

超高压协同酶法条件下不同分子量大豆分离蛋白 水解肽乳化性及抗氧化性研究

关海宁, 徐筱君, 孙薇婷, 李曦, 杨畅, 刘登勇*, 刁小琴*, 罗丹
(渤海大学食品科学与工程学院, 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心,
辽宁省食品安全重点实验室, 锦州 121013)

摘要: **目的** 研究不同分子量分布对大豆分离蛋白水解肽乳化性及抗氧化性的影响。**方法** 采用超滤技术将超高压协同酶解制备的大豆分离蛋白水解物分离得到 5 个分子量肽段, 即分子量(molecular weight, Mw)<3500 u、3500 u<Mw<7000 u、7000 u<Mw<10000 u、10000 u<Mw<20000 u 和 Mw>20000 u。通过测定乳化性、乳化稳定性、电势、粒径、还原力、以及对 2,2-联苯基-1-苦基肼基(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)和 2,2'-联氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS]自由基清除率, 分析不同分子量水解肽的乳化性及抗氧化性变化。**结果** 7000 u<Mw<10000 u 的水解肽具有较高的乳化性、电势和较小的粒径, 而 10000 u<Mw<20000 u 的水解肽则表现出较优的乳化稳定性, 但与 7000 u<Mw<10000 u 的组分差异不显著($P>0.05$); 水解肽的抗氧化性随肽段分子量的减小呈逐渐增大趋势, 且不同分子量肽段与还原力和 DPPH 自由基清除能力均呈极显著负相关性($P<0.01$), 与 ABTS 自由基清除能力呈显著负相关性($P<0.05$)。**结论** 超高压协同酶法制备的大豆分离蛋白水解肽的乳化性和抗氧化性与其分子量分布有密切关联, 这为相关功能性产品的开发提供了较为切实的理论依据。

关键词: 超高压协同酶解; 大豆分离蛋白; 水解肽; 分子量; 乳化性; 抗氧化性

Study on emulsification and antioxidant properties of soy protein isolate hydrolysatic peptides with different molecular weight by enzymatic hydrolysis under high hydrostatic pressure

GUAN Hai-Ning, XU Xiao-Jun, SUN Wei-Ting, LI Xi, YANG Chang,
LIU Deng-Yong*, DIAO Xiao-Qin*, LUO Dan

(College of Food Science and Technology, Bohai University, National and Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, Food Safety Key Laboratory of Liaoning Province, Jinzhou 121013, China)

基金项目: 辽宁省教育厅科学技术研究项目(LJ2020010)、渤海大学博士科研启动基金项目(05013/0520bs006)、辽宁省“揭榜挂帅”科技攻关计划项目(2021JH1/10400033)

Fund: Supported by the Scientific Research Project from Education Department of Liaoning Province (LJ2020010), the Doctoral Research Foundation of Bohai University (05013/0520bs006), and the Science and Technology Project of “Unveiling and Commanding” Liaoning Province (2021JH1/10400033)

***通信作者:** 刘登勇, 博士, 教授, 主要研究方向为肉品加工与质量安全控制、食品风味与感知科学。E-mail: jz_dyliu@126.com

刁小琴, 博士, 副教授, 主要研究方向为肉品加工与质量安全控制。E-mail: diaoxiaoqing172@163.com

***Corresponding author:** LIU Deng-Yong, Ph.D, Professor, Bohai University, No.19, Keji Road, New Songshan District, Jinzhou 121013, China. E-mail: jz_dyliu@126.com

DIAO Xiao-Qin, Ph.D, Associate Professor, Bohai University, No.19, Keji Road, New Songshan District, Jinzhou 121013, China. E-mail: diaoxiaoqing172@163.com

ABSTRACT: Objective To study the effects of molecular weight distribution on emulsification and antioxidant properties of soy protein isolate hydrolysatic peptides. **Methods** The soy protein isolate hydrolysates obtained by ultra high pressure synergistic enzymolysis were separated by ultrafiltration technology to obtain 5 molecular weight peptide fragments, namely, molecular weight (Mw)<3500 u, 3500 u<Mw<7000 u, 7000 u<Mw<10000 u, 10000 u<Mw<20000 u and Mw>20000 u. The changes of emulsification and antioxidant activity of hydrolyzed peptides with different molecular weights were analyzed by measuring the emulsifying activity, emulsion stability, electric potential, particle size, reducing power, and free radical clearance rates of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) (ABTS). **Results** The hydrolyzed peptides with 7000 u<Mw<10000 u had higher emulsifying activity, electric potential and smaller particle size, while the hydrolyzed peptides with 10000 u<Mw<20000 u showed better emulsifying stability, but the difference was not significant with the components with 7000 u<Mw<10000 u ($P>0.05$); the antioxidant activity of hydrolyzed peptides gradually increased with the decrease of molecular weight of peptides, peptides with different molecular weights had a very significant negative correlation with both reducing power and DPPH radical scavenging capacity ($P<0.01$), and a significant negative correlation with ABTS radical scavenging capacity ($P<0.05$). **Conclusion** The emulsifying property and antioxidant activity of soy protein isolate hydrolysatic peptides prepared by ultra high pressure synergistic enzyme method are closely related to their molecular weight distribution, which provides a practical theoretical basis for the development of related functional products.

