

蛋清蛋白肽体外抗氧化作用模式的研究

迟玉杰*, 李冰, 程缘

(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要: **目的** 研究蛋清蛋白肽抗氧化作用模式。**方法** 利用超滤技术分离蛋清蛋白木瓜蛋白酶酶解产物; 采用 Fenton 体系、邻苯三酚自氧化体系和亚油酸自氧化体系分别测定超滤各组分清除羟自由基、超氧阴离子及抑制脂质过氧化的能力, 同时测定各组分对二苯代苦味肼基自由基清除能力(DPPH 自由基)、还原能力及对猪胎儿成纤维细胞(porcine embryonic fibroblast, PEF)过氧化损伤的保护作用。**结果** 超滤各组分中分子量小于 3 kDa 组分(蛋清蛋白酶解产物-III, egg white protein hydrolysate, EWPH-III)占蛋清蛋白酶解产物(EWPHs)总量的 50.06%。EWPH 的抗氧化活性随分子量的降低而增强($P<0.05$), 其中 EWPH-III 在浓度为 5 mg/mL 时, 对羟自由基、超氧阴离子、DPPH 自由基的清除率分别为 52.86%、35.05%和 78.74%, 对亚油酸氧化的抑制率为 74.57%。在浓度为 2.5 mg/mL 时, PEF 细胞存活率达到 70.06%。**结论** 蛋清蛋白肽具有较强的抗氧化活性且分子量越小, 抗氧化活性越强, 可以作为氢供体、自由基稳定剂和金属离子螯合剂来抑制过氧化作用。

关键词: 蛋清蛋白肽; 超滤; 抗氧化作用

Study on antioxidative action mode of egg white-derived peptides *in vitro*

CHI Yu-Jie*, LI Bing, CHENG Yuan

(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

ABSTRACT: Objective To investigate antioxidative action mode of egg white-derived peptides *in vitro*. **Methods** The egg white-derived peptides were separated by ultrafiltration from egg white protein hydrolysates (EWPHs) produced by papain into three fractions. The hydroxyl radical, superoxide anion scavenging activities and lipid peroxidation inhibition of three fractions were detected by the methods related to Fenton system, pyrogallol autoxidation, and linoleic acid emulsion system. The reducing power, DPPH radical scavenging activities and alleviation of H_2O_2 -induced oxidative stress on porcine embryonic fibroblast (PEF) cell were also determined. **Results** EWPH-III (MW<3 kDa) accounted for 50.06% of the total amount of EWPHs. The values of hydroxyl radical, superoxide anion and DPPH radical scavenging activities were 52.86%, 35.05% and 78.74% at the concentration of 5 mg/mL, respectively. The percentage of inhibition of lipid peroxidation was 74.57% at the same concentration. The cell survival rate reached 70.06% at the concentration of 2.5mg/mL. EWPH exhibited significant increase ($P<0.05$) in antioxidant activity with a decrease in molecular weight of fraction values. **Conclusion** EWPH could act as a metal ion chelator, a hydrogen donor, as well as a radical stabilizer to inhibit lipid oxidation because of its antioxidant activity.

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD33B03)

Fund: Supported by Project of National Key Technology Research and Development Program for The 12th Five-year Plan (2012BAD33B03)

*通讯作者: 迟玉杰, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品化学。E-mail: yjchi@126.com

*Corresponding author: CHI Yu-Jie, Professor, Doctoral Tutor, College of Food Science, Northeast Agricultural University, 59 Mucai Road, Xiangfang District, Harbin 150030, China, E-mail: yjchi@126.com

KEY WORDS: egg white-derived peptides; ultrafiltration; antioxidant

抗氧化剂是一类抑制或清除自由基以减缓氧化反应的物质,它通过捕获或猝灭自由基,维持体内自由基的平衡,从而从根本上预防衰老和治疗疾病。外源性抗氧化剂来源可分为药物和食物两大类,药物绝大多数是人工合成的,往往具有一定的不良反应,而食物却相对安全,能够减轻人体肝脏的解毒负担。随着生活品质的提高,人们把目光逐渐转向了更加安全的天然抗氧化剂。以蛋白质为原料经酶水解制备的抗氧化肽,不仅具有较高的抗氧化活性,还具有天然抗氧化剂低毒、高效等优点,已经在保健食品及医疗、化妆品等行业有广泛的应用^[1,2]。

