豆粕源抗氧化肽的制备、鉴定与活性表征

潘风光[1,2]，蔡转章[1,2]，伍海波[1,2]，刘静波[1,2]，刘博群[1,2]，张 婷[*1,2]
（1. 吉林大学 食品科学与工程学院，吉林 长春 130062；2. 吉林大学 吉林省营养与功能食品重点实验室，吉林 长春 130062）

摘要：豆粕作为豆油加工的主要副产物，含有大豆中几乎全部蛋白质，具有广阔的应用前景。本研究中以大豆粕为原料，利用超声辅助酶解制备豆粕抗氧化肽，通过单因素和响应面实验，确定出最佳工艺参数为：酶解 pH 8.0、底物质量分数 9%、加酶量 6 665.39 U/g、酶解温度 50 ℃、酶解时间 4.0 h、超声时间 9 min、超声功率 300 W。经超滤处理获得相对分子质量<1 000 的组分，并将该组分通过液相色谱串联二级质谱（LC-MS/MS）鉴定，获得豆粕源抗氧化五肽，氨基酸序列为 Ile-Trp-Asn-Leu-Asn（IWNLN），其 ABTS 自由基清除能力的 IC_{50} 值为（0.060±0.003）mg/mL，ORAC 值为（7.614±0.138）mg TE/mg，羟自由基清除能力的 IC_{50} 值为（0.008±0.001）mg/mL。本研究为豆粕抗氧化肽生产工艺优化和功能因子序列确证提供了实验基础，为豆粕蛋白肽功能产品开发提供新的思路。

关键词：豆粕；活性肽；抗氧化；序列鉴定
中图分类号：TS 210.9　**文章编号**：1673-1689(2021)03-0055-10　**DOI**：10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.03.007

Preparation, Identification and Activity Characterization of Antioxidant Peptides from Soybean Meal

PAN Fengguang[1,2]，*CAI Zhuanzhang*[1,2]，*WU Haibo*[1,2]，*LIU Jingbo*[1,2]，*LIU Boqun*[1,2]，*ZHANG Ting*[*1,2]
(1. College of Food Science and Engineering, Jilin University, Changchun 130062, China; 2. Jilin Provincial Key Laboratory of Nutrition and Function Food, Jilin University, Changchun 130062, China)

Abstract: Soybean meal, the main by-product of soybean oil processing, contains almost all the proteins in soybeans and has broad application prospects. In this study, soybean meal antioxidant peptides were prepared from ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis. Through single factor and response surface tests, the optimum technological parameters were determined as follows: substrate concentration of 9% (mass fraction), enzyme amount of 6 665.39 U/g, enzyme hydrolysis at pH 8.0 under 50 ℃ for 4.0 h and ultrasound for 9 min under 300 W. The components with molecular weight less than 1 000 were obtained through ultrafiltration membrane and identified by LC-MS/MS. An antioxidant pentapeptide from soybean meal was obtained. Its amino acid sequence was Ile-Trp-Asn-Leu-Asn (IWNLN), and the IC_{50} value of ABTS radical scavenging ability was (0.06±

收稿日期：2020-04-04
基金项目：吉林省科技发展计划项目(20170204021NY)；吉林大学中央高校基本科研业务费专项；吉林大学高层次科技创新团队项目(2017TD-29)。
作者简介：潘风光(1973—)，男，博士，教授，博士研究生导师，主要从事营养与功能食品研究。E-mail：panfg@jlu.edu.cn
*** 通信作者**：张 婷(1988—)，女，博士，副教授，博士研究生导师，主要从事营养与功能食品研究。E-mail：tingzhang413@hotmail.com

0.003) mg/mL. At a concentration of 0.01 mg/mL, the ORAC value was (7.614±0.138) mg TE/mg, and the IC_{50} value of hydroxyl radical scavenging ability was (0.008±0.001) mg/mL. This study provides an experimental basis for the optimization of production process and the confirmation of functional factor sequence of soybean meal antioxidant peptide, and provides a new idea for the development of soybean meal protein peptide functional products.

