7-13.
- [20] 景奕文, 杨最素, 丁国芳, 等. 乌贼墨多肽体外抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(27): 10 971-10 973, 11 025.
- JING Yi-wen, YANG Zui-su, DING Guo-fang, et al. In vitro antioxidant activity of sepia peptides [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(27): 10 971-10 973, 11 025.