我国是全球最大的鸡蛋生产国,鸡蛋占我国禽蛋产量 85%以上,鸡蛋蛋清蛋白质含量高(11%)且富含赖氨酸和疏水性氨基酸,是获取抗氧化肽的优质食物源。杨万根等^[3]用 Alcalase2.4 L 碱性蛋白酶和 Protease N 蛋白酶酶解鸡蛋蛋清蛋白制备抗氧化多肽,结果表明,Protease N 蛋白酶的酶解物活性要高于 Alcalase2.4 L,并且在水解度为 15%时,抗凝血酶活性最高。张瑞东等^[4]运用胰蛋白酶、木瓜蛋白酶及 Alcalase 碱性蛋白酶对蛋清蛋白进行酶解作用,得到的结果是,3 种蛋白酶的 EWPHs 均具有抗氧化和 ACE 抑制活性,但两种活性之间无明显的相关,且小分子组分的活性最强。

蛋清蛋白肽的抗氧化活性是通过多方面的性质体现出来的,只有通过建立在不同抗氧化作用机制上的方法,在不同体系环境中来测定,才能全面评价其抗氧化活性。因此,本研究将酶解与超滤技术相结合,分离得到 3 种不同分子量蛋清蛋白肽组分,通过测定 3 种组分的自由基清除能力、抑制脂质氧化的能力、还原能力以及对细胞氧化损伤的保护作用来综合分析蛋清蛋白肽的抗氧化作用模式,为天然抗氧化剂—蛋清蛋白肽的开发与利用提供理论依据与实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

1.1.1 材料与试剂

蛋清粉(大连韩伟食品有限公司);木瓜蛋白酶(papain,上海国药集团);脱氧核糖(北京瑞博奥生物

科技公司);马尿酰组氨酰亮氨酸(Hip-His-Leu, HHL, 美国 Sigma 公司);甲醇(HPLC 级,韩国 SK Chemicals 公司);其他试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器

TU-1800 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器公司);FDU-1100 冻干机(日本 EYELA);Agilent1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);Vivaflow 50 型超滤装置(德国 Sartorius Stedim 公司);增力电动搅拌器(江苏省金坛市金城国盛仪器公司);PHS-3C 精密 PH 计(上海市雷磁仪器厂);电子分析天平(北京市仪器二厂);恒温水浴锅(余姚市东方电工仪器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 蛋清蛋白肽的制备

配制浓度为 30 mg/mL 的蛋清蛋白溶液,90 °C 预处理 10 min,冷却后调 pH 至 6.0,温度 50 °C,加入木瓜蛋白酶(酶:底物 3:100, w/w),以 1 mol/L NaOH 维持反应体系 pH 值至稳定,水解 3 h 后,酶解液置于沸水浴中 10 min 灭活。反应终止后,用 1 mol/L NaOH 调至 pH 7.0,4000 r/min 离心 15 min 后取上清液(即蛋清蛋白酶解产物,egg white protein hydrolysate, EWPH),一部分冷冻干燥,密封于 4 °C 保存,另一部分经过 0.45 μm 微滤膜过滤后,采用截留分子量为 10 kDa 和 3 kDa 的超滤膜,分离得到分子量为 10 kDa 以上(EWPH-I)、3~10 kDa (EWPH-II)及 3 kDa 以下(EWPH-III)的 3 个组分,收集各组分分离液,计算各组分肽得率后冷冻干燥,配置成浓度为 5 mg/mL 的样品溶液待测。

1.2.2 抗氧化作用模式的研究

羟自由基清除能力的测定:采用脱氧核糖法^[5]测定抗氧化肽的羟自由基清除能力。

超氧阴离子清除率的测定:采用邻苯三酚自氧化法^[3]测定抗氧化肽的超氧阴离子清除率。

DPPH 自由基清除率的测定:参照 Shahidi 等^[6]的方法测定蛋清蛋白抗氧化肽的 DPPH 自由基清除率的测定。取样品溶液 2 mL,加入 2 mL 0.1 mmol/L DPPH 乙醇溶液混匀,避光放置 30 min,在 517 nm 处测定吸光度记为 A_t ;同法取 2 mL 蒸馏水加入 2 mL 0.1 mmol/L DPPH 溶液混匀,测定吸光度记为 A_0 ;取

