

卵白蛋白肽复合酶法制备工艺优化及解酒效果

Optimization of preparation technology of ovalbumin-peptide by complex enzyme and its antialcoholic effect

齐兴宇¹ 闫小娟² 张海悦¹

QI Xing-yu¹ YAN Xiao-juan² ZHANG Hai-yue¹

(1. 长春工业大学, 吉林 长春 130000; 2. 吉林省富生特医食品有限公司, 吉林 长春 130607)

(1. Changchun University of Technology, Changchun, Jilin 130000, China;

2. Jilin Fusheng Special Medical Food, Changchun, Jilin 130607, China)

摘要:目的:验证卵白蛋白肽的解酒活性,提高鸡蛋产品的附加值。方法:用碱性蛋白酶和胰蛋白酶复合酶解卵白蛋白,以乙醇脱氢酶(ADH)激活率为指标,采用响应曲面法优化酶解工艺。通过检测卵白蛋白肽的总抗氧化性、水解度、氨基酸组成及相对分子质量,评估卵白蛋白肽的解酒效果。结果:最佳酶解工艺条件:酶解时间 5 h,复合酶用量 3 100 U/g,酶解温度 50 ℃,料液比($m_{\text{卵白蛋白}} : V_{\text{蒸馏水}}$) 3.5 : 25 (g/mL),在此条件下得到的卵白蛋白肽 ADH 激活率为 $(22.71 \pm 0.15)\%$,总抗氧化能力值为 (9.51 ± 0.03) U/mL,水解度为 $(29.28 \pm 0.16)\%$ 。卵白蛋白肽富含谷氨酸(9.554 3%)、丙氨酸(3.863 3%)、亮氨酸(5.764 7%)等有益于提高解酒活性的氨基酸,小分子肽($<1\ 000$ Da)含量超过 88.77%。结论:使用复合酶解法制备的卵白蛋白肽具有良好的抗氧化活性和解酒效果。
关键词:卵白蛋白肽;ADH 激活率;酶解优化;抗氧化;促乙醇代谢

Abstract: Objective: This study aimed to verify the antialcoholic activity of ovalbumin peptide and improve the added value of egg products. **Methods:** Ovalbumin was hydrolyzed by alkaline protease and trypsin. The activity rate of alcohol dehydrogenase (ADH) was taken as index, and the enzymolysis process was optimized by response surface methodology. The total antioxidant activity, hydrolysis degree, amino acid composition and relative molecular weight of ovalbumin peptide were determined to evaluate the antialcoholic effect of ovalbumin peptide. **Results:** The optimum enzymatic hydrolysis conditions were as follows. Under the conditions of enzymatic hydrolysis time 5 h, dosage of complex enzyme 3 100 U/g, enzymatic hydrolysis temperature

50 ℃, ratio of solid to liquid $m_{\text{ovalbumin}} : V_{\text{distilled water}} = 3.5 : 25$ (g/mL), the ADH activation rate of ovalbumin peptide was $(22.71 \pm 0.15)\%$, and the total antioxidant capacity was (9.51 ± 0.03) U/mL. The degree of hydrolysis was $(29.28 \pm 0.16)\%$. Ovalbumin peptide was rich in amino acids such as glutamic acid (9.554 3%), alanine (3.863 3%), leucine (5.764 7%), which was beneficial to improve the activity of antialcoholic, and the content of small molecule peptide ($<1\ 000$ Da) was more than 88.77%. **Conclusion:** The ovalbumin peptide prepared by complex enzymatic hydrolysis method has good antioxidant activity and antialcoholic effect.

Keywords: ovalbumin peptide; alcohol dehydrogenase activation rate; enzymatic hydrolysis optimization; antioxidation; promote ethanol metabolism

小分子肽可被用作解酒产品^[1-2]。其解酒护肝的作用机理包括:提高人体内乙醇脱氢酶(ADH)的活性以加快酒精的代谢速度;清除在酒精代谢的过程中产生的大量自由基从而降低酒精对肝脏的损伤^[3-4]。另外,有研究^[5]发现肽类物质中含有的谷氨酸、丙氨酸、亮氨酸有利于合成乙醇代谢酶并减轻醉酒症状。目前已有的小分子肽类解酒产品主要以植物或海产品中的蛋白质为原料,但其蛋白组分常为难以纯化的复杂蛋白,影响酶解效果^[6-7]。卵白蛋白是鸡蛋清中含量最丰富的一种蛋白质,含有人体所需的所有必须氨基酸,是制备活性肽的理想原料^[8]。目前,卵白蛋白的纯化方法已经相当成熟,蛋白酶解时的利用率更高^[9]。研究拟用碱性蛋白酶和胰蛋白酶复合酶解得到卵白蛋白肽,以瓦勒-霍赫法来评价卵白蛋白肽的体外促乙醇代谢能力^[10],以 ADH 激活率为响应因素^[11],采用响应面法优化酶解工艺,并测定卵白蛋白肽的总抗氧化能力、水解度、氨基酸组成及相对分子质量的分布情况,旨在验证卵白蛋白肽的解酒活性,为提高鸡蛋产品的附加值提供新的途径。

