

新型加工技术在抗氧化肽制备中的应用研究

Application of novel processing technology in the preparation of antioxidant peptides

徐晨晨¹ 祝宝华¹ 杨志艳¹

XU Chen-chen¹ ZHU Bao-hua¹ YANG Zhi-yan¹

惠婷婷¹ 李 燕¹ 李晓晖^{1,2,3}

HUI Ting-ting¹ LI Yan¹ LI Xiao-hui^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306; 2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 上海 201306)

(1. School of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Shanghai Engineering Research Center of Aquatic Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China;
3. Aquatic Products Processing and Storage Engineering Technology Research Center Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Products on Storage and Preservation, Shanghai 201306, China)

摘要:文章综述了微波、欧姆加热、亚临界水、超声波、高静压和脉冲电场等新型加工技术制备抗氧化肽的作用机理及作用特点,分析了这些新型加工技术在蛋白原料预处理和辅助酶解制备中的实施过程和效果,并讨论了每种新型加工技术用于生产抗氧化肽的优点和挑战。

关键词:抗氧化肽;加工技术;制备;应用

Abstract: In this review, the mechanism and characteristics of antioxidant peptides prepared by novel processing technologies such as microwave, ohmic heating, subcritical water, ultrasonic wave, high static pressure and pulsed electric field were summarized. The process and effectiveness of the implementation of these novel processing technologies for protein feedstock pretreatment and auxiliary enzymatic preparation were analyzed, and the advantages and challenges of each novel processing technology for the production of antioxidant peptides were discussed.

Keywords: antioxidant peptides; processing technology; preparation; application

抗氧化肽是由 2~20 个氨基酸残基组成的特殊蛋白片段,这些片段不仅具有营养功能,还具有抗氧化作用,可以改善机体健康。研究^[1-2]表明,抗氧化肽能够通过

缓解由脂质过氧化和人体过量自由基引起的氧化应激从而起到抗氧化的作用。因此,抗氧化肽成为了功能食品开发的研究热点。

酶解法和微生物发酵法是常用于生产抗氧化肽的技术^[3]。但是,这两种方法反应时间长,生产效率低,限制了高活性抗氧化肽的产生。为了促进蛋白质酶解进程及提高酶解产物的抗氧化性能,一些新型加工技术应运而生。文章拟综述微波、欧姆加热、亚临界水、超声波、高静压以及脉冲电场等新型加工技术制备抗氧化肽的作用机理和应用条件,分析辅助改进酶水解效果的作用,并对比讨论生产抗氧化肽所采用的各项技术的优势和挑战。

1 传统方法制备抗氧化肽

传统的抗氧化肽制备方法有酶解法、微生物发酵法和化学合成法。酶解法,即通过特定的蛋白酶对蛋白质进行酶解,再对酶解产物中具有抗氧化活性的组分进行分离纯化。齐兴宇等^[4]用碱性蛋白酶和胰蛋白酶复合酶解卵白蛋白,在最优酶解工艺下得到的卵白蛋白肽具有良好的抗氧化活性,总抗氧化能力值为 (9.51 ± 0.03) U/mL。微生物发酵法是通过微生物代谢过程中产生的复合酶系,将底物蛋白酶解进而释放出具有活性肽类物质的方法^[5]。发酵过程中,蛋白质来源、菌种选择、发酵温度和时间、pH 等条件都会影响酶解程度^[6]。宫田娇等^[7]利用青春双歧杆菌与嗜热链球菌发酵炸蚕蛹蛋白,得到的发酵液具有较高的抗氧化活性,其 DPPH 自由基清除率高达 93.78%。与酶解法相比,微生物发酵法生产生物活性

基金项目:国家重点研发计划专项(编号:2019YFD0902000)

作者简介:徐晨晨,女,上海海洋大学在读硕士研究生。

通信作者:李晓晖(1976—),女,上海海洋大学副教授,博士。

E-mail: xhli@shou.edu.cn

收稿日期:2022-03-18 **改回日期:**2022-08-31

肽所需成本低,但该法生产周期较长、产物复杂,且生成的肽缺乏特异性,不利于高纯度抗氧化肽的制备,因而阻碍了抗氧化肽工业化生产^[8]。化学合成法指以氨基酸或小肽为原料,用固相液相合成法定向合成多肽^[9]。宋雪梅^[10]以 8 条已知序列的玉米源肽为原料通过固相合成成为试验原料,测定 DPPH 自由基清除力、ABTS 自由基清除力、金

属螯合力、氧自由基吸收力,结果表明,8 条玉米源肽均有一定的抗氧化活性。化学合成法操作简单、快速,但合成过程中使用的部分溶剂如 *N,N*-二甲基甲酰胺、二氯甲烷等具有较大的毒性,此外,在极端温度、pH 和压力条件下会导致氨基酸损伤。因此,化学合成法不是生产生物活性肽的首选方法。抗氧化肽的通用制备流程如图 1 所示。