2 mL 5 mg/mL 水解液加入 2 mL 乙醇混匀, 测定吸光度记为 A_b 。按照以下公式计算 DPPH 自由基清除率 (DPPH radical scavenging activities, DRSA) 可用以下公式表示:

$$DRSA(\%) = 1 - \frac{A_t - A_b}{A_0} \times 100\%$$

抗脂质过氧化能力的测定: 采用亚油酸抗氧化体系测定蛋清蛋白抗氧化肽的抗脂质过氧化能力^[7]。将样品溶液(5 mg/mL)溶于 5 mL 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0)中, 加入 5 mL 无水乙醇和 65 μ L 亚油酸, 在用蒸馏水调整到 12.5 mL, 混匀, 用硅橡胶塞密封, 放在 60 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中保温, 每 24 h 测定吸光值。

吸光值的测定: 采用硫氰酸铁(ferric thiocyanate colorimetric, FTC)法。取反应液 0.1 mL, 依次加入 4.7 mL 75 % 的乙醇溶液, 0.1 mL 30 % 硫氰酸铵溶液和 0.1 mL 硫酸亚铁溶液(3.5 % HCL 配制), 混合均匀 5 min 后在 500 nm 处测定吸光值(A), 每天隔 24 h 测定 1 次吸光值。以不添加酶解物的作为空白对照(A_0)。

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\%$$

还原能力的测定: 参照 Yen 等^[8]的方法对蛋清蛋白抗氧化肽的还原能力进行测定。1.0 mL 5 mg/mL 样品溶液加入 2.5 mL 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH 6.6)中, 再加入 2.5 mL 10 mg/mL $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液, 摇匀后于 50 $^{\circ}$ C 保温 20 min, 加入 2.5 mL 10% 的三氯乙酸, 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2.5 mL, 加入 2.5 mL H_2O 和 0.5 mL 0.1% $FeCl_3$ 溶液, 混匀后于 700 nm 处测定吸光度记为 A, 同理以蒸馏水替代样品溶液作为空白对照, 吸光度 A 越大则样品还原能力越强。

1.2.3 对 PEF 细胞过氧化损伤的保护作用

PEF 细胞培养: 选用猪胎儿成纤维(porcine embryonic fibroblast, PEF)细胞于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 细胞培养箱中培养, DMEM 高糖培养液中含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 μ g/mL 链霉素。2~3 d 换培养液, 3~4 d 进行细胞传代。传代时先以 DPBS 洗涤, 然后以 0.25% 胰酶(含 0.04% EDTA)消化。

不同分子量肽段对 PEF 细胞存活的影响: 取对数生长期 PEF 细胞接种在 96 孔板上, 接种密度为 1×10^4 个/cm², 在 37 $^{\circ}$ C 孵育 24 h, 弃上清, 加入浓度为 2.5 mg/mL 的样品溶液(溶剂为 PBS), 并设阴性对照组(只加 PBS), 每组设 3 个平行孔。37 $^{\circ}$ C 孵育 24 h

后, 测定细胞存活率。

试验分组: PEF 细胞以 2×10^3 个/mL 的密度接种于 96 孔板, 每孔加样量为 100 μ L, 每组分肽段做 96 孔。分为 5 组: 第 1 组为空白对照组, 第 2 组只加入 H_2O_2 作用 24 h, 并使其终浓度为 1 mmol/L(模型对照组), 其他 3 组 37 $^{\circ}$ C 培养 16 h 后, 将不同分子量肽段样品(EWPH-I、EWPH-II 及 EWPH-III)加入孔板中, 37 $^{\circ}$ C 培养 24 h 后, 加入 H_2O_2 使浓度为 1 mmol/L, 继续于 37 $^{\circ}$ C 培养 24 h 后, 进行细胞存活率检测。细胞存活率的测定利用 CCK-8 试剂盒, 用酶标仪于 570 nm 波长处测定 OD 值, 详见表 1。