Keywords: soybean meal, bioactive peptide, antioxidant, sequence identification

豆粕，是豆油加工的主要副产物，含有丰富的蛋白质，且80%以上为水溶性蛋白质[1]。然而在国内通常用于饲料加工，少部分用于发酵食品加工[2-3]，造成了极大的蛋白质资源浪费。研究表明，将豆粕进行酶解，可制备出具有良好生物活性的功能肽[4]，包括抗氧化肽[5-6]、血管紧张素转化酶(ACE)抑制肽[7-8]、金属螯合肽[9-10]等，并且随着自由基理论的提出，天然抗氧化剂的需求量与日俱增[11]。因此，利用豆粕制备抗氧化肽，不仅能减少资源浪费，还能提高豆粕的附加值，在食品工业中具有广阔的应用前景。

目前国内外对于抗氧化肽的研究，仅局限于制备和活性检测，以及肽序列的鉴定及表征[12-14]层面。HE Shudong 等[15]使用胰蛋白酶水解假鲍鱼制备抗氧化肽，并鉴定得到八肽序列 DTETGVPT；WANG Xueqin 等[16]经过分离纯化太平洋鲱鱼抗氧化肽，鉴定出 LHDELT 和 KEEKFE 2 条六肽序列；SHENG Jianyong 等[17]从脱脂核桃中鉴定得到序列为 DWMH 的抗氧化肽。多肽结构与其抗氧化活性之间有着密切关系，因此鉴定抗氧化肽的序列结构是揭示构效关系的基础，也是后续定向大规模生产应用的前提。

本研究中以大豆粕为原料，采用超声辅助酶解法制备抗氧化肽并优化制备工艺，利用超滤进行分离纯化获得相对分子质量<1 000 组分，应用 LC-MS/MS 确证高活性组分中肽序列，最后合成上述肽序列进行活性表征。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

豆粕：市售；碱性蛋白酶：长春市天佳生物技术有限公司产品；氢氧化钠、盐酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠：北京化工厂制造；过硫酸钾：天津市华东试剂厂制造；ABTS、Trolox、AAPH、荧光素钠：美国 Sigma-Aldrich 公司产品；甲酸、乙腈：美国 Fisher Scientific 公司产品；羟自由基测定试剂盒：南京建成有限公司产品。

1.2 仪器与设备

Starter2C pH 计：奥豪斯仪器(上海)有限公司产品；SynergyHT 酶标仪：BioTek 公司产品；CR20B2 高速冷冻离心机：日立有限公司产品；XX8200230 小型切向流超滤系统：Millipore 有限公司产品；FD-1C-50 冻干机：北京博医康实验仪器有限公司产品；Orbitrap Elite 高场静电场轨道离子肼质谱仪：美国 Thermo Scientific 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 豆粕酶解工艺 将豆粕进行粉碎并经 60 目筛子筛分，得到豆粕粉用于后续实验：

豆粕粉+蒸馏水→超声处理→90 ℃变性 10 min→酶解（保持温度及 pH 波动范围在±0.1）→90 ℃灭酶 10 min→4 ℃、4 000 r/min 离心 20 min→取上清液。

1.3.2 豆粕抗氧化肽制备单因素实验 按照上述步骤，分别考察酶解条件及超声条件对制备豆粕抗氧化肽的活性影响，以 ABTS 自由基清除率为评价指标，如表 1 所示。在各单因素条件下，其他因素条件均选择中间条件，若条件已得到优化，则选择最优条件。

1.3.3 豆粕抗氧化肽制备响应面实验 根据单因素实验结果，选取温度、加酶量、超声功率和超声时间进行 Box-Behnken Design(见表 2)。

1.3.4 豆粕抗氧化肽的鉴定 通过超滤处理获得相对分子质量<1 000 的组分进行 LC-MS/MS 鉴定。色谱条件：使用 C_{18} 色谱柱(100 μm×2 cm，4 μm)；流动相：A 相为 0.1%(体积分数) 甲酸水，B 相为含 0.1%(体积分数)甲酸的乙腈溶液；梯度洗脱：0~60 min，5%~35%B；60~64 min，35%~75%B；64~74 min 75%B；流量为 300 nL/min。质谱条件：纳米 ESI 源；采用数据依赖性采集模式，先在FT 模式下以 60 000