KEY WORDS: enzymatic hydrolysis under high hydrostatic pressure; soy protein isolate; hydrolysatic peptide; molecular weight; emulsifying property; antioxidant activity

0 引言

大豆分离蛋白水解肽(soy protein isolate hydrolysatic peptides, SPIHP)是以大豆分离蛋白为原料,经蛋白酶水解、分离并经过特殊处理而制成的蛋白水解产物,具有较高的营养价值。与大豆蛋白相比, SPIHP 不仅更易被人体吸收和更快地为人体输送营养及能量^[1],而且在降低过敏反应的同时也增强了加工特性^[2-3]。研究表明,不同肽段的产品具有不同的加工功能特性和生理功能特性,且活性与其分子量、疏水性及氨基酸序列等密切相关^[4]。慈傲特^[5]比较了 4 个不同分子量(molecular weight, Mw)组分 Mw<3 kDa、3 kDa<Mw<5 kDa、5 kDa<Mw<10 kDa 和 Mw>10 kDa 山核桃抗氧化肽的理化性质,结果表明山核桃抗氧化肽不同分子量组分的理化特性存在显著差异。文超婷^[6]采用超滤膜分离西瓜籽蛋白酶解物,结果发现相比于高分子肽段, Mw<1000 Da 的肽具有较强的抗氧化能力。由此可见,蛋白肽的理化及功能特性与其分子量分布有着密切的关联。超高压作为一种优越的蛋白物理修饰手段,近年来逐渐成为研究者关注的热点,其具有节约能源、减少污染且能改变蛋白结构进而提高其诸多加工特性等优点^[7]。与此同时,高压下的蛋白酶解效应,由于结构、空间构象以及酶-底物关联的变化,使其功能性质发生了改善,同时酶解后产生的小分子肽段,使整个体系增加了抗氧化性以及对抗血管紧张素转换酶的抑制作用等生理功能特性^[8]。SINGH 等^[9]采

用胰蛋白酶在 350 MPa 压力下对卵清蛋白水解 5 min, 结果发现浓度为 10%卵清蛋白的水解产物,其抗氧化值由对照组的 9.34%提高至 19%,抗氧化性得到明显提高。GARCIA-MORA 等^[10]利用复合蛋白酶、胰蛋白酶以及碱性蛋白酶在 100~300 MPa 压力下水解扁豆蛋白,结果发现与其他处理相比较,300 MPa 下产生更多数量的小于 3 kDa 的水解肽,同时其氧自由基清除能力提高了 2 倍多。目前关于大豆分离蛋白的研究主要集中于水解进程对大豆分离蛋白结构的影响^[11-12]、不同水解度对大豆肽乳化性、抗氧化性的影响^[13-14]、以及超高压协同酶法对大豆分离蛋白致敏性等领域^[15]。本课题组在前期的研究中发现高压协同酶解得到的大豆分离蛋白水解物具有一定的功能特性^[8],然而,为了更加精准地得到具有高效抗氧化及乳化能力的肽段,本研究基于超高压协同酶法制备大豆分离蛋白水解产物,并经分子截留超滤技术制备不同分子量的水解肽,研究其乳化特性与抗氧化能力,旨在为具有功能性的大豆水解肽在食品及相关行业的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

食品级低温脱脂豆粕购自哈高科大豆食品有限公司,粗蛋白含量为 48.1%;大豆色拉油购自锦州市大润发超市。

Corolase PP (4000 U/g, 来自猪胰脏,南京庞博生物工程有限公司);磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、对 2,2-联

苯基-1-苦基肼基(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)[2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]、过硫酸钾、乙酸钠(分析纯, 北京索莱宝科技有限公司); 氢氧化钠、盐酸、铁氰化钾、氯化铁(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 无水乙醇、三氯乙酸(分析纯, 西安天茂化工有限公司)。

1.2 仪器与设备

Minimate EVO 切向流超滤系统(德国 PALL 公司); HHP-400 超高压设备(沈阳人和机电工程设备有限公司); FD-1 真空冷冻干燥机(西安常仪仪器设备有限公司); T18 均质机(上海翼控机电有限公司); UV2550 紫外可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司); Allegra 64R 冷冻离心机(美国 Beckman 公司); Nano Brook90 马尔文激光粒度仪(美国布鲁克海文仪器公司); Zetasizer Pro Malvern 电位仪(英国马尔文仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 大豆分离蛋白的制备