作者简介:齐兴宇,男,长春工业大学在读硕士研究生。

通信作者:张海悦(1967—),女,长春工业大学教授,博士。

E-mail: zhhaiyue@163.com

收稿日期:2022-01-06

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

卵白蛋白:实验室自制;

牛胰蛋白酶(250 U/mg)、碱性蛋白酶(200 U/mg)、乙醇脱氢酶(2 500 U/mL)、茚三酮:上海源叶生物科技有限公司;

总抗氧化能力试剂盒、ADH 激活率试剂盒:南京建成生物工程研究所。

1.2 主要仪器设备

电子天平:FA2104A 型,上海精天电子仪器有限公司;

台式高速离心机:TG16G 型,湖南凯达科学仪器有限公司;

冷冻干燥机:FD-IA-50 型,北京博医康实验仪器有限公司;

pH 计:3C 型,上海雷磁仪器厂;

紫外可见分光光度计:UV5500PC 型,上海元析仪器有限公司;

数显恒温水浴锅:HH-4 型,常州天瑞仪器有限公司;

集热式搅拌器:DF-101S 型,金坛市科析仪器有限公司;

旋涡混合器:XH-B 型,江苏天翎仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 卵白蛋白肽制备 取 1 g 卵白蛋白于 25 mL 离心管中,用 15 mL 蒸馏水溶解,加入碱性蛋白酶和胰蛋白酶复合酶各 4 000 U/g,用 0.5 mol/L 的 NaOH 溶液将体系 pH 值调为 9.0^[12],放入 50 °C 恒温摇床中酶解 5 h,酶解过程中每 30 min 调一次 pH 值。酶解结束后立即在 90 °C 水浴下加热 10 min 使酶灭活,然后迅速冷却到 4 °C 以 4 000 r/min 离心 5 min,取上清液冷冻干燥得到卵白蛋白肽粉末^[13-14]。

1.3.2 乙醇脱氢酶(ADH)激活率的测定 按瓦勒-霍赫法^[15]及 ADH 试剂盒方法执行。在试管中加入 1.5 mL 的焦磷酸钠缓冲液(pH 8.8),1.0 mL 0.027 mol/L 的氧化型辅酶 I (NAD⁺),0.1 mL 卵白蛋白肽冻干前的上清液和 0.5 mL 体积分数 11.5% 的乙醇溶液,混匀,25 °C 保温 5 min,立即加入 0.1 mL 0.25 U/mL 的乙醇脱氢酶(ADH),混匀,测定 340 nm 处的吸光度,双蒸水调零。5 min 后观察 340 nm 处吸光度的变化以确定生成的还原型辅酶 I (NADH)量。以蒸馏水代替卵白蛋白肽溶液进行空白对照。按式(1)计算 ADH 激活率。

$$W_{\text{ADH}} = \frac{A_{1,420 \text{ nm}} - A_{0,420 \text{ nm}}}{A_{0,420 \text{ nm}}} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

W_{ADH} ——ADH 激活率,%;

$A_{1,420 \text{ nm}}$ ——样品在 450 nm 处的吸光度;

$A_{0,420 \text{ nm}}$ ——对照溶液在 450 nm 处的吸光度。

1.3.3 总抗氧化能力的测定 将总抗氧化能力试剂盒中的试剂 1、试剂 2、试剂 3 按体积比 7:1:1 混合,37 °C 下

水浴 15 min,取 900 μL 混合液置于 1.5 mL 离心管中,加入 30 μL 卵白蛋白肽上清液和 70 μL 蒸馏水,同时以相同体积蒸馏水设置空白对照,将样品充分混匀,在 37 °C 下反应 10 min,测定 520 nm 处的吸光度值。按式(2)计算卵白蛋白肽总抗氧化能力。

$$M = \frac{A_{1,520 \text{ nm}} - A_{0,520 \text{ nm}}}{0.01 \times 30}, \quad (2)$$

式中:

M ——卵白蛋白肽总抗氧化能力;

$A_{1,520 \text{ nm}}$ ——样品在 520 nm 处的吸光度;

$A_{0,520 \text{ nm}}$ ——对照溶液在 520 nm 处的吸光度。

1.3.4 水解度的测定 参照茚三酮显色法并根据文献^[16]稍作修改。分别取 0.1 g 卵白蛋白与卵白蛋白肽粉末用蒸馏水定容到 10 mL,取 0.2 mL 样品,加入 0.8 mL 蒸馏水,1 mL 显色剂。混匀后沸水浴加热 15 min。待溶液冷却后加入 5.0 mL 体积分数 40% 的乙醇溶液混匀,静置 15 min 后测定 570 nm 波长处的吸光度。以甘氨酸标准曲线计算酶解前后样品溶液中游离氨基酸的含量,并采用微量凯氏定氮法测定卵白蛋白中氨基酸的总量。按式(3)计算卵白蛋白水解度。

$$H = \frac{w_1 - w_2}{w_3} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

H ——水解度,%;

w_1 ——酶解后卵白蛋白的游离氨基酸含量,g;

w_2 ——酶解前卵白蛋白的游离氨基酸含量,g;

w_3 ——卵白蛋白中含有的氨基酸,g。

甘氨酸标准曲线如图 1,回归方程为 $Y = 0.024\ 85X + 0.114\ 52$, $R^2 = 0.999\ 2$ 。

1.3.5 卵白蛋白肽的相对分子质量测定 按 GB 31645—2018 执行。

1.3.6 游离氨基酸组成测定 按 GB 5009.124—2016 执行。

1.3.7 单因素试验

(1) 酶解时间:设定酶解温度 50 °C,复合酶用量 3 000 U/g,料液比($m_{\text{卵白蛋白}} : V_{\text{蒸馏水}}$)3:25 (g/mL),测定不同酶解时间(2,3,4,5,6 h)下卵白蛋白肽 ADH 激活率。