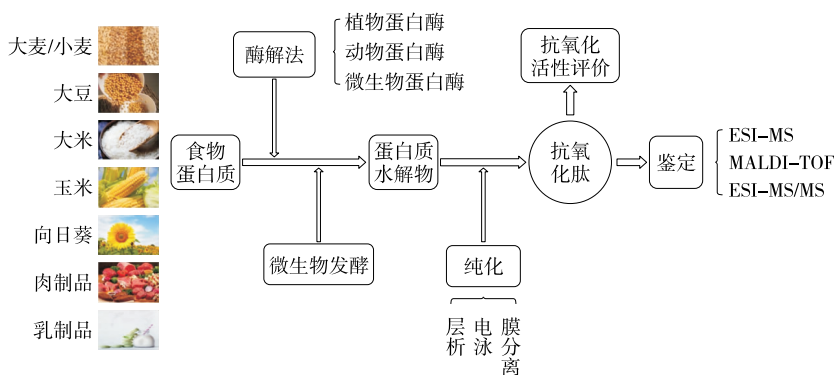


图 1 抗氧化肽的通用制备流程

Figure 1 The general process for preparing antioxidant peptides

2 新型加工技术制备抗氧化肽

酶解法通常是制备抗氧化肽的首选方法,但该法不适于工业化生产。微波、欧姆加热、亚临界水和非热中超声波、高静压、脉冲电场等新型加工技术不仅减少生产时间和成本,还可提高多肽的得率和生物活性。

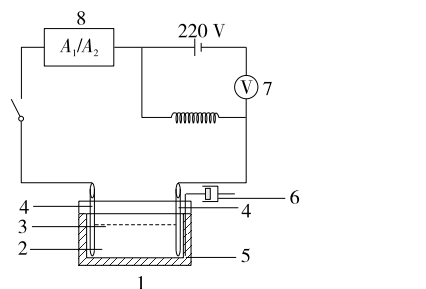
2.1 热技术

2.1.1 微波加热技术 微波通过分子间和分子内摩擦以及带电离子的运动和碰撞使细胞壁与细胞膜破裂^[11]。在微波场影响下蛋白质结构变得松散,蛋白溶解度增加。此外,在微波加热条件下,底物直接吸收微波能量可能导致参与酶促反应的底物官能团具有更高的反应活性。研究发现微波加热技术处理可促进蛋白质的水解,从而产生具有较强抗氧化活性的低分子量多肽。Li 等^[12]发现微波辅助酶解(250 W)胶原蛋白得到的水解产物中分子量 ≤ 1 kDa 的胶原肽含量和羟自由基清除率均较非微波辅助处理组的显著增加。Chen 等^[13]以牛血清白蛋白和银杏蛋白为研究对象,建立了连续微波辅助酶解的方法,为生物活性肽的大规模制备提供了可能。Huang 等^[14]研究表明与水浴酶解相比,连续微波辅助酶解显著缩短了蓝点马鲛蛋白酶解产物的制备时间,且从所得酶解产物中分离、鉴定得到的 8 个潜在抗氧化肽序列的分子量为 502.32~1 080.55 Da,所含氨基酸残基数量为 4~10 个,具有抗氧化肽的典型特征。Ketnawa 等^[15]研究表明鱼骨蛋白经微波 90 °C 预处理 5 min 后进行水浴酶解,所得酶解产物的水解度、ABTS 自由基清除率和还原力最高,但是相同条件微波预处理后,再进行 55 °C 微波辅助酶解,水解度反而下降,推测可能原因是经过两次微波处

理后蛋白质发生聚集或者重排,导致酶解程度降低。

微波加热技术能够增加酶切位点,改善水解物的理化特性,从而产生具有良好生物活性的水解产物。与传统的酶解方法相比,微波加热技术能提高酶解效率、缩短酶解时间。同时,该技术因处理过程简单、操作方便且成本低而成为潜在的工业技术。

2.1.2 欧姆加热技术 欧姆加热(Ohmic heating)也称为电阻加热或焦耳加热,是一种将交流电直接应用于半导体介质的热加工方法。欧姆加热装置如图 2 所示。其工作原理为将样品放入样品槽内,通入 220 V 电流后电能转换为热能,使食物中能量直接耗散,加热速度快且耗散均匀^[16]。在传统的加热技术中,原料内部的传热取决于温度梯度,而欧姆加热无需设置原料的温度梯度就可以在较短时间内达到设定的处理温度,从而最大限度地减少异味化合物的产生,避免食品因过度热损害而失去感官和营养特性^[17]。



1. 加热槽 2. 样品槽 3. 最大刻度线 4. 电极 5. 测温器
6. 温度观测器 7. 电压监测器 8. 变频器

图 2 欧姆加热装置图

Figure 2 Ohmic heating device diagram

Costa 等^[18]发现在 2 V/cm 的低电场强度下,利用欧姆加热乳清蛋白溶液至 72~75 ℃,维持 15 s,样品的 DPPH 抗氧化能力和 ACE 抑制活性比相同时间巴氏加热分别提高 3.0%和 5.5%,这是由于在欧姆加热过程中产生了生物活性肽。Jesus 等^[19]比较了欧姆加热和常规加热对提取生物活性化合物中抗氧化活性的影响,结果表明在中电场强度(840.0 V/cm)下欧姆加热后所得提取物比常规加热的具有更好的抗氧化活性,可能是由于冲击波引起的微观损伤导致提取物的结构变化,促进了空化气泡对组织的损伤。Coelho 等^[20]研究了欧姆加热和常规加热对体外胃肠消化后的番茄粉中生物活性化合物的生物可及性和抗氧化能力的影响,结果表明经欧姆加热处理后胃肠消化产物比常规处理后的抗氧化活性更高,主要是由于欧姆加热的热过程使样品中的小分子被分解成更小的分子,这些分子之间发生了化学反应,并产生了新的化合物(如生物活性肽、番茄红素)。

与传统加热方式相比,欧姆加热更适用于高蛋白食品原料加工、植物中化合物提取以及固液混合食品的高温瞬时加热,该法能最大限度地保持食品的鲜度和风味,为食品加工行业提供高质量、高附加值、耐储存的产品。但目前仍存在亟待解决的问题:一方面,这项技术限制了加工食品的种类,因为它更适用于液体和含固体颗粒的液体,同时,电导率的快速增加会导致温度升高,这可能会使样品过热;另一方面,一个工业规模的欧姆加热系统的成本非常高,因此,如何克服系统问题及降低设备成本还需深入研究。