表 1 单因素设计因素水平表

Table 1 Factors and levels of single factor design

编号	酶解 pH	底物质量分数/%	加酶量/(U/g)	酶解温度/℃	酶解时间/h	超声功率/W	超声时间/min
1	6.0	1	1 000	30	0.5	0	1
2	7.0	3	3 000	40	1.0	150	3
3	8.0	5	5 000	50	1.5	300	5
4	9.0	7	7 000	60	2.0	450	7
5	10.0	9	9 000	70	2.5	600	9
6	11.0	11	11 000	80	3.0	750	11
7			13 000		4.0	900	13
8					5.0		15
9					6.0		30

注:单因素考察顺序为酶解 pH、底物质量分数、加酶量、酶解温度、酶解时间、超声功率、超声时间。

表 2 响应面设计因素水平表

Table 2 Factors and levels of response surface design

水平	酶解温度/℃	加酶量/(U/g)	超声功率/W	超声时间/min
1	30	5 000	300	9
2	40	7 000	450	11
3	50	9 000	600	13

的分辨率进行全 MS 扫描,然后对初始MS 扫描中的 15 种最丰富离子进行 CID MS/MS 扫描。

1.3.5 豆粕源抗氧化肽的合成 委托生工生物工程股份有限公司进行合成,纯度达 98%。

1.3.6 体外抗氧化活性测定

1)ABTS 自由基清除能力 参照 Heeger 等[18]的实验方法稍做改动。实验分组:空白组(200 μL PBS),对照组(180 μL ABTS 工作液+20 μL PBS),实验组(180 μL ABTS 工作液+20 μL 样品)。实验结果以 ABTS 自由基清除率表示,计算公式如下:

$$\text{ABTS 自由基清除率}=\frac{A_c-A_s}{A_c-A_b}\times 100\% \quad (1)$$

式(1)中:A_c 为对照组吸光度,A_s 为实验组吸光度,A_b 为空白组吸光度。

2)氧自由基吸收能力 参照 ZHENG Li 等[19]的实验方法并略做改动。实验分组:空白组(120 μL 荧光素钠+20 μL PBS+60 μL AAPH),对照组(120 μL 荧光素钠+20 μL Trolox+60 μL AAPH),实验组(120 μL 荧光素钠+20 μL 样品+60 μL AAPH)。相邻 2 个测定点的时间间隔为 2 min,每次读数前振板 10 s,连续测定 10 h。实验结果以 ORAC 值(mg TE/mg)表示,计算公式如下:

$$\text{ORAC 值}=\frac{\text{netAUC}_{\text{sample}}}{\text{netAUC}_{\text{Trolox}}}\times\frac{M_{\text{Trolox}}}{M_{\text{sample}}} \quad (2)$$

式(2)中:netAUC 为对应样品保护面积,M 为对应样品质量浓度,mg/mL。

$$\text{netAUC}=\text{AUC}_{\text{sample}}-\text{AUC}_{\text{blace}} \quad (3)$$

式(3)中:AUC 为对应样品的荧光衰退曲线面积。

$$\text{AUC}=1+\sum_{i=1}^{i=300}\frac{f_i}{f_0} \quad (4)$$

式(4)中:f_0 为初始 0 min 时的荧光强度,f_i 为第 i 个测定点的荧光强度。

3)羟自由基清除能力 按照试剂盒说明书进行操作,实验结果用羟自由基清除率表示,计算公式如下:

$$\text{羟自由基清除率}=\frac{A_c-A_s}{A_c-A_b}\times 100\% \quad (5)$$

式(5)中:A_c 为对照组吸光度;A_s 为实验组吸光度;A_b 为空白组吸光度。

1.4 数据分析

数据组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),结果以 $P<0.05$ 为显著性差异判断标准。