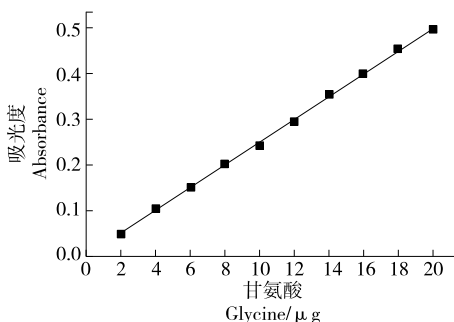


图 1 甘氨酸标准曲线

Figure 1 Glycine standard curve

(2) 复合酶用量: 设定酶解温度 50 ℃, 酶解时间 4 h, 料液比($m_{\text{卵白蛋白}} : V_{\text{蒸馏水}}$) 3 : 25 (g/mL), 测定不同复合蛋白酶(双酶配比为 1 : 1)用量(2 000, 2 500, 3 000, 3 500, 4 000 U/g)下卵白蛋白肽 ADH 激活率。

(3) 酶解温度: 设定酶解时间 4 h, 复合酶用量 3 000 U/g, 料液比($m_{\text{卵白蛋白}} : V_{\text{蒸馏水}}$) 3 : 25 (g/mL), 测定不同酶解温度(40, 45, 50, 55, 60 ℃)下卵白蛋白肽 ADH 激活率。

(4) 料液比: 设定酶解温度 50 ℃, 复合酶用量 3 000 U/g, 酶解时间 4 h, 测定不同料液比 [$m_{\text{卵白蛋白}} : V_{\text{蒸馏水}}$ 分别为 1 : 25, 2 : 25, 3 : 25, 4 : 25, 5 : 25 (g/mL)] 下卵白蛋白肽 ADH 激活率。

1.3.8 响应曲面法优化试验 根据单因素试验结果, 选择酶解时间、复合酶用量、酶解温度、料液比作为响应面试验因素, 以 ADH 激活率为响应值, 设计四因素三水平响应面优化试验。

1.4 数据处理

采用 Origin 8.0 软件绘图并进行数据处理, 运用 Design Expert 13.0 软件进行响应面设计分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

由图 2(a)可知, 随着酶解时间的增长, 卵白蛋白肽的 ADH 激活率也逐渐升高, 当酶解时间达 5 h 左右时, ADH 激活率达到峰值, 此时蛋白质中的作用位点基本水解完毕。随着产物浓度的增加以及底物浓度的降低, 酶促反应的速率逐渐下降^[17]。继续延长酶解时间也会对肽

的活性造成负面影响。将酶解时间控制在 5 h 左右时, 卵白蛋白肽的 ADH 激活率为 18.9%。

由图 2(b)可知, 当复合酶用量达 3 000 U/g 时, 卵白蛋白肽的 ADH 激活率最高, 底物基本已经被水解完毕, 继续增加酶量对 ADH 激活率无影响^[18]。兼顾到成本, 选择酶用量在 3 000 U/g 左右, 此时卵白蛋白肽的 ADH 激活率为 21.1%。

由图 2(c)可知, 当酶解温度为 50 ℃时, 卵白蛋白肽 ADH 激活率达到峰值, 酶解温度大于 50 ℃时, ADH 活性下降, 这是由于高温破坏了蛋白酶的结构, 导致其变性失活^[19]。因此, 把酶解温度设置在 50 ℃附近较为合适, 此时卵白蛋白肽的 ADH 激活率为 19.9%。

由图 2(d)可知, 在料液比达到 3 : 25 (g/mL)之前, ADH 激活率随着料液比的增加而上升, 当料液比大于 3 : 25 (g/mL)时, ADH 激活率下降, 可能原因是酶的浓度不足且溶液中的蛋白质分子未完全展开, 导致酶活性位点未与蛋白质分子充分接触。继续增大料液比会造成原料的浪费^[20]。因此, 选取料液比为 3 : 25 (g/mL), 此时卵白蛋白肽的 ADH 激活率为 20.6%。

2.2 响应面优化试验

2.2.1 响应面试验设计与结果 根据单因素试验结果, 在料液比($m_{\text{卵白蛋白}} : V_{\text{蒸馏水}}$) 3 : 25 (g/mL), 复合酶用量 3 000 U/g, 酶解温度 50 ℃, 酶解时间 5 h 的条件下得到 ADH 激活率最高。因此, 以酶解时间(A)、复合酶用量(B)、酶解温度(C)、料液比(D)为变量因素, 以 ADH 激活率(Y)为响应值, 进行四因素三水平的响应面设计试