$$\text{细胞存活率}(\%) = \frac{\text{试验组 OD 值}}{\text{对照组 OD 值}} \times 100\%$$

表 1 试验分组情况
Table 1 Groups of the test

组别	组名	添加物
1	空白对照组 (control)	-
2	模型对照组 (model control)	H_2O_2
3	抗氧化 I (antioxidant I)	EWPH-I + H_2O_2
4	抗氧化 II (antioxidant II)	EWPH-II + H_2O_2
5	抗氧化 III (antioxidant III)	EWPH-III + H_2O_2

1.3 统计学方法

本研究涉及的试验均设计三次平行, 结果用平均值及标准偏差形式表示($\bar{x} \pm s$), 组间差异显著性采用 t 检验分析($P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著)。数据统计分析利用 SPSS 17.0 和 Origin7.5 软件的统计功能处理。图表采用 Origin7.5 软件绘制。

2 结果

2.1 自由基清除活性

表 2 所示的是 EWPH 不同分子量肽段的肽得率及自由基清除活性。由表中可以看出, 3 个分子量不同的抗氧化肽组分均具有一定的 DPPH 自由基、羟自由基以及超氧阴离子自由基清除活性, 对 DPPH 自由基和羟自由基清除的清除能力要高于超氧阴离子自由基。此外, 随着分子量的减小, 肽段组分的自由基清除能力逐渐增加, 在所有的肽段中, EWPH-III (MW < 3 kDa) 的自由基清除活性最强($P < 0.05$)且得率最高达 50.46%。

表 2 超滤处理后各组分抗氧化活性及肽得率

Table 2 Antioxidant activity of components after ultrafiltration treatment and peptide yield

EWPH	DPPH 自由基清除率/%	羟自由基清除率/%	超氧阴离子清除率/%	还原能力 A (700 nm)	肽得率/%
EWPH-I	38.94±0.56*	30.47±1.24*	17.24±0.76*	0.204±0.007*	24.96
EWPH-II	62.74±1.02 [#]	40.07±0.67 [#]	25.87±1.16 [#]	0.276±0.012 [#]	15.27
EWPH-III	78.74±1.25	52.86±0.46	35.05±1.34	0.305±0.005	50.46

样品浓度为 5 mg/mL。在同一列中, 相同符号表示差异不显著, 不同符号则表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 还原能力的测定

随着分子量的减小, EWPH 不同分子量的肽段的还原能力逐渐增加(图 1), 相应数值如表 2 所示, 其中 EWPH-III (MW <3 kDa)的还原能力最强($P<0.05$), 这一结果与各肽段的自由基清除活性的结果相似。

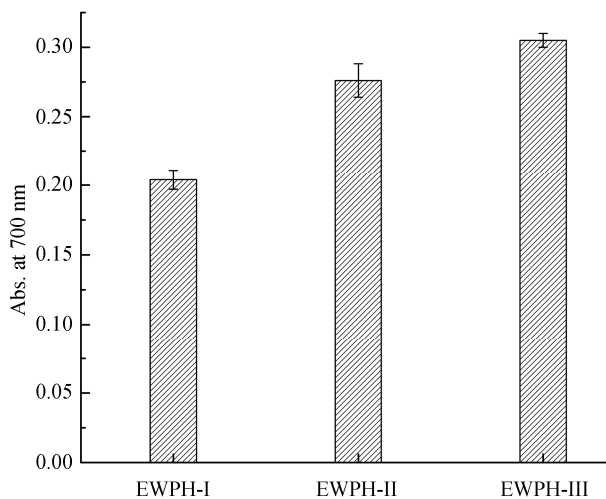


图 1 不同分子量范围水解物的还原能力

Fig. 1 Reducing power of hydrolysates with different molecule weight

2.3 抗脂质过氧化能力的测定

蛋清蛋白抗氧化肽不同分子量肽段组分对脂质过氧化的抑制作用结果如图 2 所示, 3 种分子量肽段均能有效抑制亚油酸体系中的亚油酸自氧化, 与自由基清除活性和还原能力相同, EWPH 的脂质过氧化抑制活性也随着分子量的减小而增强。当浓度为 5 mg/mL 时, EWPH-III 对亚油酸氧化的抑制率为 74.57%。因此可以得出结论, 分子量越小, EWPH 的抑制脂质过氧化能力越强。