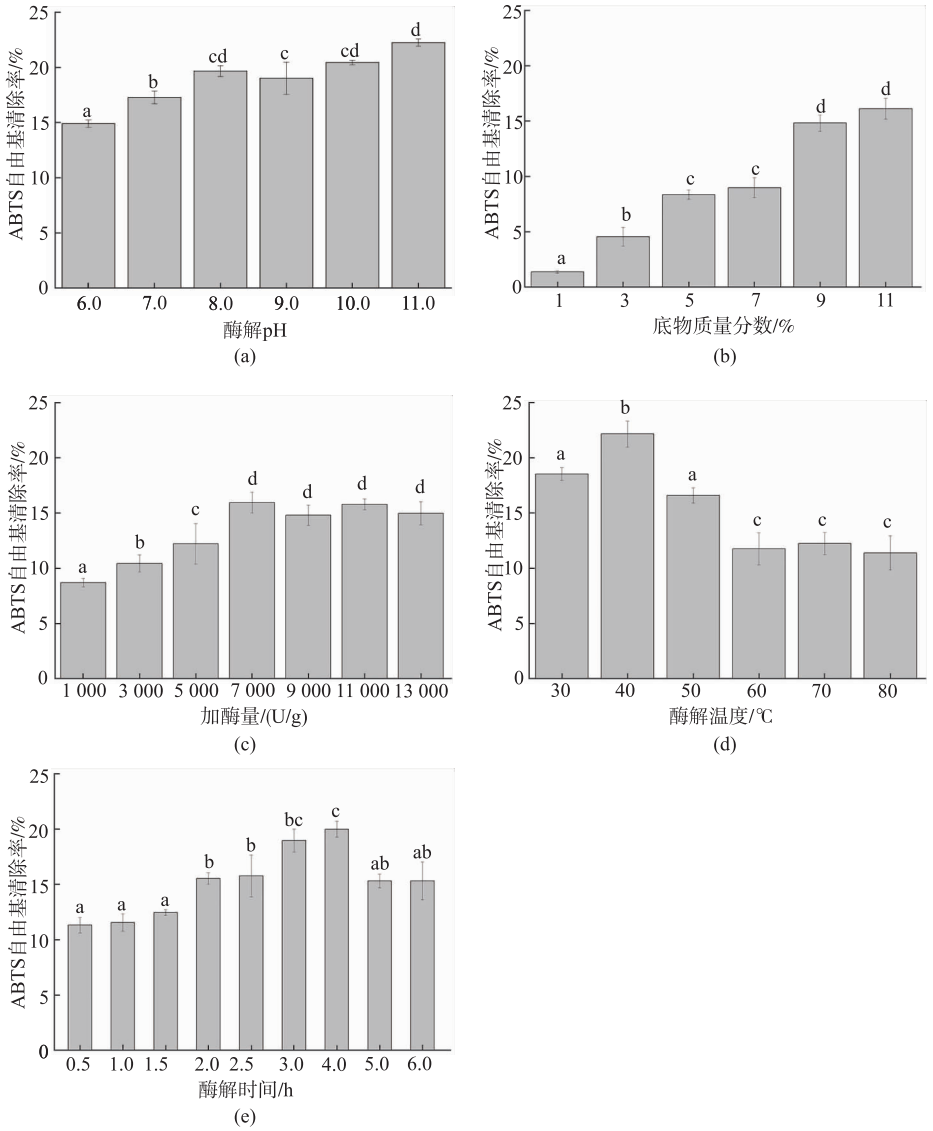
2 结果与分析

2.1 豆粕抗氧化肽的单因素实验

酶解条件主要通过改变酶活性[20-21]来影响酶解反应,从而导致酶解产物的抗氧化能力不同。由图 1(a)可知,随着 pH 增大,清除率逐渐增大,在 pH 为 11.0 时达到最大值,但通过显著性分析,在 pH 为 8.0~11.0 时,清除能力并没有太大差异,因此选择 8.0 为最优 pH,此条件更接近中性,不仅能降低成本还能减少后续处理工作量。随着底物质量分数增加,清除率亦呈现出不断增大的趋势,当底物质量分数超过 9%后,底物过量,酶解速率已达到最大,此时产物生成速率相对稳定,产物抗氧化活性也趋

于稳定。加酶量的趋势变化与底物质量分数一致，当加酶量为7 000 U/g时达到峰值，此后继续增大酶量，底物不足，酶解体系达到平衡，酶解产物较为稳定，因此抗氧化能力也达到稳定。而随着温度升高，清除率先增大后减小，在40 ℃时清除率最大，之后继续升温，酶结构被破坏，酶活性降低[22]，导致产物生产速率减小，抗氧化能力减弱。酶解时间与酶解温度的变化趋势相似，刚开始反应时间过短，具有抗氧化活性的氨基酸残基没有被充分暴露出来[23]，随着时间的延长，酶解产物逐渐增多，抗氧化能力增大。4 h后，清除率出现减小，推测可能是反应时间过长，产物之间发生聚集效应[24]，导致活性位点被掩盖，抗氧化能力减弱。