2.1.3 亚临界水技术 亚临界水(Subcritical water, SCW)技术是指将水加热至沸点以上,临界点以下(100~374 ℃),并控制系统压力使水保持为液态^[21]。常温常压下水的极性较强,但在亚临界条件下,随着温度的升高,水中氢键断裂,极性减弱因而对中性或非极性有机物的溶解能力增加^[22]。SCW 具备萃取剂和催化剂的双重功

能,并且萃取过程无毒高效、环境友好^[23],因此 SCW 技术已被广泛应用于抗氧化肽的制备中。表 1 总结了亚临界水在抗氧化肽制备中的应用。

SCW 水解蛋白不需要酶或其他溶剂,因为在亚临界条件下,SCW 的溶解能力、扩散性和自电离能力均增加,极性、黏度和表面张力均降低,导致蛋白中二硫键易断裂,从而使蛋白质裂解。因此,该技术反应时间短且安全^[28]。另外,亚临界水处理后的蛋白水解物的抗氧化性取决于水解温度和压力,在一定温度和压力下蛋白质展开并被分解成多肽和游离氨基酸。Ahmed 等^[24]研究发现在 250 ℃、5 MPa 的 SCW 处理条件下金枪鱼皮胶原蛋白水解物水解度(DH)最高,280 ℃、8 MPa 的 SCW 处理条件下,水解物的抗氧化性最高。SCW 也可用于原料预处理,通过酶催化增强水解物的抗氧化活性。Álvarez 等^[27]使用 SCW 处理猪血红蛋白,结果表明当处理时间达 360 min 时获得的产物显示出良好的抗氧化活性,平均分子量在 2.1 kDa 的肽占比达 83%。SCW 预处理(200 ℃、37.5 MPa)对胰蛋白酶催化效率远高于传统加热预处理的,因此,SCW 处理后的酶催化有潜力成为一种先进的水解技术^[29]。然而,该技术需用到高压设备和大量的能源因而成本非常高,需要精细的工程试验和设计来优化亚临界水工艺,进而降低资金和运行成本^[30]。

2.2 非热技术

2.2.1 超声处理技术 超声波(Ultrasonic wave)是一种新型的非热物理技术,频率介于 20 kHz~1 GHz,依赖于机械波在介质中传播。超声处理因无污染,操作简单和易控制等优点被广泛应用于食品加工中。超声处理在反应体系中可产生热、空化及机械效应等,在提高传质能力的同时促进底物进入酶的催化部位,使底物与酶的接触机会增加,提高酶解速率,缩短酶解时间,获得含量丰富的活性多肽^[31-32]。

超声处理技术可水解一些食物蛋白以产生抗氧化

表 1 亚临界水在抗氧化肽制备中的应用

Table 1 The application of subcritical water in the preparation of antioxidant peptides

蛋白质来源	处理方式	亚临界水条件	产物分子量/kDa	效果	参考文献
胶原蛋白	亚临界水水解	120 ~ 300 ℃, 5 ~ 10 MPa, 5 min	<0.6	280 ℃, 8 MPa 时具有最高的金属螯合力(96.54±2.67)%	[24]
鲑鱼肌肉蛋白	亚临界水水解	160 ~ 280 ℃, 0.6 ~ 6.6 MPa, 3 min	6.25~97.4	220 ℃时具有很高的抗氧化特性	[25]
鸭血浆蛋白	亚临界水水解	120 ~ 180 ℃, 0 ~ 40 min	未测量	180 ℃, 40 min 血浆蛋白溶液的 DPPH 自由基清除率增加 77.08%, 还原能力增加近 39 倍, ABTS 自由基清除率增加 67.65%	[26]
猪血红蛋白	亚临界水预处理+胰蛋白酶和胃蛋白酶	120~180 ℃, 4 MPa, 60~420 min	0.2~15.0	180 ℃, 360 min 获得的肽显示出良好的还原力和羟自由基清除率	[27]

肽,例如猪肝蛋白^[33]、 β -乳球蛋白^[34]、刺桐籽蛋白^[35]和玉米蛋白^[36]等,如表 2 所示。超声处理技术主要用于预处理,即通过超声改变蛋白质结构,使更多酶水解位点暴露,增加原料 DH,提高水解物的抗氧化活性。Liang 等^[36]研究发现优化后的超声酶解技术可以制备玉米蛋白抗氧化肽,在最佳超声处理(65 W/L;开/关时间 2 s/2 s)条件下,玉米蛋白酶解液经自由基、DPPH 自由基清除率显著提高,质谱分析发现超声预处理后含有疏水性氨基酸的肽形成。同样,Wang 等^[37]研究表明 β -伴大豆球蛋白和大豆球蛋白经超声波水解后,蛋白水解产物的 DH、游离巯基和金属螯合力显著提高。这可能是由于超声处理后两种蛋白中 α -螺旋和 β -转角比例增加, β -折叠和无规则卷曲比例减少。

超声具有能量传递快,温度低和加工成本较低的优点。通过超声处理可以增加产率,使提取过程响应更快^[38]。与低压溶剂萃取方法相比,超声提取时间预计缩小到原来的 1/10。因此,超声可解决传统酶解蛋白质转化率低,水解时间长等问题。