根据 GUAN 等^[16]制备大豆分离蛋白的方法, 将一定量的低温脱脂豆粕溶于 10 倍体积的去离子水中($m:V$), 用 2 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至 8.0, 室温下(大约 25°C)搅拌 2 h 提取蛋白, 悬浮液冷冻离心 30 min (4°C, 8000×g), 上清液用 2 mol/L 盐酸调 pH 至 4.5, 冷冻离心 10 min (4°C, 8000×g)。弃掉上清液, 用 5 倍体积的去离子水($m:V$)洗涤沉淀两次, 再次取沉淀分散于去离子水中, 并用 2 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至 7.0, 冷冻干燥后于 4°C 保存备用。采用凯氏定氮法测得蛋白纯度为 92.3%。

1.3.2 高压酶解大豆多肽的制备

将 1.3.1 得到的大豆分离蛋白用 0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 7.5)溶解, 制成终质量浓度为 30 mg/mL 的溶液, 加入底物质量 3% 的 Corolase PP, 混匀后取 50 mL 装入聚乙烯双层塑料袋中, 将其抽真空后密封, 然后放入高压釜中, 酶解条件如下: 蒸馏水为压力传递介质, 酶解温度 50°C, 压力 200 MPa, 水解时间 4 h, 水解结束后将其置于沸水中 10 min 灭活, 室温冷却后再冷冻离心 10 min (4°C, 20000×g), 上清液冻干后于 4°C 保存备用。

1.3.3 不同分子量肽段的制备

将上述高压酶解大豆分离蛋白水解物配成 50 mg/mL 的溶液, 依次用不同分子量的超滤膜(3500、7000、10000、20000 u)进行分离, 获得 5 种 SPIHP 组分: $M_w < 3500$ u、 3500 u $< M_w < 7000$ u、 7000 u $< M_w < 10000$ u、 10000 u $< M_w < 20000$ u 和 $M_w > 20000$ u。将所得不同分子量水解肽经冷冻干燥低温保存备用。

1.3.4 乳化性能的测定

(1) 乳化性和乳化稳定性

参照 KONTOGIANNI 等^[17]的方法, 用磷酸盐缓冲溶

液(0.1 mol/L, pH 6.5)将不同分子量水解肽冻干粉配制成 1 mg/mL 的溶液。样品溶液 8 mL 与大豆色拉油 2 mL 置于 50 mL 离心管中, 采用均质机在 16000 r/min 的速度下均质 2 min 得乳化液。采用吸光度法分别测定不同分子量段 SPIHP 的乳化性和乳化稳定性。

(2) 电势的测定

取上述均质后的乳状液注入到毛细管吸收池中, 常温下使用 Malvern 电位仪测定含有不同分子量水解肽乳化液的 ζ 电势。

(3) 粒径分布的测定

参照 LI 等^[18]的方法, 采用马尔文激光粒度仪进行粒径分布测定, 为了避免散射效应, 测定前用蒸馏水将上述测定乳化性配制的不同分子量 SPIHP 乳化液稀释到适宜的浓度。

1.3.5 抗氧化性能的测定

(1) 还原力的测定

根据 BORAWSKA 等^[19]所述的方法, 并稍作修改。取 1 mL 样品溶液与 2.5 mL pH 为 6.6 的 0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲液以及 2.5 mL 的 1% 铁氰化钾溶液混匀, 在 50°C 的水浴中加热 20 min, 碎冰冷却, 再与 10% 的三氯乙酸(2.5 mL)混匀后离心 10 min (3000 r/min), 随后将上清液(5 mL)、蒸馏水(5 mL)以及 0.1% 氯化铁溶液(1 mL)混匀, 室温放置 10 min, 在波长为 700 nm 下测各样品的吸光度。

(2) DPPH 自由基清除能力的测定

参照 WANG 等^[20]的方法并稍作修改。取 2 mL 样品溶液与 2.0 mL DPPH 乙醇溶液(0.2 mmol/L)混合均匀, 室温下避光 30 min, 使用乙醇调零于 517 nm 处测量其吸光值。DPPH 自由基清除能力按公式(1)进行计算。

$$\text{DPPH 自由基清除}/\% = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中: A_1 为 2 mL 样品溶液+2 mL DPPH 溶液测得的吸光度; A_2 为 2 mL 样品溶液+2 mL 95% 乙醇溶液测得的吸光度; A_0 为 2 mL DPPH 溶液+2 mL 95% 乙醇溶液测得的吸光度。

(3) ABTS 自由基清除能力的测定

利用 WIRIYAPHAN 等^[21]的方法并稍作修改。将 10 mL ABTS (7 mmol/L) 与 176 μ L 过硫酸钾(140 mmol/L)混合, 室温暗处放置 12~16 h, 得 ABTS 原液。测量前, 用乙酸钠缓冲液(0.02 mmol/L, pH 4.5)将 ABTS 原液稀释到吸光度为 0.70 ± 0.01 (734 nm)。将 20 μ L 样品液与 3 mL 稀释的 ABTS 工作液混合, 暗处静置反应 6 min, 在 734 nm 处测量吸光度。ABTS 自由基清除率按公式(2)进行计算。

$$\text{ABTS 自由基清除率}/\% = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中, A_c 为 ABTS 溶液吸光值; A_s 为 ABTS 溶液加入样品的吸光值。