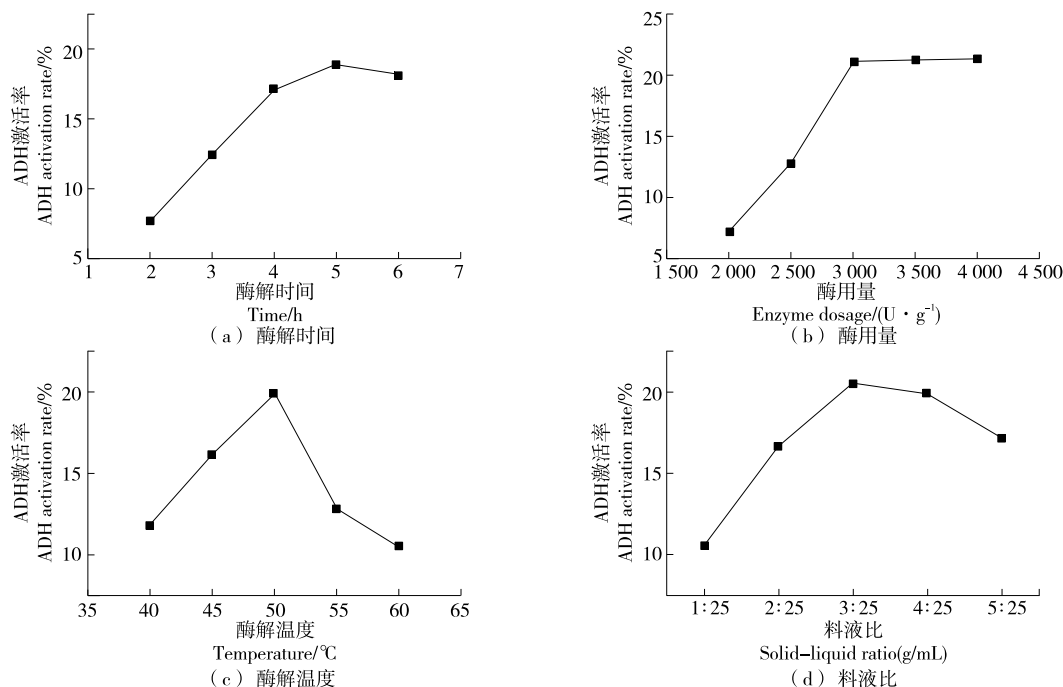


图 2 各因素对卵白蛋白肽 ADH 激活率的影响

Figure 2 Effects of various factors on the activation rate of ovalbumin peptide ADH

验,确定卵白蛋白的复最佳酶解工艺条件,响应面试验因素水平设计见表 1,试验结果见表 2。

将表 2 数据用 Design Expert 13.0 软件经过回归拟合后,得到二次多项回归方程:

$$Y=22.51+0.866\ 7A+0.525B+0.918\ 3C+1.21D-0.577\ 5AB-0.227\ 5AC+0.520\ 0AD+1.37BC+0.425BD+0.245CD-2.2A^2-2.52B^2-3.41C^2-3.93D^2。$$
 (4)

由表 3 可知,回归方程模型极显著($P<0.01$),方差失拟项不显著($P>0.05$),回归模型与实测值能较好拟

表 1 响应面优化实验因素水平表

Table 1 Levels of the response surface optimization test factors

水平	A 酶解时间/h	B 复合酶用量/(U · g ⁻¹)	C 酶解温度/℃	D 料液比/(g · mL ⁻¹)
—1	4	2 500	45	2 : 25
0	5	3 000	50	3 : 25
1	6	3 500	55	4 : 25

表 2 响应面设计方案及结果

Table 2 Design scheme and results of the response surface

试验号	A	B	C	D	ADH 激活率/%	试验号	A	B	C	D	ADH 激活率/%
1	1	—1	0	0	18.11	16	—1	0	0	—1	15.71
2	0	0	0	0	22.72	17	0	—1	0	1	16.83
3	1	0	1	0	19.32	18	0	0	1	—1	13.41
4	—1	0	0	1	15.98	19	0	0	—1	—1	13.53
5	1	0	0	—1	15.59	20	0	—1	—1	0	16.36
6	1	0	0	1	17.94	21	0	0	0	0	22.68
7	1	0	—1	0	17.12	22	0	—1	1	0	16.11
8	—1	0	1	0	17.29	23	0	1	0	—1	14.59
9	1	1	0	0	19.28	24	0	0	0	0	22.72
10	—1	0	—1	0	14.18	25	0	0	—1	1	16.43
11	0	0	0	0	21.76	26	0	1	—1	0	14.16
12	0	—1	0	—1	15.15	27	0	0	1	1	17.29
13	0	1	1	0	19.38	28	—1	—1	0	0	15.16
14	0	0	0	0	22.69	29	—1	1	0	0	18.64
15	0	1	0	1	17.97						

合。决定系数 $R^2=0.956\ 2>0.9$,说明模型拟合程度较高,准确可靠,因此,该模型的拟合值可以用来分析卵白蛋白的最佳酶解条件。通过显著性分析可知,酶解时间、酶用量对卵白蛋白肽的 ADH 激活率影响显著。酶解温度、底物浓度对卵白蛋白肽的 ADH 激活率影响极显著,由回归系数 F 值可知,各因素对卵白蛋白酶解制备活性肽的影响程度为 $D>C>A>B$ 。