2.2.2 高静压技术 高静压(High hydrostatic pressure, HHP)技术通常采用 100 MPa 以上(100~1 000 MPa)的压力对物料进行处理^[39]。研究^[40-41]表明,这种技术可以改善食品的货架期,同时对食品的营养价值和感官品质影响小。与影响共价和非共价键的热处理技术不同的是,HHP 技术破坏相对较弱的化学键如氢键、疏水键和离子键,而非共价键。该技术主要影响蛋白质二级结构,不影响蛋白质的一级结构,HHP 对结构改变是否可逆取决于加压参数和蛋白质的性质^[42]。

HHP 通过改变食品中蛋白质构象、促进蛋白质分子链延伸来增加酶切位点,还可以影响蛋白质的结构,对酶催化活性产生影响。Franck 等^[43]通过 HHP 处理可显著

提高亚麻籽蛋白的 DH,小分子肽的生成量随着压力和处理时间增大而增加,肽含量增加与抗氧化活性的提高直接相关,另外,该研究也证明了通过同时加压和酶解提高生物活性肽产量是可行的。Guan 等^[44]考察了不同 HHP 水平(80~300 MPa)下酶催化,大豆分离蛋白经 200 MPa 处理 4 h 后得到的水解产物具有较高的还原力、ABTS 自由基清除率和 ACE 抑制活性。Dong 等^[45]研究发现在 300 MPa、60 min 和 100 MPa、180 min 处理条件下,花生蛋白水解产物的 DH、还原力和 DPPH 自由基清除率明显提高。

与传统方法相比,HHP 技术具有多项优势,它可以在环境温度下进行恒定均匀的加压,减少处理时间。但昂贵的基础设施成本以及批量操作限制了该技术在食品领域的应用。HHP 设备初始投资相关成本为 60 万~400 万美元,占总投资的 75%~80%,与 HHP 相关的加工成本为小型设备的 0.14 欧元/kg 到大型设备的 0.071 欧元/kg 不等^[46]。

2.2.3 脉冲电场技术 脉冲电场(Pulsed electric field, PEF)具有较高的电场强度(10~50 kV/cm)、较短的脉冲宽度(0~100 μ s)和较高的脉冲频率(0~2 000 Hz)等特点^[47-48]。PEF 主要通过对蛋白分子的极化和打破分子的内部共价键等作用力来影响蛋白质结构。PEF 在抗氧化肽的制备中的应用如表 3 所示。

PEF 技术可用于辅助酶水解。姜薇等^[49]利用 PEF 辅助菠萝蛋白酶制备鹿茸抗氧化肽,研究表明 PEF 可以改变其结构,暴露酶的活性中心,提高蛋白酶的活性;同时物料的细胞膜可被电场击穿,导致细胞内容物渗出,从而提高酶与底物的接触机会。PEF 技术还可以用于提高已制备的多肽或已合成序列多肽的抗氧化性。Franco 等^[50]对比了经 PEF 处理后的鱼副产物水提取物和甲醇

表 2 超声处理技术在抗氧化肽制备中的应用

Table 2 The application of ultrasound in the preparation of antioxidant peptides

来源	处理方式	超声波条件	产物分子量/kDa	效果
猪肝蛋白	超声预处理 + Alcalase	400 W, 40 kHz, 15~60 s	<6.2	超声预处理酶解液的抗氧化活性均高于对照,处理 45 s 酶解液的 Fe^{2+} 络合力和还原力最高;处理 30 s 酶解产物的 DPPH 自由基清除率最高
β -乳球蛋白	超声预处理 + Alcalase	600 W, 42 kHz, 10 ~ 90 min	0.2~2.0	处理 10~90 min,酶解液的 DPPH 自由基清除率显著提高 7.97%~30.28%, Fe^{2+} 络合力增加 7.53%~15.76%
刺桐籽蛋白	超声预处理 + 风味蛋白酶 和 Alcalase	80 kHz (振幅 100%), 10~60 min	8~20	10~60 min,酶解液的 DPPH 自由基的 IC_{50} 值降为 6.52~7.97 $\mu\text{g/mL}$, ABTS 自由基 IC_{50} 值降为 1.59~9.00 $\mu\text{g/mL}$
玉米蛋白	超声预处理 + Alcalase	45~65 W/L,15~25 min, 开关时间(2 s/2 s,3 s/2 s 和 4 s/2 s)	0.2~3.0	玉米肽的 DPPH 自由基和羟自由基清除率 IC_{50} 值分别为 1.95,7.61 mg/mL,均显著低于相应对照组 (2.41,9.98 mg/mL)

表 3 脉冲电场技术在抗氧化肽制备中的应用

Table 3 The application of pulsed electric field in the preparation of antioxidant peptides

来源	处理方式	脉冲电场条件	产物分子量/kDa	效果	参考文献
鹿茸渣蛋白	脉冲电场辅助 + 菠萝蛋白酶	电场强度 0~25 kV/cm, 脉冲数 4~12	—	电场强度 17.3 kV/cm, 脉冲数 7, 酶解液 DPPH 自由基清除率为 (74.76±2.03)%	[49]
鲷鱼和鲈鱼	脉冲电场辅助酶解	电位差 7 000 V, 脉冲频率 10 Hz, 脉冲数 100	—	PEF 辅助对鲷鱼(头、骨、鳃)的 DPPH 自由基清除率显著提高 35.8%, 68.6%, 33.8% 以及鲈鱼的 60.7%, 71.8%, 22.1%	[50]
红松籽抗氧化肽	脉冲电场处理	电场强度 0~15 kV/cm, 脉冲频率 0~2 400 Hz, 2~3 min, 保留 1~5 h	1~3	PEF 处理后 DPPH 自由基清除率为 (86.93±0.31)%, 提高 18.77%	[51]
Met-Met-Cys-Thr-Asn	脉冲电场处理	电场强度 5~20 kV/cm, 脉冲频率 1 800 Hz, 2 400 Hz, 2~3 min, 保留 0.2 h	—	DPPH 自由基清除率最高达 (94.14±0.13)%	[52]