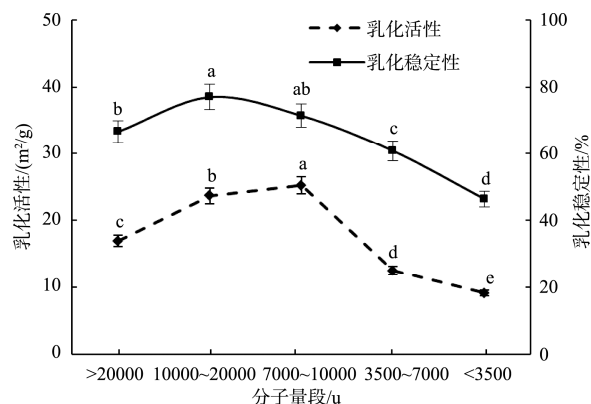
1.4 数据处理

每组实验重复 3 次, 结果以平均值±标准偏差表示。绘图采用 Excel 2010, 数据差异显著性分析采用 Statistix 8.0 统计软件, 相关性分析采用 SPSS 软件。

2 结果与分析

2.1 不同分子量 SPIHP 的乳化性与乳化稳定性分析

蛋白质的乳化性受很多因素的影响, 包括蛋白质的两亲性和界面活性, 以及蛋白质的溶解性和流动性, 即蛋白质分子快速移动到界面的能力^[22]。不同分子量 SPIHP 的乳化性及乳化稳定性见图 1, 从图 1 中可以看出: 随着分子量的减小, SPIHP 的乳化性和乳化稳定性均呈先增加后下降趋势, 这说明不同分子量的水解肽, 其乳化特性存在差异性。分子量相对较高的水解肽乳化性能较差, 与 XU 等^[23]报道的高分子量牦牛皮明胶具有更低乳化性的研究结果一致。此外, 中分子量(10000 u < Mw < 20000 u)的 SPIHP 则表现出较好的乳化稳定性, 可能归因于其能够有效改善界面膜流变学性质, 而 Mw < 3500 u 的 SPIHP, 其乳化性及乳化稳定性均相对较差, 可能是该部分肽的疏水基团过度暴露, 表面活性层的平衡被打破, 同时小分子量肽也无法像蛋白质一样在表面展开, 无法减少界面张力, 因而使乳化性能降低^[24]。



注: 图中不同小写字母表示不同分子量段间差异显著, $P < 0.05$, 下同。

图 1 不同分子量 SPIHP 的乳化性和乳化稳定性($n=3$)

Fig.1 Emulsification and emulsion stability of SPIHP with different molecular weights ($n=3$)

2.2 不同分子量 SPIHP 的电势分析

ζ -电势是乳液的一个重要物理性质, 可反映乳液体系在静电相互作用下的潜在稳定性。QIU 等^[25]证明, 乳液液滴的低电势降低了相邻蛋白包被液滴之间的静电排斥, 不足以克服各种相互作用会导致液滴聚合, 进而说明具有较高电位绝对值的乳液具有更好的物理稳定性。图 2 显示了

不同分子量 SPIHP 的电势, 结果表明: 随着 SPIHP 分子量的减小, 乳液液滴颗粒表面的电荷绝对值呈先增加后降低趋势, 此现象与乳化稳定性的结果相一致。这可能是由于酶解后, 蛋白质的疏水基团暴露, 使水解肽表面带有更多的负电荷, 导致电势增加; 而随着分子量的继续减小, 乳液液滴中的油滴聚集, 导致电势降低^[26]。有研究也表明电势与乳化性有密切联系, 水解产物的高电位可以增强分子内和分子间的静电排斥, 促进蛋白质展开, 并破坏现有的蛋白质聚集体或阻止聚集体进一步形成, 从而改善蛋白质的流动性, 使其乳化性增强^[27]。

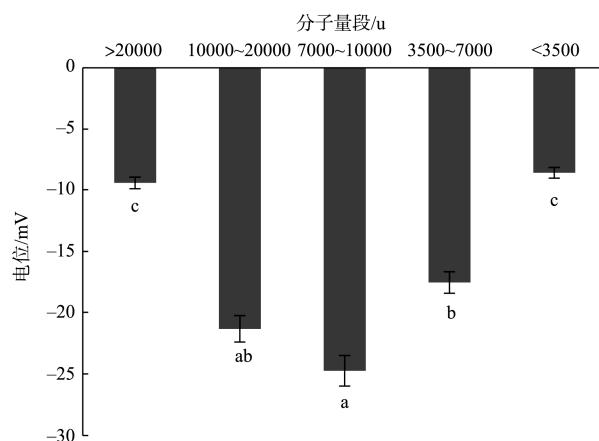


图 2 不同分子量 SPIHP 的 ζ -电势($n=3$)

Fig.2 Zeta potential of SPIHP with different molecular weights ($n=3$)