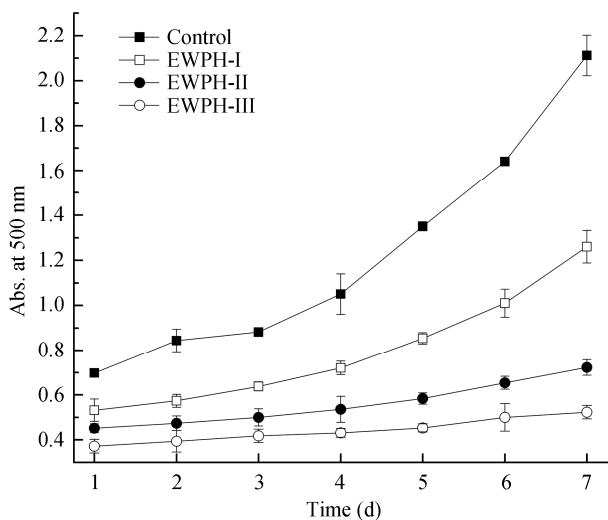


图 2 不同分子量肽段组分水解物对脂质过氧化的抑制作用

Fig. 2 Effect of EWPH with different molecule weight peptides on oxidation of linoleic acid

注: 样品浓度为 5 mg/mL

2.4 对 PEF 细胞过氧化损伤的保护作用

2.4.1 不同分子量肽段组分对 PEF 细胞存活的影响

为了排除不同分子量肽段对 PEF 细胞的毒性作用影响, 通过 MTT(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide, 噻唑蓝)法测定不同分子量肽段对 PEF 细胞存活率的影响(图 3), 3 种分子量肽段在浓度为 2.5 mg/mL 的范围内, 不影响 PEF 细胞的存活, 因此选择该浓度进行后续试验。

2.4.2 不同分子量肽段对 PEF 细胞氧化损伤的保护作用

与空白组(control)对比, H₂O₂ 可显著诱导 PEF 细胞损伤, 在接种细胞数相同的条件下, 经 H₂O₂ 处理的模型对照组(model control)使细胞存活率下降到 25.46%。3 种分子量肽段对 H₂O₂ 诱导氧化损伤的 PEF 细胞具有不同程度的保护作用。随着分子量的减小, 保护作用逐渐增强($P<0.05$), 其中 EWPH-III 对细胞氧化损伤的保护作用效果最好, 在浓度为 2.5 mg/mL 时, 细胞存活率达到 70.06%, 详见图 4。

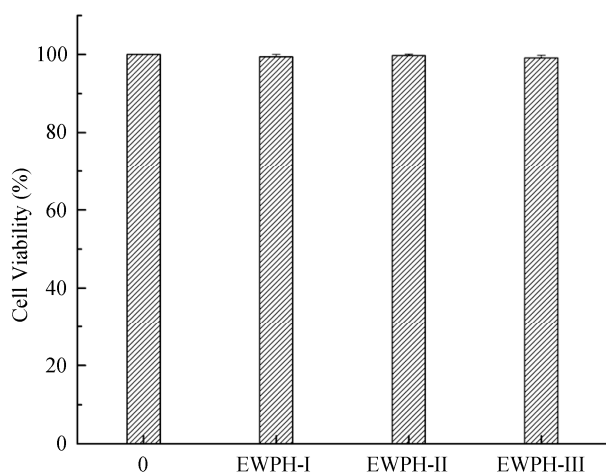


图 3 不同分子量肽段对 PEF 细胞存活的影响

Fig. 3 Effect of EWPH with different molecule weight peptides on the PEF cell viability