2.2.2 响应面交互分析 由图 3 可知,CD 的响应面陡峭,说明底物浓度和酶解温度相互作用显著,酶解时间和酶用量交互作用相对较弱。

2.2.3 工艺优化及实验验证 根据响应面分析,卵白蛋白肽的最佳酶解条件为酶解时间 5.26 h,复合酶用量 3 075 U/g,酶解温度 50.7 ℃,料液比($m_{\text{卵白蛋白}}:V_{\text{蒸馏水}}$) 3.35 : 25 (g/mL)。为方便操作,将最佳条件调整为酶解时间 5 h,复合酶用量 3 100 U/g,酶解温度 50 ℃,料液比($m_{\text{卵白蛋白}}:V_{\text{蒸馏水}}$) 3.5 : 25 (g/mL)。在此条件进行 3 组平行实验,实际测得的卵白蛋白肽 ADH 激活率为 $(22.71\pm0.15)\%$,与模型预测值 22.72% 相差不大,表明在该模型下得到的最佳工艺条件具有较高的可靠性,可以用于预测卵白蛋白肽的 ADH 激活率。

2.3 卵白蛋白肽的总抗氧化能力与水解度

按 1.3.3 方法测定工艺优化后的卵白蛋白肽总抗氧

表 3 响应面回归方程方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance of response surface regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	216.93	14	15.49	21.85	$<0.000\ 1$	* *
A	9.01	1	9.01	12.71	0.003 1	* *
B	3.31	1	3.31	4.66	0.048 7	*
C	10.12	1	10.12	14.27	0.002 0	* *
D	17.42	1	17.42	24.57	0.000 2	* *
AB	1.33	1	1.33	1.88	0.191 8	
AC	0.21	1	0.21	0.29	0.597 5	
AD	1.08	1	1.08	1.52	0.237 2	
BC	7.48	1	7.48	10.55	0.005 8	* *
BD	0.72	1	0.72	1.02	0.330 0	
CD	0.24	1	0.24	0.34	0.569 9	
A ²	31.32	1	31.32	44.16	$<0.000\ 1$	* *
B ²	41.19	1	41.19	58.07	$<0.000\ 1$	* *
C ²	75.64	1	75.64	106.65	$<0.000\ 1$	* *
D ²	100.43	1	100.43	141.60	$<0.000\ 1$	* *
残差	9.93	14	0.71			
失拟检验	9.22	10	0.92	5.18	0.063 5	
纯误差	0.71	4	0.18			
总误差	226.86	28				