2.3 不同分子量 SPIHP 的粒径分布分析

乳液的稳定性与乳液液滴的粒径分布有关, 液滴粒径的大小影响乳液液滴的上浮或沉降。图 3 是经马尔文激光粒度仪表征的不同分子量 SPIHP 的粒径分布。

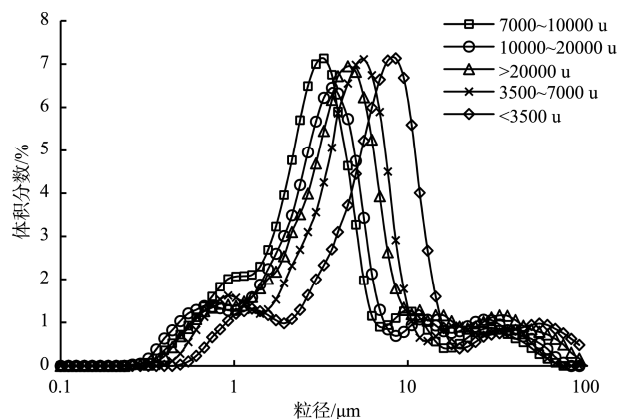


图 3 不同分子量 SPIHP 的粒径分布

Fig.3 Particle size distributions of SPIHP with different molecular weights

从图 3 可以看出, 不同分子量 SPIHP 的粒径分布均呈

现 3 个峰, 说明不同分子量的水解肽形成的乳化液均有油滴聚集。与 $Mw < 3500$ u 的水解肽形成的乳化液粒径相比, 其他分子量形成的乳化液的粒径均朝着粒径减少的方向移动, 且 $7000 \text{ u} < Mw < 10000 \text{ u}$ 的水解肽形成的乳化液具有相对较小的粒径, 进而说明乳化液较为稳定。而 $Mw < 3500$ u 的水解肽, 尽管自身的分子量较小, 但由于其乳化能力较弱, 粒子容易聚集, 因而乳液中的粒径表现为较大^[28]。

2.4 不同分子量 SPIHP 的还原力分析

抗氧化活性与物质的还原力间存在相关性, 还原力较高的化合物具有更好供电子或供氢能力, 从而导致自由基链式反应中断^[18]。不同分子量 SPIHP 的还原力如图 4 所示, 结果显示还原力随着相对分子量的增加而减弱。这表明低分子量的 SPIHP 与高分子量相比具有更强的抗氧化活性。有研究人员也指出, 相对分子量小的肽在酶解过程中较多的活性氨基酸残基暴露并且更多的电子被提供, 相比于大分子量肽其更容易结合活性位点, 表现出更强的还原力^[29]。

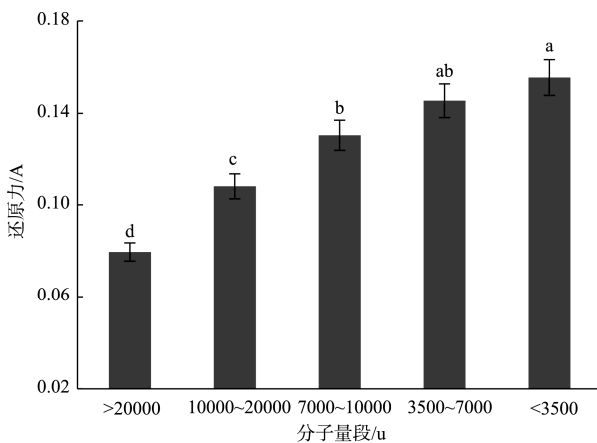


图 4 不同分子量 SPIHP 的还原力($n=3$)

Fig.4 Reducing capacity of SPIHP with different molecular weights ($n=3$)

2.5 不同分子量 SPIHP 的 DPPH 自由基清除能力分析

由图 5 可知, 不同分子量 SPIHP 对 DPPH 自由基均有一定程度的清除作用, 这表明肽链中含有电子的供体物质能与 DPPH 自由基反应, 将其转化为稳定的产物, 终止自由基链反应^[30]。随着分子量的减少, DPPH 自由基清除能力逐渐增强, 这可能是由于小分子量肽中含有更多的抗氧化功能性肽。

2.6 不同分子量 SPIHP 的 ABTS 自由基清除能力分析

由图 6 可知, 随着分子量的减小, 其对 ABTS 自由基清除能力逐渐增强, 其中 $Mw < 3500$ u 的 SPIHP 的清除能力最强($P < 0.05$)。这可能是由于 ABTS 自由基是一种人工合成的亲水性自由基, 随着分子量的降低, 水解物中小肽的亲水性也不断增强, 小分子抗氧化肽更易进入反应体系与

ABTS 自由基发生反应, BO 等^[31]研究了不同分子量紫苏籽粕蛋白酶解产物的抗氧化活性, 发现小于 1 kDa 组分对抑制 ABTS 的活性最高, 其次为 1~3、<3~5、5~10 kDa, 而 >10 kDa 的活性最低, 说明小分子肽对 ABTS 自由基清除能力更强。