提取物的抗氧化活性,结果显示在甲醇和水的残留物中均发现了不同极性的化合物,极性越大的化合物具有越强的抗氧化能力。张鸣镛等^[51]研究发现红松籽经 PEF 处理(电场强度 11.5 kV/cm,脉冲频率 1 500 Hz)并保留 4 h 后,其抗氧化肽粉 DPPH 自由基清除率比未经处理的提高了 18.77%,红松籽抗氧化肽的二级结构中 R₂C=CH₂ 键和—CH₃ 发生了改变。综上,PEF 直接提高多肽抗氧化性的能力有限,但利用一定处理强度和处理时间可以改变蛋白质的二级结构,这一结果为探索 PEF 技术提高食源性功能肽的活性机理提供了理论支撑。

PEF 技术具有成本低廉、效率高等特点,并且在生产线中引入脉冲电场处理单元较容易。然而,不同介电性质的食品组分会对不均一的产品性状产生不同的影响,所以相较于简单的悬浮体系,脉冲电场应用于复杂的食品体系中具有一定的挑战^[53]。因此,有必要重新设计或改善现有的 PEF 系统处理室,以适应不同类型的食品加工。大功率电源是 PEF 设备发展的重点,以保证高强度电场,从而适应大规模工业化生产。此外,对于商业规模的扩大,PEF 可与其他处理技术相结合,通过协同作用提高食品功能性,将该技术成功地应用于食品工业。

3 不同技术协同应用

近年来,许多学者对不同技术协同作用进行了应用研究,尤其是结合热处理和非热处理在应用中最为广泛。康永锋等^[64]在超声波—微波辅助酶解鲑鱼过程中发现,碱性蛋白酶酶解得到的鲑鱼肽的超氧阴离子自由基清除率高于仅采用超声波或微波辅助酶解的,说明一定条件的超声波与微波辅助酶解在抗氧化肽制备中具有协同效应。Hanbinshuti 等^[55]采用超声波—微波辅助酶解制备

的甘薯蛋白抗氧化肽中,3 kDa 以下组分肽段具有潜在的抗氧化活性,与未处理的样品相比,超声波—微波辅助酶解显著提高了甘薯蛋白水解物的 DH。Alizadeh 等^[56]将乳清浓缩蛋白(WPC)经过欧姆加热和超声波以及它们的组合预处理后,发现组合预处理显著提高了 WPC 水解产物的 DH,且其羟自由基、DPPH 自由基清除率和还原力等抗氧化活性均高于单独欧姆加热和超声波的。

热技术和非热技术在其他天然抗氧化剂提取中的应用也是目前研究的热点。如陆海勤等^[57]通过优化超声协同脉冲电场提取黄花菜多糖的工艺,在提取时间 30 min,提取温度 59 ℃,超声功率 700 W,电场电压 14 kV 下,得到的黄花菜多糖得率为 10.03%,同时体外抗氧化活性结果表明,当黄花菜粗多糖质量浓度为 1.0 mg/mL 时对超氧阴离子自由基、羟自由基以及 DPPH 自由基的清除率分别可达到 66.93%,70.61%,49.28%。

在实际应用过程中,研究机构和学者利用相关的技术对相关设备进行了改进,提高了设备的性能。胡双飞等^[58]对亚临界水提取设备中的提取釜结构进行改进,增加了原料与亚临界水的接触面积,结果发现螺旋藻粗蛋白的 ABTS 自由基、DPPH 自由基、羟自由基清除率在质量浓度 0.15~10 mg/mL 范围内均具有较强的抗氧化活性。超声设备通常采用单频超声,Wang^[59]发明了双频聚能式超声设备,研究了单频、双频和三频超声及其组合对不同食品蛋白结构的影响。张鸣镛等^[51]发明了脉冲电场处理装置,利用该设备可显著提高红松籽抗氧化肽活性。这些设备的改进有助于提高了抗氧化肽的活性制备效率,改善其功能特性。

4 总结与展望

微波、超声、高静压等新型加工技术可改变蛋白质的

结构特性,缩短酶解时间,可在一定程度上提高抗氧化肽的功能特性。同时,不同新型加工技术的协同作用在抗氧化肽制备研究中也显现出巨大的应用潜力,它可在一定程度上改善抗氧化肽的功能特性,为今后的研究提供一种创新设计。

虽然一些方法在实验室中制备抗氧化肽是可行的,但若要进行工业化应用,还要考虑到生产成本和操作流程。此外,一些加工技术虽然效果比较好,但也存在各种问题,如欧姆加热和脉冲电场限制了加工食品的种类,高静压、亚临界水技术的可行性和安全性问题。因此,在考虑生产成本、食品种类和安全性问题时,采用微波和超声是制备抗氧化肽较好的新型加工技术。今后对新型加工技术制备产物的结构和组成应进行更加深入的分析,在加工过程中产物的安全性也是研究的重点。同时借助新型加工技术辅助提高酶解底物浓度,提高制备抗氧化肽的含量,高效精准进行酶解特定产物的工艺条件和分离相关设备等也需进一步研究。