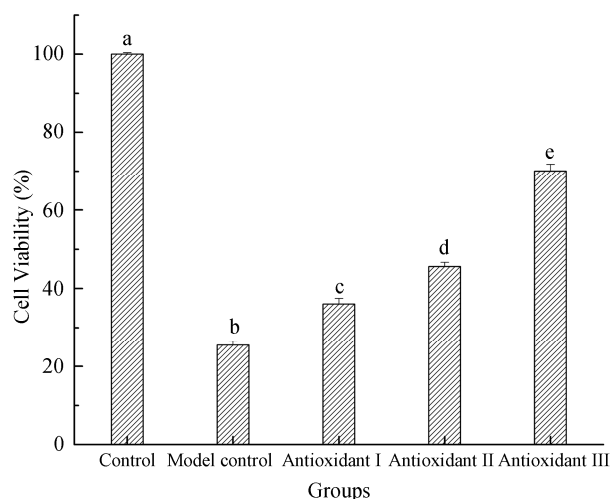


图 4 不同分子量肽段对 H_2O_2 诱导的氧化损伤 PEF 细胞保护作用(细胞存活率)

Fig. 4 Effect of EWPH with different molecule weight peptides on H_2O_2 -induced oxidative damage in PEF cells (cell viability)

图中不同的字母代表差异有统计学意义($P < 0.05$)

3 讨 论

3.1 自由基清除活性

在评价水解物的抗氧化活性时选择不同的自由基反应系统会影响试验结果^[9], 因此, 本次试验选择 3 种自由基(DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子)反应系统来评价不同分子量蛋清蛋白肽段对自由基的清除能力。1, 1-二苯基苦基苯肼(DPPH)自由基是一

种合成的有机自由基, 广泛用于测定抗氧化物质的抗氧化活性。DPPH 乙醇溶液呈紫色, 在 517 nm 处有最大吸收, 当遇到自由基清除剂时, 与其单电子配对而使吸收减弱, 褪色程度与其接受的质子数成定量关系, 因而可以根据吸光值的大小来定量评价抗氧化剂的抗氧化效果^[10]。羟自由基是目前所知对生物体毒性最强、危害最大的一种自由基, 它可以通过电子转移、加成以及脱氢等方式与生物体内的多种分子作用, 造成糖类、氨基酸、蛋白质、核酸和脂类等物质的氧化性损伤, 使细胞坏死或突变, $\cdot OH$ 还与衰老、肿瘤、辐射损伤和细胞吞噬等有关, 羟自由基清除能力是反映物质抗氧作用的重要指标^[11]。在细胞的氧化反应中, 首先产生的是超氧阴离子, 尽管它不具有很高的反应活性, 但它能够诱发产生多种自由基, 并且能作为氧化介质引发细胞损伤, 从而导致细胞膜及 DNA 的损伤^[12]。本研究结果表明不同分子量蛋清蛋白肽对 3 种自由基均有不同程度的清除作用, 且分子量小于 3 kDa 的肽段自由基清除活性最强。这可能是因为占 EWPH 总量 50.46% 的 EWPH-III(MW < 3 kDa)中, 含有较多的多肽或者氨基酸残基可以作为供氢体, 提高了组分中有效氢离子的数量, 和/或者它们与自由基反应使自由基变成更稳定的状态, 或者能够捕捉活性氧, 以此来终止自由基链式反应。

3.2 还原能力

一般来说, 物质的还原能力与其抗氧化活性呈正相关^[13,14]。还原能力通常用来评价抗氧化物提供电子或者质子的能力, 自由基通过接受质子变为稳定的状态, 从而打断自由基的链式反应。在还原能力的试验中, 含 3 价铁的铁氰化物通过接受待测物提供的电子还原为 2 价铁, 使体系溶液的颜色发生改变, 以此来反映体系中氧化还原状态的改变, 吸光值越大表示还原能力越强^[15]。通过对还原能力的测定, 初步发现 EWPH-III(MW < 3 kDa)的还原能力最强, 该结果与各肽段的自由基清除活性的结果相似, 但仍需进一步探究两者的相关性。

3.3 抗脂质过氧化能力

脂质的氧化对于食品工业以及消费者都是一项十分重要的问题, 它不仅会对食品风味产生不利影响, 而且氧化产物还具有毒性^[16]。许多研究^[5,17]表明不同蛋白来源的酶解物均具有抑制脂质过氧化的能力。酶解物的抑制脂质过氧化能力很大程度上与它的