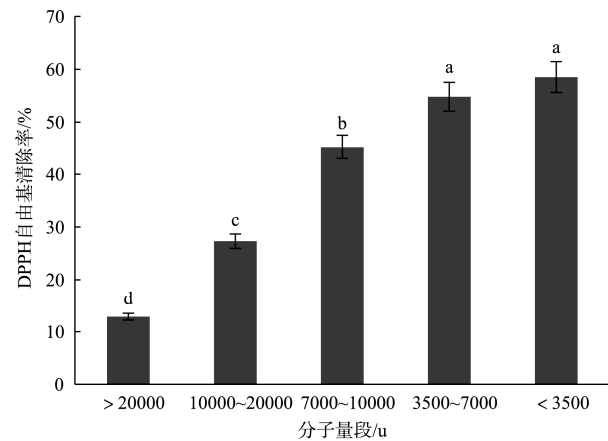


图 5 不同分子量 SPIHP 的 DPPH 自由基清除能力($n=3$)

Fig.5 DPPH radical scavenging capacity of SPIHP with different molecular weights ($n=3$)

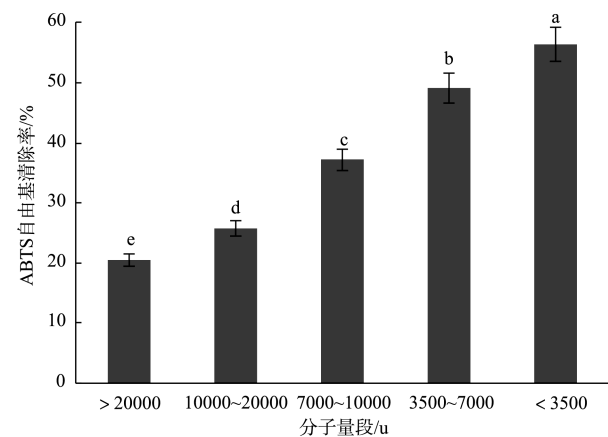


图 6 不同分子量 SPIHP 的 ABTS 自由基清除能力($n=3$)

Fig.6 ABTS radical scavenging capacity of SPIHP with different molecular weights ($n=3$)

2.7 相关性分析

由表 1 可知, SPIHP 分子量的大小与还原力和 DPPH 自由基清除能力呈极显著负相关($P < 0.01$), 与 ABTS 自由基清除率呈显著负相关($P < 0.05$), 说明分子量越小, 抗氧化能力越强, 可能是小分子肽段组分中暴露出更多的抗氧化基团, 能够提供较多的电子, 从而起到抗氧化作用。在前期的研究中也发现, 大豆分离蛋白水解 4 h 时产生的小肽(<3 kDa)表现出较强的抗氧化能力^[8]。

3 结论

水解肽分子量及其分布是表现其生物活性的一个重

要指标, 分子量较大的肽不利于跨膜进入生物体内发挥其功效, 而分子量太小的肽又无法形成活性的聚合结构, 因此, 适当分子量的抗氧化肽具有较高的抗氧化活性, 在产品中具有更稳定的性质。

表 1 SPIHP 的不同分子量与抗氧化能力相关性分析
Table 1 Correlation analysis between different molecular weights of SPIHP and antioxidant capacity

项目	分子量	还原力	DPPH 自由基	ABTS 自由基
分子量	1	-0.980**	-0.967**	-0.902*
还原力		1	0.996**	0.966**
DPPH 自由基			1	0.968**
ABTS 自由基				1

注: *表示显著相关性($P<0.05$), **表示极显著相关性($P<0.01$)。

本研究探究了 5 个不同分子量段的大豆分离蛋白高压酶解物的乳化性及其抗氧化性。结果发现, 7000 u<Mw<10000 u 的水解肽具有较高的乳化性、电势和较小的粒径, 而 10000 u<Mw<20000 u 的水解肽表现出较为优越的乳化稳定性, 但与 7000 u<Mw<10000 u 的组分差异不显著($P>0.05$)。在抗氧化方面, SPIHP 的分子量与其还原力和 DPPH 自由基清除能力呈极显著负相关($P<0.01$), 与 ABTS 自由基清除能力呈显著负相关($P<0.05$)。CAO 等^[28]发现分子量较小的明胶水解物具有较低的乳化稳定性。林琳等^[32]研究 4 种分子量的小麦面筋蛋白酶解多肽的抗氧化活性, 结果表明分子量最小的组别抗氧化活性最强。魏洁琼等^[33]也报道称牛骨胶原蛋白肽分子量越小, 其抗氧化活性越强。水解肽的强抗氧化性不仅与分子量相关, 也是多方面协同作用的结果。齐希光等^[34]研究了不同分子量黑籽瓜种子多肽的抗氧化活性, 结果发现不同分子量黑籽瓜种子多肽的抗氧化能力各不相同, 其中分子量在 1~3 ku 的组分表现出最佳的 DPPH 自由基清除能力, 而分子量<1 ku 的组分表现出多重抗氧化效果。