参考文献

- [1] BASHIR K M I, PARK Y, AN J H, et al. Antioxidant properties of scomber japonicus hydrolysates prepared by enzymatic hydrolysis [J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2018, 27(1): 107-121.
- [2] HEMA G S, JOSHY C G, SHYNI K, et al. Optimization of process parameters for the production of collagen peptides from fish skin (Epinephelus malabaricus) using response surface methodology and its characterization[J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 54(2): 488-496.
- [3] 张强, 李伟华. 抗氧化肽的研究现状[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(2): 298-304.
ZHANG Q, LI W H. Research progress of antioxidant peptides[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(2): 298-304.
- [4] 齐兴宇, 闫小娟, 张海悦. 卵白蛋白肽复合酶法制备工艺优化及解酒效果[J]. 食品与机械, 2022, 38(5): 166-172.
QI X Y, YAN X J, ZHANG H Y. Optimization of preparation technology of ovalbumin-peptide by complex enzyme and its antialcoholic effect[J]. Food & Machinery, 2022, 38(5): 166-172.
- [5] OZYURT G, BOGA M, UÇAR Y, et al. Chemical, bioactive properties and in vitro digestibility of spray-dried fish silages: Comparison of two discard fish (Equulites klunzingeri and Carassius gibelio) silages[J]. Aquaculture Nutrition, 2018, 24(3): 998-1005.
- [6] 孙跃如, 林桐, 赵吉春, 等. 谷物源抗氧化肽: 制备、构效及应用[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(10): 299-305.
SUN Y R, LIN T, ZHAO J C, et al. Antioxidant peptides from cereals: Preparation, structure-activity and application[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(10): 299-305.
- [7] 宫田娇, 付源, 李冰, 等. 微生物发酵法脱除柞蚕蛹蛋白臭味和制备抗氧化肽的工艺研究[J]. 北方蚕业, 2021, 42(1): 19-27.
- [8] GONG T J, FU Y, LI B, et al. Technology of removing the odor of silkworm pupa protein and preparing antioxidant peptides by microbial fermentation[J]. North Sericulture, 2021, 42(1): 19-27.
- [8] RAVESCHOT C, CUDENEC B, COUTTE F, et al. Production of bioactive peptides by lactobacillus species: From gene to application[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2354.
- [9] 阮晓慧. 核桃粕分离蛋白的酶解产物功能特性研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2017: 5-7.
RUAN X H. Study on the functional properties of enzymatic hydrolysates of walnut protein isolate[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2017: 5-7.
- [10] 宋雪梅. 玉米源肽对肝细胞酒精性损伤的保护作用[D]. 长春: 吉林大学, 2018: 16-35.
SONG X M. Protective effect of corn peptides against alcohol-induced hepatic injury [D]. Changchun: Jilin University, 2018: 16-35.
- [11] JIN H, XU H, LI Y, et al. Preparation and evaluation of peptides with potential antioxidant activity by microwave assisted enzymatic hydrolysis of collagen from sea cucumber acaudina molpadioides obtained from Zhejiang province in China[J]. Marine Drugs, 2019, 17(3): 169.
- [12] LI Y, LI J, LIN S, et al. Preparation of antioxidant peptide by microwave-assisted hydrolysis of collagen and its protective effect against H₂O₂-induced damage of RAW264.7 cells [J]. Marine Drugs, 2019, 17(11): 642.
- [13] CHEN Z, LI Y, LIN S, et al. Development of continuous microwave-assisted protein digestion with immobilized enzyme[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2014, 445(2): 491-496.
- [14] HUANG Y, RUAN G, QIN Z, et al. Antioxidant activity measurement and potential antioxidant peptides exploration from hydrolysates of novel continuous microwave-assisted enzymolysis of the scomberomorus niphonius protein[J]. Food Chemistry, 2017, 223: 89-95.
- [15] KETNAWA S, LICEAGA A M. Effect of microwave treatments on antioxidant activity and antigenicity of fish frame protein hydrolysates[J]. Food and Bioprocess Technology, 2017, 10(3): 582-591.
- [16] LI X W, WILLY H J, CHANG S, et al. Selective laser melting of stainless steel and alumina composite: Experimental and simulation studies on processing parameters, microstructure and mechanical properties[J]. Material & Design, 2018, 145: 1-10.
- [17] SILVA V L M, SANTOS L M N B, SILVA A M S. Ohmic heating: An emerging concept in organic synthesis [J]. Chemistry-A European Journal, 2017, 23(33): 7853-7865.
- [18] COSTA N R, CAPPATO L P, FERREIRA M V S, et al. Ohmic heating: A potential technology for sweet whey processing [J]. Food Research International, 2018, 106: 771-779.
- [19] JESUS M S, BALLESTEROS L F, PEREIRA R N, et al. Ohmic heating polyphenolic extracts from vine pruning residue with