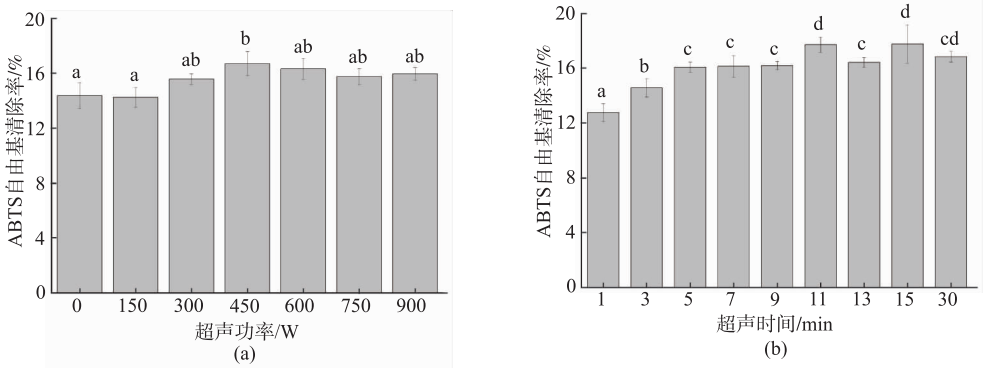
适当的超声处理，对于豆粕蛋白质溶出具有促进作用，并且可改变豆粕蛋白质的空间结构，使得豆粕蛋白质与酶更容易结合[25]。但底物毕竟有限，当超声时间和功率达到一定范围后，再延长时间及增大功率并不能溶出更多的豆粕蛋白质，还可能破坏豆粕蛋白质的分子构象，导致酶解产物的抗氧化能力降低(见图2)。可见，只有适宜的超声处理才有利于酶解反应的进行[26]，并使得豆粕肽表现出良好的抗氧化能力。



样品初始质量浓度范围为0.1~0.2 mg/mL。

图1　酶解条件对抗氧化能力的影响

Fig. 1　Effect of enzymatic hydrolysis conditions on antioxidant capacity



样品初始质量浓度范围为 0.1~0.2 mg/mL。

图 2　超声条件对抗氧化能力的影响

Fig. 2　Effect of ultrasonic conditions on antioxidation resistance

2.2　豆粕抗氧化肽的响应面实验

根据单因素实验结果,选取温度(A)、加酶量(B)、超声功率(C)和超声时间(D)4 个因素为自变量,以 ABTS 自由基清除率为响应值(Y),进行 Box-Behnken Design,所得结果如表 3、图 3 所示。其他未考察单因素均为单因素优化得到的最优条件。

如表 3 所示,模型具有极显著性(P<0.01),因变量与自变量之间的线性关系显著 (R^2=0.966 5),并且失拟项(P>0.05)差异不显著,说明该模型拟合程度良好,所得到的回归方程可信度较高。回归方程:Y =−172.487 02 + 0.026 556C −1.871 66×10^{-3}AC − 0.451 87AD−0.010 954A^2−6.406 53B^2−1.167 9×10^{-4}C^2−0.864 79D^2+2.480 67×10^{-6}AC^2+0.017 045AD^2 − 6.795 94×10^{-4}CD^2。

通过模型预测得到最佳工艺条件为:温度 50 ℃,加酶量 6 665.39 U/g,超声功率 300 W,超声时间 9 min,此时模型指标值为 16.01%。为检验响应面法的可行性,采用所得最佳工艺条件进行验证实验,得到 ABTS 自由基清除率为(15.70±0.06)%,实际值与预测值的误差小于 1%,因此利用响应面法对豆