[†] * 表示差异显著($P<0.05$); * * 表示差异极显著($P<0.01$)。

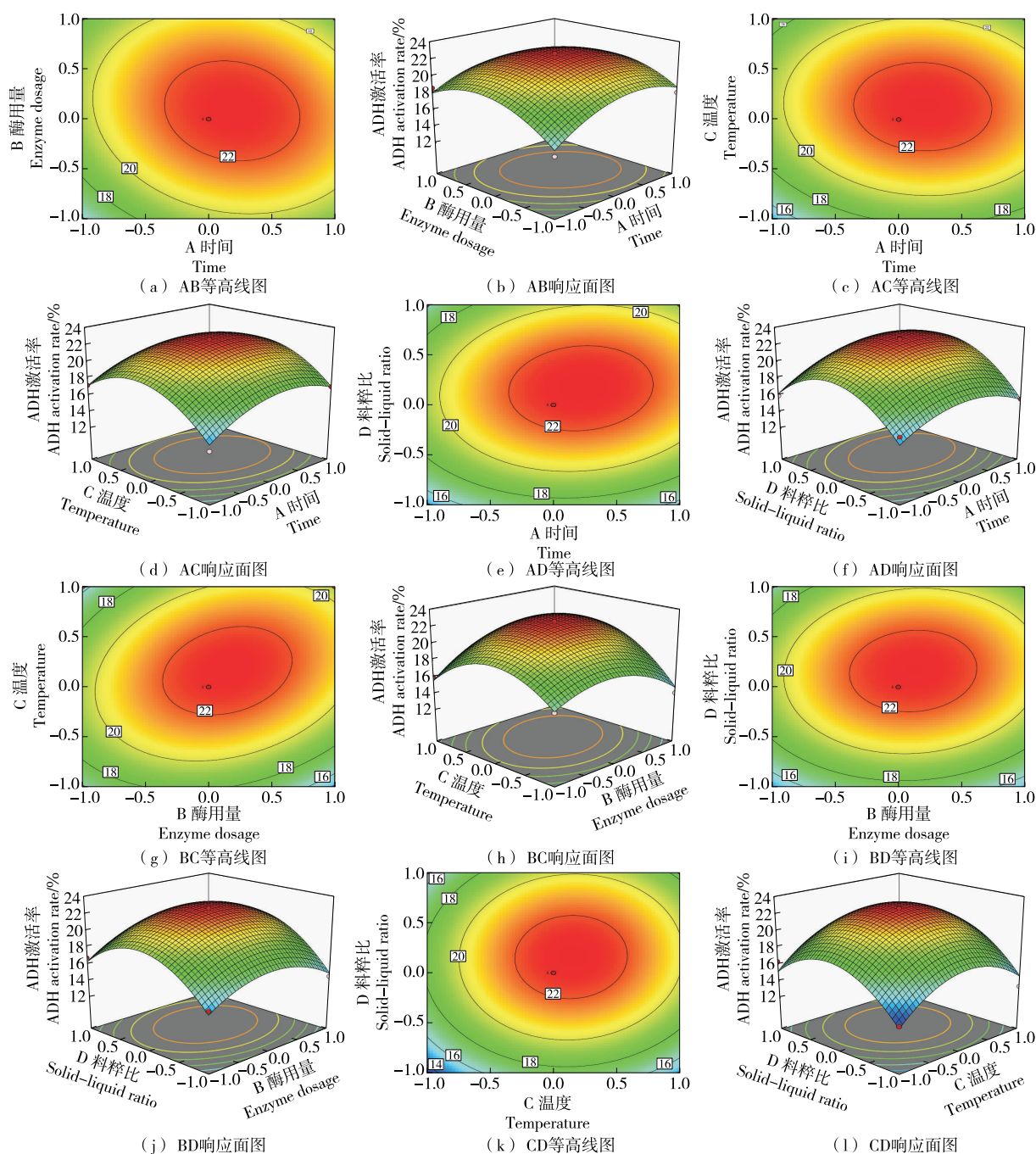


图3 各因素交互作用的响应面及等高线图

Figure 3 Response surface and contour plots of interactive effects

化能力,结果为 (9.51 ± 0.13) U/mL。总抗氧化能力在一定程度上可以代表样品的自由基清除能力^[21]。卵白蛋白肽在底物质量浓度为 120 mg/mL[即料液比($m_{\text{卵白蛋白}} : V_{\text{蒸馏水}}$)3 : 25 (g/mL)]时的总抗氧化能力比同样底物质量浓度下骨胶原抗氧化多肽的总抗氧化能力 $[(8.34 \pm 0.23)$ U/mL]^[22]高,因此卵白蛋白肽具备一定的抗氧化能力,能够清除人体内的自由基,减轻由乙醇引起的自由基大量累积,减少饮酒对身体的损害^[23]。

按 1.3.4 方法测定工艺优化后卵白蛋白肽的水解度,结果为 $(29.28 \pm 0.16)\%$,与黑豆腥酒多肽的水解度 $(27.31 \pm 0.45)\%$ 相近^[24],说明酶解工艺较为理想。

2.4 卵白蛋白肽粉的分子量与氨基酸分布情况

由表 4 可知,在最佳酶解工艺条件下制备的卵白蛋白肽粉末中,总游离氨基酸含量达到了 62.483%,丙氨酸(3.863 3%),亮氨酸(5.764 7%)含量较为丰富,有助于人体稳定生成辅酶 NAD^+ ,降低体内乙醇的浓度。谷氨酸

表 4 卵白蛋白肽粉的氨基酸组成情况

Table 4 Amino acid composition of ovalbumin peptide
g/100 g

氨基酸	含量	氨基酸	含量
天门冬氨酸	6.939 3	苏氨酸	3.136 9
丝氨酸	4.603 1	谷氨酸	9.554 3
甘氨酸	2.317 2	丙氨酸	3.863 3
胱氨酸	1.499 9	缬氨酸	4.388 0
亮氨酸	3.321 6	异亮氨酸	2.930 8
苯丙氨酸	5.764 7	酪氨酸	0.210 6
组氨酸	2.717 2	赖氨酸	4.235 2
脯氨酸	1.631 1	精氨酸	3.536 2
蛋氨酸	1.833 6	总游离氨基酸	62.483 0

表 5 卵白蛋白肽相对分子质量的分布情况

Table 5 Distribution of relative molecular weight of ovalbumin peptide

相对分子质量/Da	>5 000	5 000~3 000	3 000~2 000	2 000~1 000	1 000~500	<500
峰面积百分比/%	0.07	0.73	2.00	8.43	36.65	52.12

肽进行分离纯化,确定其肽段组成,并对促乙醇代谢能力与肽段间的联系进行研究。

参考文献

[1] ZHAO Rui-Jie, HUO Chun-Yan, QIAN Yang, et al. Ultra-high-pressure processing improves proteolysis and release of bioactive peptides with activation activities on alcohol metabolic enzymes in vitro from mushroom foot protein[J]. Food Chemistry, 2017, 231: 25-32.

[2] 骆静. 牡蛎蛋白小分子肽制备关键技术研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019: 1-2.

LUO Jing. Study on key technology of preparation of oyster protein small molecular peptide[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2019: 1-2.

[3] MA Zhi-li, ZHANG Wen-jun, YU Guo-cai, et al. The primary structure identification of a corn peptide facilitating alcohol metabolism by HPLC-MS/MS[J]. Peptides, 2012, 37(1): 138-143.

[4] 赵谋明, 马梅, 苏国万, 等. 具有醒酒活性的玉米肽的制备、富集和鉴定[J]. 中国食品学报, 2020, 20(9): 86-94.