- enhanced biological activity [J]. Food Chemistry, 2020, 316: 126298.
- [20] COELHO M C, RIBEIRO T B, OLIVEIRA C, et al. In vitro gastrointestinal digestion impact on the bioaccessibility and antioxidant capacity of bioactive compounds from tomato flours obtained after conventional and ohmic heating extraction[J]. Foods, 2021, 10(3): 554.
- [21] 杨诗奇, 张晨, 李超, 等. 亚临界水在生物大分子中的应用进展[J]. 食品工业, 2020, 41(6): 262-264.
- YANG S Q, ZHANG C, LI C, et al. Research progress of subcritical water technology in biomacromolecules[J]. The Food Industry, 2020, 41(6): 262-264.
- [22] 颜征, 张海晖, 李亚群, 等. 莲子壳多酚的抗氧化活性和稳定性[J]. 中国食品学报, 2019, 19(12): 89-95.
- YAN Z, ZHANG H H, LI Y Q, et al. Antioxidant properties and stability of polyphenols in lotus seed hull[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(12): 89-95.
- [23] 吴昊, 杨玉, 王悦庆, 等. 亚临界水萃取甘草残渣共提取甘草总黄酮及低聚糖[J]. 南京工业大学学报(自然科学版), 2021, 43(1): 25-31.
- WU H, YANG Y, WANG Y Q, et al. Subcritical water extraction of glycyrrhiza total flavonoids and oligosaccharides from glycyrrhiza residues[J]. Journal of Nanjing Tech University (Natural Science Edition), 2021, 43(1): 25-31.
- [24] AHMED R, CHUN B. Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from tuna skin collagen [J]. Journal of Supercritical Fluids, 2018, 141: 88-96.
- [25] ASADUZZAMAN A K M, CHUN B. Recovery of functional materials with thermally stable antioxidative properties in squid muscle hydrolyzates by subcritical water [J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(2): 793-802.
- [26] 涂宗财, 尧思华, 王辉, 等. 亚临界水对鸭血浆蛋白抗氧化活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(2): 111-115.
- TU Z C, YAO S H, WANG H, et al. Effects of subcritical water on the antioxidant activity of blood plasma protein [J]. Food and Fermentation Industries, 2014, 40(2): 111-115.
- [27] ÁLVAREZ C, TIWARI B K, RENDUELES M, et al. Use of response surface methodology to describe the effect of time and temperature on the production of decolored, antioxidant and functional peptides from porcine hemoglobin by sub-critical water hydrolysis[J]. LWT, 2016, 73: 280-289.
- [28] CHUN B S, LEE S C, HO T C, et al. Subcritical water hydrolysis of comb pen shell (*atrina pectinata*) edible parts to produce high-value amino acid products[J]. Marine Drugs, 2022, 20(6): 357.
- [29] JUNG K, CHOI Y, CHUN J, et al. Effects of concentration and reaction time of trypsin, pepsin, and chymotrypsin on the hydrolysis efficiency of porcine placenta[J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2014, 34(2): 151-157.
- [30] LACHOS-PEREZ D, BROWN A B, MUDHOO A, et al. Applications of subcritical and supercritical water conditions for extraction, hydrolysis, gasification, and carbonization of biomass: A critical review [J]. Biofuel Research Journal, 2017, 4(2): 611-626.
- [31] 李文欣, 李海静, 张立娟, 等. 超声辅助酶法制备海参性腺 ACE 抑制肽及其模拟体内消化稳定性的研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(16): 83-91.
- LI W X, LI H J, ZHANG L J, et al. Preparation of ACE-Inhibitory peptides from Sea cucumber gonad via ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis and research on their stability in simulated internal digestion[J]. Food Research and Development, 2021, 42(16): 83-91.
- [32] 戢得蓉, 刘松奇, 熊坤艳, 等. 雪莲果叶总黄酮超声波辅助酶法提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(2): 179-185.
- JI D R, LIU S Q, XIONG K Y, et al. Ultrasonic enzymatic extraction of total flavonoids from *Saussurea involucrata* leaves and its antioxidant capacity analysis[J]. Food & Machinery, 2021, 37(2): 179-185.
- [33] YU H, TAN F. Effect of ultrasonic pretreatment on the antioxidant properties of porcine liver protein hydrolysates[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2017, 52(6): 1392-1399.
- [34] 梁秋芳, 张熙, 任晓锋, 等. 扫频超声处理时间对 β -乳球蛋白酶解制备多肽抗氧化活性的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(4): 33-41.
- LIANG Q F, ZHANG X, REN X F, et al. Effect of sweeping frequency ultrasound pretreatment time on the antioxidant activity of peptides prepared by β -Lactoglobulin [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(4): 33-41.
- [35] GUERRA-ALMONACID C M, TORRUCO-UCO J G, MURILL-ARANGO W, et al. Effect of ultrasound pretreatment on the antioxidant capacity and antihypertensive activity of bioactive peptides obtained from the protein hydrolysates of *Erythrina edulis*[J]. Emirates Journal of Food and Agriculture, 2019, 31(4): 288-296.
- [36] LIANG Q F, REN X F, MA H L, et al. Effect of Low-Frequency ultrasonic-assisted enzymolysis on the physicochemical and antioxidant properties of corn protein hydrolysates[J]. Journal of Food Quality, 2017, 2017: 2784146.
- [37] WANG Y, WANG Z, HANDA C L, et al. Effects of ultrasound pretreatment on the structure of β -conglycinin and glycinin and the antioxidant activity of their hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2017, 218: 165-172.
- [38] 杨雪, 李云亮, 王禹程, 等. 可溶化结合超声预处理对酪蛋白酶解产物 ACE 抑制活性的影响[J]. 中国食品学报, 2019, 19(7): 146-152.
- YANG X, LI Y L, WANG Y C, et al. The effect of solubilization and ultrasound combination pretreatment on the ACE inhibitory activity of casein-hydrolysate[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(7): 146-152.
- [39] 王晨笑, 尹浩, 王丹凤, 等. 高静压处理对植物蛋白消化性的影响[J]. 保鲜与加工, 2020, 20(4): 230-235.