本研究得出: 中分子量的高压酶解 SPIHP 具有较好的乳化特性且具有一定的抗氧化能力, 可作为天然成分添加到食品中, 开发出具有相关功能特性的食品。未来应主要关注不同分子量高压酶解 SPIHP 在体内的抗氧化效果研究以及开发系列抗氧化性强、加工性能稳定的大豆多肽产品, 以期满足消费者对功能性食品的需求。

参考文献

- [1] HUANG LR, DING XN, DAI CH, *et al.* Changes in the structure and dissociation of soybean protein isolate induced by ultrasound-assisted acid pretreatment [J]. *Food Chem*, 2017, 232: 727–732.
- [2] NISHINARI K, FANG Y, GUO S, *et al.* Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification [J]. *Food Hydrocolloid*, 2014, 39(2): 301–318.

- [3] RANI P, YU X, LIU HT, *et al.* Material, antibacterial and anticancer properties of natural polyphenols incorporated soy protein isolate: A review [J]. *Eur Polym J*, 2021, 152: 110494.
- [4] FENG L, PENG F, WANG X, *et al.* Identification and characterization of antioxidative peptides derived from simulated *in vitro* gastrointestinal digestion of walnut meal proteins [J]. *Food Res Int*, 2019, 116: 518–526.
- [5] 慈傲特. 山核桃饼粕抗氧化肽的制备与鉴定[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.
CI AOT. Preparation and identification of antioxidant peptide from pecan meal [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2018.
- [6] 文超婷. 西瓜籽肽的抗氧化构效关系及其分子机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2021.
WEN CT. Study on the structure-activity relationship and molecular mechanism of watermelon seed antioxidant peptides [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2021.
- [7] 王章存, 徐贤. 超高压处理对蛋白质结构及功能性影响[J]. *粮食与油脂*, 2007, 11: 10–12.
WANG ZC, XU X. Effect of ultrahigh pressure disposal on protein structure and property [J]. *Cere Oils*, 2007, 11: 10–12.
- [8] GUAN HN, DIAO XQ, 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 Chem*, 2018, 245: 89–96.
- [9] SINGH A, RAMASWAMY HS. Effect of high-pressure treatment on trypsin hydrolysis and antioxidant activity of egg white proteins [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2014, 49(1): 269–279.
- [10] GARCIA-MORA P, PENAS E, FRIAS J, *et al.* High-pressure improves enzymatic proteolysis and the release of peptides with angiotensin I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities from lentil proteins [J]. *Food Chem*, 2015, 171: 224–232.
- [11] 庞美蓉, 丁秀臻, 孔祥珍, 等. 胃蛋白酶水解大豆分离蛋白的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(7): 103–107.
PANG MR, DING XZ, KONG XZ, *et al.* Enzymatic hydrolysis of soy protein extract with pepsin [J]. *Food Ferment Ind*, 2012, 38(7): 103–107.
- [12] 张晓敏, 何志勇, 曾茂茂, 等. 大豆蛋白及其水解物的界面流变学行为和搅打性质[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(15): 8–13.
ZHANG XM, HE ZY, ZENG MM, *et al.* Interfacial rheological behavior and whipping properties of soy protein and its hydrolysates [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2019, 40(15): 8–13.
- [13] 王鑫, 江连洲, 吴瑕, 等. 碱性蛋白酶水解大豆分离蛋白及其抗氧化活性的研究[J]. *大豆科技*, 2019, (S1): 211–217.
WANG X, JIANG LZ, WU X, *et al.* Study on alkaline protease hydrolysis of soy protein isolate and its antioxidant activity [J]. *Soybean Sci Technol*, 2019, (S1): 211–217.
- [14] LI WW, WANG YS, ZHAO HB, *et al.* Improvement of emulsifying properties of soy protein through selective hydrolysis: Interfacial shear rheology of adsorption layer [J]. *Food Hydrocolloid*, 2016, 60: 453–460.
- [15] LI HJ, ZHU KX, ZHOU HM, *et al.* Effects of high hydrostatic pressure treatment on allergenicity and structural properties of soybean protein isolate for infant formula [J]. *Food Chem*, 2012, 132(2): 808–814.
- [16] GUAN HN, DIAO XQ, LIU DY, *et al.* Effect of high pressure processing enzymatic hydrolysates of soy protein isolate on the emulsifying and oxidative stability of myofibrillar protein prepared oil-in-water emulsions