ZHAO Mou-ming, MA Mei, SU Guo-wan, et al. Preparation enrichment and identification of corn peptides with sobering activity[J]. Chinese Journal of Food, 2020, 20(9): 86-94.

[5] SHI Jie, ZHOU Xin, ZHAO Ying, et al. The three-spot seahorse-derived peptide PAGPRGPA attenuates ethanol-induced oxidative stress in LO2 cells through MAPKs, the Keap1/Nrf2 signalling pathway and amino acid metabolism[J]. Food & Function, 2021, 12(4): 1 672-1 687.

[6] MA Zhi-li, HOU Tao, SHI Wen, et al. Purification and identification of corn peptides that facilitate alcohol metabolism by semi-preparative high-performance liquid chromatography and nano liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J].

含量最高(9.554 3%),有助于减轻醉酒症状。由表 5 可知,卵白蛋白肽 88.77%的成分相对分子质量在 1 000 Da 以下,具有吸收快,耗能低,利用率高的特点。综上,酶解制备得到的卵白蛋白肽其相对分子质量小,便于吸收,且具有较强的生物活性。

3 结论

卵白蛋白的最佳酶解条件为酶解时间 5 h,复合酶用量 3 100 U/g,酶解温度 50 ℃,料液比($m_{\text{卵白蛋白}}:V_{\text{蒸馏水}}$) 3.5:25 (g/mL),在此条件下得到的卵白蛋白肽 ADH 激活率为(22.71±0.15)%,水解度高,相对分子质量小,富含利于促乙醇代谢的氨基酸。卵白蛋白肽具备一定的抗氧化能力,能够清除人体内的自由基,后续可对卵白蛋白

Journal of Separation Science, 2016, 39(21): 4 234-4 242.

[7] 赵焕维. 杏鲍菇多肽制备工艺及体外活性研究[D]. 西安: 西北大学, 2019: 7-8.

ZHAO Huan-wei. Study on preparation technology and the activity of polypeptide from *Pleurotus eryngii* in vitro [D]. Xi'an: Northwestern University, 2019: 7-8.

[8] JULIAN W. Egg nutrition and biotechnology[J]. British Journal of Nutrition, 2001, 85(3): 407-408.

[9] ABEYRATHNE E D N S, HUANG X, AHN D U. Antioxidant, angiotensin-converting enzyme inhibitory activity and other functional properties of egg white proteins and their derived peptides: A review[J]. Poultry Science, 2018, 97(4): 1 462-1 468.

[10] LI D, BALESSANO A, JORDAN S, et al. The role of alcohol dehydrogenase in drug metabolism: Beyond ethanol oxidation[J]. The AAPS Journal, 2021, 23(20): 1-21.

[11] 刘鹏. 低分子量促乙醇代谢玉米肽制备与蛋白成分对活性贡献关系研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015: 17-18.

LIU Peng. Preparation of corn originated low-molecular-weight peptides with anti-alcoholism activity and the contribution of different protein components to activity[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015: 17-18.

[12] 秦婧. 卵白蛋白源抗氧化活性肽的酶法制备及分离鉴定[D]. 西安: 陕西科技大学, 2014: 18-19.

QIN Jing. Enzymatic preparation, isolation and identification of antioxidant peptides derived from ovalbumin[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2014: 18-19.

[13] 徐明生. 鸡蛋卵白蛋白酶解物抗氧化肽研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2006: 36-37.

XU Ming-sheng. Study on antioxidant peptides of egg white protease hydrolysate[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2006: 36-37.