表 3　回归模型方差分析及回归方程系数显著性检验

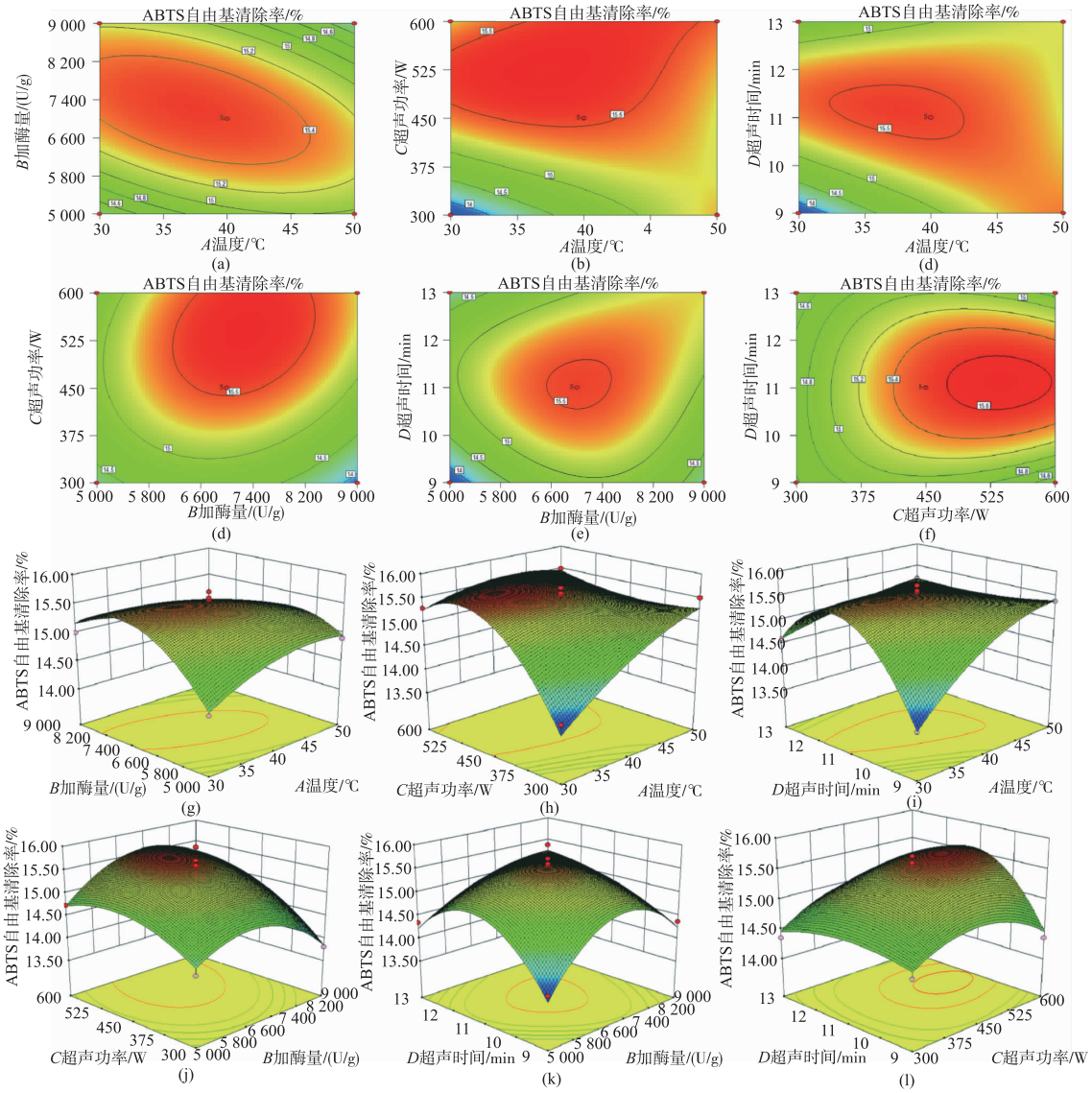
Table 3　Significance test for variance analysis and coefficient constants of regression models

方差来源	平方和	自由度	均方	F	Prob> F	显著性
模型	11.21	20	0.56	11.55	0.000 7	**
A(温度)	0.035	1	0.035	0.72	0.420 1	
B(加酶量)	1.10×10^{-3}	1	1.095×10^{-3}	0.023	0.884 3	
C(超声功率)	1.58	1	1.58	32.59	0.000 4	
D(超声时间)	5.41×10^{-3}	1	5.407×10^{-3}	0.11	0.747 1	**
AB	0.56	1	0.56	11.56	0.009 4	**
AC	0.53	1	0.53	10.95	0.010 7	*
AD	0.32	1	0.32	6.5	0.034 2	*
BC	0.24	1	0.24	4.91	0.057 6	
BD	0.049	1	0.049	1	0.345 9	
CD	0.033	1	0.033	0.67	0.436 2	
A^2	0.35	1	0.35	7.16	0.028 1	*
B^2	2.45	1	2.45	50.43	0.000 1	**
C^2	1.01	1	1.01	20.88	0.001 8	**
D^2	2.19	1	2.19	45.09	0.000 2	**
A^2D	0.049	1	0.049	1.02	0.342 6	