- [J]. *J Sci Food Agric*, 2020, 100: 3910–3919.
- [17] KONTOGIANNI VG, TOMIC G, NIKOLIC I, *et al.* Phytochemical profile of rosmarinus officinalis and salvia officinalis extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity [J]. *Food Chem*, 2013, 136(1): 120–129.
- [18] LI YY, LIU HT, HAN Q, *et al.* Cooperative antioxidative effects of zein hydrolysates with sage (*Salvia officinalis*) extract in a liposome system [J]. *Food Chem*, 2017, 222: 74–83.
- [19] BORAWSKA J, DAREWICZ M, VEGARUD GE, *et al.* Antioxidant properties of carp (*Cyprinus carpio* L.) protein *ex vivo* and *in vitro* hydrolysates [J]. *Food Chem*, 2016, 194: 770–779.
- [20] WANG YY, WANG CY, WANG ST, *et al.* Physicochemical properties and antioxidant activities of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) seed protein hydrolysates obtained with different proteases [J]. *Food Chem*, 2021, 345: 128765.
- [21] WIRIYAPHAN C, CHITSOMBOON B, YONGSAWADIGUL J. Antioxidant activity of protein hydrolysates derived from threadfin bream surimi byproducts [J]. *Food Chem*, 2012, 132(1): 104–111.
- [22] ZHANG XX, WANG L, CHEN ZX, *et al.* Effect of electron beam irradiation on the structural characteristics and functional properties of rice proteins [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(24): 13550–13560.
- [23] XU MQ, WEI LX, XIAO YC, *et al.* Molecular structural properties of extracted gelatin from yak skin as analysed based on molecular weight [J]. *Int J Food Prop*, 2017, 20(Suppl1): S543–S555.
- [24] 郭兴凤, 马维琦, 张娟娟. 酶法提取米渣中的蛋白质的功能性研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2009, 30(5): 4–8.
GUO XF, MA WQ, ZHANG JJ. The functional properties of proteins extracted from rice residues enzymatically [J]. *J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed)*, 2009, 30(5): 4–8.
- [25] QIU CY, ZHAO MM, DECKER EA, *et al.* Influence of anionic dietary fibers (xanthan gum and pectin) on oxidative stability and lipid digestibility of wheat protein-stabilized fish oil-in-water emulsion [J]. *Food Res Int*, 2015, 74: 131–139.
- [26] 金红. 大黄鱼脱脂鱼卵酶法改性及其产物乳化性和抗氧化性的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2018.
JIN H. Study on enzymatic modification of *Pseudosciaena crocea* roes and its product emulsification and antioxidation [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2018.
- [27] ZHAO F, LIU XM, DING XZ, *et al.* Effects of high-intensity ultrasound pretreatment on structure, properties, and enzymolysis of soy protein isolate [J]. *Molecules*, 2019, 24(20): 3637.
- [28] CAO WQ, SHI LF, HAO GX, *et al.* Effect of molecular weight on the emulsion properties of microfluidized gelatin hydrolysates [J]. *Food Hydrocolloid*, 2021, 111: 106267.
- [29] OLFA O, ZEINEB J, ISABELLE A, *et al.* Antioxidant activities of enzymatic-hydrolysed proteins of dromedary (*Camelus dromedarius*) colostrum [J]. *Int J Dairy Technol*, 2020, 73(2): 333–340.
- [30] CHEN C, SUN-WATERHOUSE DX, ZHANG Y, *et al.* The chemistry behind the antioxidant actions of soy protein isolate hydrolysates in a liposomal system: Their performance in aqueous solutions and liposomes [J]. *Food Chem*, 2020, 323: 126789.
- [31] BO YP, YOON KY. Biological activity of enzymatic hydrolysates and the membrane ultrafiltration fractions from perilla seed meal protein [J]. *Czech J Food Sci*, 2019, 37(3): 180–185.
- [32] 林琳, 崔凤杰, 闫桂强, 等. 不同分子量小麦面筋蛋白酶解多肽的分离及其抗氧化活性研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2010, (8): 34–35, 38.
LIN L, CUI FJ, YAN GQ, *et al.* Studies on isolation and antioxidation activity of polypeptide from wheat gluten with different molecular weights by enzymolysis [J]. *Cere Feed Ind*, 2010, (8): 34–35, 38.
- [33] 魏洁琼, 余群力, 韩玲, 等. 牛骨胶原蛋白肽制备工艺优化及抗氧化活性分析[J]. *甘肃农业大学学报*, 2020, 55(5): 203–211.
WEI JQ, YU QL, HAN L, *et al.* Optimization of preparation process and antioxidant activity analysis of bovine bone collagen peptide [J]. *J Gansu Agric Univ*, 2020, 55(5): 203–211.
- [34] 齐希光, 陆晓婷, 张晖, 等. 不同分子量黑籽瓜种子多肽抗氧化能力的研究[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(9): 74–80.
QI XG, LU XT, ZHANG H, *et al.* Study on the *in vitro* antioxidant capacity of different molecular weight polypeptides of black seed-watermelon seeds [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2016, 37(9): 74–80.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



关海宁, 博士, 副教授, 主要研究方向为肉制品风味与感知科学、功能性成分分析及加工与质量安全控制。

E-mail: hai.ning2001@163.com



刘登勇, 博士, 教授, 主要研究方向为肉品加工与质量安全控制、食品风味与感知科学。

E-mail: jz_dyliu@126.com



刁小琴, 博士, 副教授, 主要研究方向为肉品加工与质量安全控制。

E-mail: diaoxiaoqing172@163.com