[14] 聂凌涛, 冯怡秋. 鳕鱼皮胶原蛋白肽的制备及其抗氧化性能

- 的研究[J]. 中国食品添加剂, 2017(11): 113-118.
- NIE Ling-hong, FENG Yi-qiu. Preparation of collagen peptide from eel skin and its antioxidant activity[J]. China Food Additives, 2017(11): 113-118.
- [15] KU S K, CHOUNG J J, KIM J K. Enhancement of alcohol metabolism by ginseng berry extract and its mixed herbal beverages: In vitro and in vivo experiments[J]. Toxicology and Environmental Health Sciences, 2019, 11(2): 144-154.
- [16] 蒋婧. 蛋白质水解度测定及其标准曲线绘制研究[J]. 广东轻工职业技术学院学报, 2012, 11(1): 4-6.
- JIANG Jing. Determination of protein hydrolysis degree and drawing of standard curve[J]. Journal of Guangdong Vocational and Technical College of Light Industry, 2012, 11(1): 4-6.
- [17] 蔡转章. 豆粕源抗氧化肽对急性酒精性肝损伤的预防作用及机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2021: 23-25.
- CAI Zhuan-zhang. Preventive effect and mechanism of soybean meal derived antioxidant peptides on acute alcoholic liver injury[D]. Changchun: Jilin University, 2021: 23-25.
- [18] CHIA C S B. A Review on the Metabolism of 25 Peptide Drugs[J]. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 2021, 27(2): 1 397-1 418.
- [19] HABEEBULLAH S F K, ALAGARSAMY S, SATTARI Z, et al. Effect of enzymatic hydrolysis on the antioxidant activity of red and green seaweeds and characterization of the active extracts[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2021, 98(2): 185-200.
- [20] GARCÍA A V. Enzymatic hydrolysis and fermentation of pea protein isolate and its effects on antigenic proteins, functional properties, and sensory profile[J]. Foods, 2022, 11(1): 118.
- [21] WU Ying-mei, XU Long-quan, LIU Xiao-yi, et al. Effect of thermosonication treatment on blueberry juice quality: Total phenolics, flavonoids, anthocyanin, and antioxidant activity [J]. LWT-Food Science & Technology, 2021, 150: 112021.
- [22] 李珂, 杨秀华, 扈麟, 等. 酶解骨胶原多肽的抗氧化特性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(2): 311-314.
- LI Ke, YANG Xiu-hua, HU Lin, et al. Study on antioxidant properties of enzymatic hydrolyzed bone collagen peptides[J]. Research and Development of Natural Products, 2010, 22(2): 311-314.
- [23] 王玉华, 高晶, 张静, 等. 鼠李糖乳杆菌 B10 通过抗氧化途径改善酒精性肝损伤的研究[J]. 食品科学, 2012, 33(23): 270-273.
- WANG Yu-hua, GAO Jing, ZHANG Jing, et al. Improvement of alcoholic liver injury by *Lactobacillus rhamnosus* B10 through antioxidant pathway[J]. Food Science, 2012, 33(23): 270-273.
- [24] 翟硕, 张海悦, 田田. 黑豆多肽的制备及其对乙醇脱氢酶活性的影响研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(12): 4 864-4 869.
- ZHAI Shuo, ZHANG Hai-yue, TIAN Tian. Preparation of black bean polypeptide and its effect on ethanol dehydrogenase activity[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2016, 7(12): 4 864-4 869.
-
- (上接第 165 页)
- [11] 刘金金, 殷军艺, 黄晓君, 等. 决明子多糖结构和生物活性功能研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(23): 212-221.
- LIU Jin-jin, YIN Jun-yi, HUANG Xiao-jun, et al. Research progress on structure and biological activity of polysaccharide from Cassia seed[J]. Food Research and Development, 2019, 40(23): 212-221.
- [12] HOU J, GU Y, ZHAO S, et al. Anti-inflammatory effects of auranio-obtusin from seed of *Cassia obtusifolia* L. through modulation of the NF- κ B pathway[J]. Molecules, 2018, 23(12): 3093.
- [13] PAUDEL P, JUNG H A, CHOI J S. Anthraquinone and naphthopyrone glycosides from *Cassia obtusifolia* seeds mediate hepatoprotection via Nrf2-mediated HO-1 activation and MAPK modulation[J]. Arch Pharm Res, 2018, 41(6): 677-689.
- [14] 郑淑娟, 谢子鑫, 方靖靖, 等. 橄榄苦苷改善 db/db 小鼠糖尿病的肝脏转录组学及生物信息学分析[J/OL]. 食品科学. (2021-11-17) [2022-02-07]. <https://www.spkx.net.cn/CN/article/advancedSearch.do>.
- ZHENG Shu-juan, XIE Zi-xin, FANG Jing-jing, et al. Hepatic transcriptomics and bioinformatics analysis of oleuropein alleviating diabetes in db/db mice[J/OL]. Food Science. (2021-11-17) [2022-02-07]. <https://www.spkx.net.cn/CN/article/advancedSearch.do>.
- [15] 牟伊, 宋雨, 文帅, 等. Nrf2 抑制剂在肿瘤治疗中的研究进展[J]. 药学报, 2022, 57(2): 321-330.
- MOU Yi, SONG Yu, WEN Shuai, et al. Research progress of Nrf2 inhibitor in tumor ther[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2022, 57(2): 321-330.
- [16] ROJO DE LA VEGA M, CHAPMAN E, ZHANG D D. NRF2 and the Hallmarks of Cancer[J]. Cancer Cell, 2018, 34(1): 21-43.
- [17] YANG J, ZHU A, XIAO S, et al. Anthraquinones in the aqueous extract of *Cassia* semen cause liver injury in rats through lipid metabolism disorder[J]. Phytomedicine, 2019, 64: 153059.
- [18] 江颖倩, 彭梦超, 吴建国, 等. 长片金线兰多糖对四氯化碳诱导急性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 中草药, 2021, 52(19): 5 932-5 938.
- JIANG Ying-qian, PENG Meng-chao, WU Jian-guo, et al. Protective effect of polysaccharide from *Anoectochilus longilobus* on CCl₄-induced acute liver injury in mice[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(19): 5 932-5 938.
- [19] 谭丽娟, 徐沛演, 俐李. 血清 IL-6、TNF- α 检测对药物性肝损伤严重程度的预测价值研究[J]. 中国当代医药, 2021, 28(10): 71-74.
- TAN Li-juan, XU Pei-yan, LI Li. Study on the predictive value of IL-6 and TNF- α in the severity of drug-induced liver injury[J]. China Modern Medicine, 2021, 28(10): 71-74.
- [20] GANESAN K, JAYACHANDRAN M, XU B. A critical review on hepatoprotective effects of bioactive food components[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2018, 58(7): 1 165-1 229.