自身结构有关,一方面它可以在油滴的外边形成一层包膜,阻隔油脂与氧气的接触,从而达到抗氧化的效果;另一方面它可以清除或螯合引发脂质过氧化链式反应的自由基或金属离子,从而打断链式反应,进而起到抗氧化的效果。本研究采用亚油酸自氧化体系来评价蛋清蛋白肽抑制脂质过氧化的能力。结果表明,与自由基清除活性和还原能力相同,分子量越小,EWPH 的抗氧化活性越强。这可能是因为 EWPH-III(MW<3 kDa)中的一些两性的、有活性的小肽,可更好地扩散到水-油界面,吸附或松散的结合到发生氧化作用脂质的表面,起到抗脂质氧化的作用^[18]。同时,EWPH-III中小分子肽含量较大,使羧基浓度相对增加,提高了对金属离子的螯合能力,从而清除了脂肪氧化体系中促氧化作用的金属离子。通过酶解作用而使某些氨基酸(如组氨酸是常见的具有金属螯合能力的氨基酸)暴露程度增大,也可能是抑制脂质过氧化的原因^[19]。

3.4 对 PEF 细胞过氧化损伤的保护作用

H₂O₂是一种强氧化剂,它能通过 Fentons 反应生成羟自由基,诱发脂质过氧化反应,并引起自由基链式反应,使自由基扩增放大造成细胞损伤,因此常用 H₂O₂ 作为制造氧化应激模型的应激源。彭新颜等^[20]用 1 mmol/L 的 H₂O₂ 诱导 MRC-5 细胞损伤,使细胞存活率下降到了 22.47%,加入乳清多肽后,对 MRC-5 的氧化损伤具有一定的保护作用。Zhong 等^[21]水解鲢鱼加工副产物得到不同分子量的肽段,其中分子量小于 1kDa 的组分具有最好的抗氧化活性,并且能够对 H₂O₂ 诱导 Caco-2 细胞损伤具有很好的保护作用。本研究结果显示 EWPH 对 PEF 细胞没有毒性作用,并且能够有效保护 H₂O₂ 诱导的 PEF 细胞损伤。

4 结 论

选用木瓜蛋白酶对蛋清蛋白进行水解作用,运用超滤技术富集 3 种不同分子量蛋清蛋白肽组分,通过测定各组分的清除自由基能力、抑制脂质过氧化能力、还原能力和对细胞氧化损伤的保护作用。结果表明,蛋清蛋白木瓜蛋白酶水解产物抗氧化作用模式主要通过清除或淬灭自由基的能力,提供氢离子以起到还原作用的能力,以及作为供氢体和供电子体使游离自由基变为稳定态,螯合金属离子从而阻断由自由基引发的脂质过氧化链式反应的能力来共同实现的。