- WANG C X, YIN H, WANG D F, et al. Effect of high hydrostatic pressure treatment on the digestibility of plant proteins[J]. *Storage and Process*, 2020, 20(4): 230-235.
- [40] 熊新星, 周兵, 张璐瑶, 等. 气体结合高静压对干锅藕片贮藏期品质及微生物的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(9): 220-224.
- XIONG X X, ZHOU B, ZHANG L Y, et al. Effects of gas packaging combined with high hydrostatic pressure on storage quality and microbiology of dry pot lotus root slices, a Chinese dish[J]. *Food Science*, 2017, 38(9): 220-224.
- [41] 曹妍妍, 杨傅佳, 吴靖娜, 等. 超高压技术在水产品贮藏加工应用中的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(18): 6 143-6 148.
- CAO Y Y, YANG F J, WU J N, et al. Research progress of ultra-high pressure technology in storage and processing of aquatic products[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2019, 10(18): 6 143-6 148.
- [42] WANG S, WANG T, SUN T, et al. Effects of high hydrostatic pressure pretreatment on the functional and structural properties of rice bran protein hydrolysates[J]. *Foods*, 2022, 11(1): 29.
- [43] FRANCK M, PERREAULT V, SUWAL S, et al. High hydrostatic pressure-assisted enzymatic hydrolysis improved protein digestion of flaxseed protein isolate and generation of peptides with antioxidant activity[J]. *Food Research International*, 2019, 115: 467-473.
- [44] GUAN H, DIAO X, JIANG F, et al. The enzymatic hydrolysis of soy protein isolate by Corolase PP under high hydrostatic pressure and its effect on bioactivity and characteristics of hydrolysates[J]. *Food Chemistry*, 2018, 245: 89-96.
- [45] DONG X H, LI J, JIANG G X, et al. Effects of combined high pressure and enzymatic treatments on physicochemical and antioxidant properties of peanut proteins [J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(4): 1 417-1 425.
- [46] YAMAMOTO K. Food processing by high hydrostatic pressure[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2017, 81(4): 672-679.
- [47] ZHANG S Y, DONG L, SUN L Z, et al. Use of a Combination of the MD Simulations and NMR spectroscopy to determine the regulatory mechanism of Pulsed Electric Field (PEF) targeting at C-Terminal histidine of VNAVLH [J]. *Food Chemistry*, 2020, 334: 127554.
- [48] CHIAN F M, KAUR L, OEY I, et al. Effect of pulsed electric fields (PEF) on the ultrastructure and in vitro protein digestibility of bovine longissimus thoracis[J]. *LWT*, 2019, 103: 253-259.
- [49] 姜薇, 金声琅, 殷涌光. 鹿茸抗氧化多肽高压脉冲电场辅助酶法提取及纯化工艺优化[J]. *食品与机械*, 2018, 34(3): 180-185.
- JIANG W, JIN S L, YIN Y G. Process optimization for purification and preparation of hairy antler grounds antioxidant peptide assisted by high-intensity pulsed electric fields[J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(3): 180-185.
- [50] FRANCO D, MUNEKATA P E S, AGREGÁN R, et al. Application of pulsed electric fields for obtaining antioxidant extracts from fish residues[J]. *Antioxidants*, 2020, 9(2): 90.
- [51] 张鸣镝, 姜源, 李雄, 等. 高压脉冲电场技术提高红松籽抗氧化肽活性[J]. *农业工程学报*, 2015, 31(14): 272-277.
- ZHANG M D, JIANG Y, LI X, et al. Improvement of antioxidant peptides activity of korean pine seed by pulsed electric field technology[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015, 31(14): 272-277.
- [52] 李雄, 郭星, 余佩, 等. 高压脉冲电场技术改变抗氧化活性肽 MMCTN 的二级结构的实验研究[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(3): 74-78.
- LI X, GUO X, YU P, et al. Secondary structure of MMCTN treated by pulsed electric field (PEF) technology [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(3): 74-78.
- [53] 郭超凡, 王云阳. 蛋白质物理改性的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(2): 428-433.
- GUO C F, WANG Y Y. Research progress on physical modification methods of protein[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2017, 8(2): 428-433.
- [54] 康永锋, 康俊霞, 吴文惠, 等. 超声波、微波对鲑鱼肽结构及抗氧化性的影响[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(5): 66-71.
- KANG Y F, KANG J X, WU W H, et al. Study on the effect and structure of ultrasonic and microwave on the antioxidant peptides from salmon[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(5): 66-71.
- [55] HABINSHUTI I, MU T, ZHANG M. Ultrasound microwave-assisted enzymatic production and characterisation of antioxidant peptides from sweet potato protein[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2020, 69: 105262.
- [56] ALIZADEH O, ALIAKBARLU J. Effects of ultrasound and ohmic heating pretreatments on hydrolysis, antioxidant and antibacterial activities of whey protein concentrate and its fractions[J]. *LWT*, 2020, 131: 109913.
- [57] 陆海勤, 宫晓丽, 李冬梅, 等. 响应面优化超声协同高压矩形脉冲电场提取黄花菜多糖工艺及其抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(11): 163-170.
- LU H Q, GONG X L, LI D M, et al. Optimization of ultrasound combined with rectangular high pulsed electrical field assisted extraction of polysaccharides from *hemerocallis citrina* by response surface methodology and its antioxidant activity [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(11): 163-170.
- [58] 胡双飞, 张学武, 范晓丹. 超声耦合亚临界水提取螺旋藻粗蛋白及其抗氧化活性研究[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(9): 150-157.
- HU S F, ZHANG X W, FAN X D. Crude protein extraction from *spirulina platensis* by ultrasound coupling subcritical water and its antioxidant activity[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(9): 150-157.
- [59] WANG Y, TAYYAB RASHID M T, YAN J, et al. Effect of multi-frequency ultrasound thawing on the structure and rheological properties of myofibrillar proteins from small yellow croaker[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2020, 70: 105352.