参考文献

- [1] 王章存,徐贤,王雷酶.解蛋白制备抗氧化肽研究进展[J].粮食与油脂,2008,7:1-2.
Wang ZC, Xu X, Wang L. Study advances on antioxidant peptide from protein-hydrolysates [J]. Cereals Oils, 2008, 7: 1-2.
- [2] 秦天苍,于新华,葛宁,等.天然抗氧化剂在食用油中应用价值探讨[J].粮食流通技术,2009,5:34-40.
Qin TC, Yu XH, Ge N, *et al.* Discussion about the application value of natural antioxidants in the edible oil [J]. Grain Distrib Technol, 2009, 5:34-40.
- [3] 杨万根,王璋.蛋清蛋白酶解物的抗氧化、抗凝血酶活性及生化特性的研究[J].食品科学,2008,6:202-207.
Yang WG, Wang Z. Study on antioxidant and antithrombin activities of egg white protein hydrolysates and their biochemical properties [J]. Food Sci, 2008, 6: 202-207.
- [4] 张瑞东,迟玉杰,陈晨,等.蛋清蛋白酶解物抗氧化与血管紧张素转换酶抑制活性的研究[J].营养学报,2010,32(4):345-349.
Zhang RD, Chi YJ, Chen C, *et al.* Study on the antioxidative and angiotension converting enzyme inhibitory activities of proteinase hydrolysates from egg white [J]. Acta Nutr Sin, 2010, 32(4): 345-349.
- [5] 陈晨,迟玉杰,刘丽.蛋清的蛋白酶解物清除自由基能力的研究[J].营养学报,2009,31(5):471-474.
Chen C, Chi YJ, Liu L. Study on free scavenging activity of proteinase hydrolysates from egg white [J]. Acta Nutr Sin, 2009, 31(5): 471-474.
- [6] Shahidi F, Liyana-Pathirana CM, Wallb DS, *et al.* Antioxidant activity of white and black sesame seeds and their hull fractions [J]. Food Chem, 2006, 99: 478-483.
- [7] Kim SY, Je JY, Kim SK. Purification and characterization of antioxidant peptide from hoki (*Johnius belengerii*) frame protein by gastrointestinal digestion [J]. J Nutr Biochem, 2007, 18: 31-38.
- [8] Yen GC, Chen HY. Antioxidant activity of various tea extract in relation to their antimutagenicity [J]. J Agric Food Chem, 1995, 43: 27-32.
- [9] Yu L, Haley S, Perret J, *et al.* Free radical scavenging properties of wheat extracts [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 1619-1624.
- [10] Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, *et al.* Antioxidative properties of xanthan on the antioxidant-ion of soybean oil in cyclodextrin emulsion [J]. J Agric Food Chem, 1992, 40: 945-948.
- [11] Castro L, Freeman B. Reactive oxygen species in human health and disease [J]. Nutrition, 2001, 170: 161-165.
- [12] Macdonald J, Galley HF, Webster NR. Oxidative stress and gene expression in sepsis [J]. Brit J Anaesth, 2003, 90(2): 221-232.
- [13] Xie ZH, Huang J, Xu X, *et al.* Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate [J]. Food Chem,

- 2008, 111: 370-376.
- [14] Duh PD, Du PC, Yen GC. Action of methanolic extract of mung bean hulls as inhibitors of lipid peroxidation and non-lipid oxidative damage [J]. Food Chem Toxicol, 1999, 37(11): 1055-1061.
- [15] Dorman HJD, Peltoketo A, Hiltunen R, *et al.* Characterization of the antioxidant properties of deodorised aqueous extracts from selected lamiaceae herbs [J]. Food Chem, 2003, 83(2): 255-262.
- [16] Maillard MN, Soum MH, Meydani SN, *et al.* Antioxidant activity of barley and malt: Relationship with phenolic content [J]. Food Sci Technol, 1996, 29: 238-244.
- [17] Mendis E, Rajapakse N, Kim SK. Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53: 581-587.
- [18] 张丽萍, 毛晶晶, 刁静静, 等. 麦胚蛋白水解物抗氧化活性及其作用模式[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(6): 14-19.
Zhang LP, Mao JJ, Xi JJ, *et al.* Study on antioxidant and mechanism of wheat germ hydrolysates [J]. J Chin Cereals Oils Assoc, 2012, 27(6): 14-19.
- [19] 张慧芸, 陈俊亮, 康怀彬, 等. 猪皮胶原蛋白水解物体外抗氧化作用模式初探[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(9): 54-58.
Zhang HY, Chen JL, Kang HB, *et al.* Antioxidant activity and the possible mechanism pig skin collagen hydrolysates [J]. Food Ferment Ind, 2012, 38(9): 54-58.
- [20] 彭新颜, 孔保华, 熊幼翎. 乳清蛋白抗氧化肽对 H_2O_2 所致人胚肺成纤维细胞 MRC-5 过氧化损伤的保护作用[J]. 中国农业科学, 2010, 43(14): 2982-2989.
Peng XY, Kong BH, Xiong YL. Protective effects of whey protein isolate (WPI) peptides on lung fibroblasts cell mrc-5 caused by the damage of H_2O_2 [J]. Sci Agr Sin 2010, 43(14): 2982-2989.
- [21] Zhong S, Ma C, Lin YC, *et al.* Antioxidant properties of peptide fractions from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) processing by-product protein hydrolysates evaluated by electron spin resonance spectrometry [J]. Food Chem, 2011, 126: 1636-1642.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



迟玉杰, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品化学。
E-mail: yjchi@126.com