续表 3

方差来源	平方和	自由度	均方	F	Prob> F	显著性
AC^2	0.62	1	0.62	12.85	0.007 1	**
AD^2	0.93	1	0.93	19.17	0.002 4	**
B^2D	0.25	1	0.25	5.18	0.052 5	
BD^2	0.41	1	0.41	8.48	0.019 5	*
CD^2	0.44	1	0.44	9.14	0.016 5	*
残差	0.39	8	0.049			
失拟误差	0.32	4	0.08	4.56	0.085 5	
净误差	0.07	4	0.017			
总和	11.59	28				

注:* 表示差异显著(P<0.05),** 表示差异极显著(P<0.01)。



样品初始质量浓度范围为 0.1~0.2 mg/mL。

图 3　各因子交互作用的曲面图和等高线图

Fig. 3　Surface map and contour maps for each factor interaction

粕抗氧化肽的制备条件优化是可行的,得到的工艺参数具有实际应用价值。通过与前人研究[27]相比,本实验中所得的 pH 和温度更低、加酶量更少、超声时间更短,在实际应用中,能有效降低生产成本。

2.3 豆粕抗氧化肽的鉴定

大量的研究结果表明[28-30],当相对分子质量较大时,部分活性基团仍存在于大分子聚集体的内部,导致抗氧化能力降低[31],因此本实验直接超滤得到相对分子质量<1 000 的组分进行 LC-MS/MS 鉴定。结合软件分析及蛋白质数据库(UniProt),确定出氨基酸序列为 Ile-Trp-Asn-Leu-Asn(IWNLN),位于大豆蛋白质(B2ZF64-1)的 639~643 残基位置,其相对分子质量为 658.75,等电点是 6.06,平均亲水性-1.3,疏水性较强。如图 4(a)所示,通过 CID 碰撞断裂所产生的 b_n 与 y_n 离子系列,除 b_1、y_1 离子外,其他离子均成功匹配,匹配度较高。

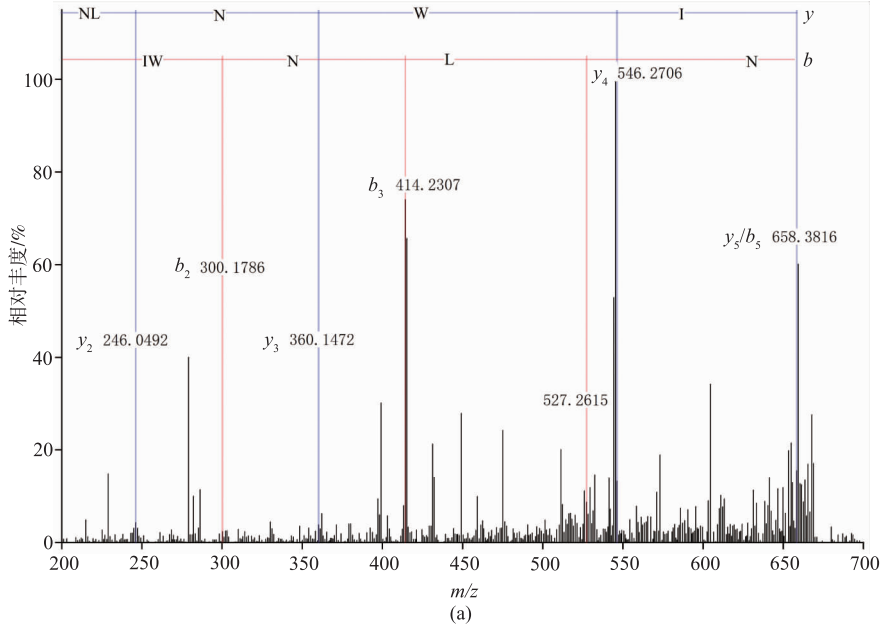


图 4 IWNLN 的二级质谱图和结构式

Fig. 4 MS/MS and structure formula of IWNLN

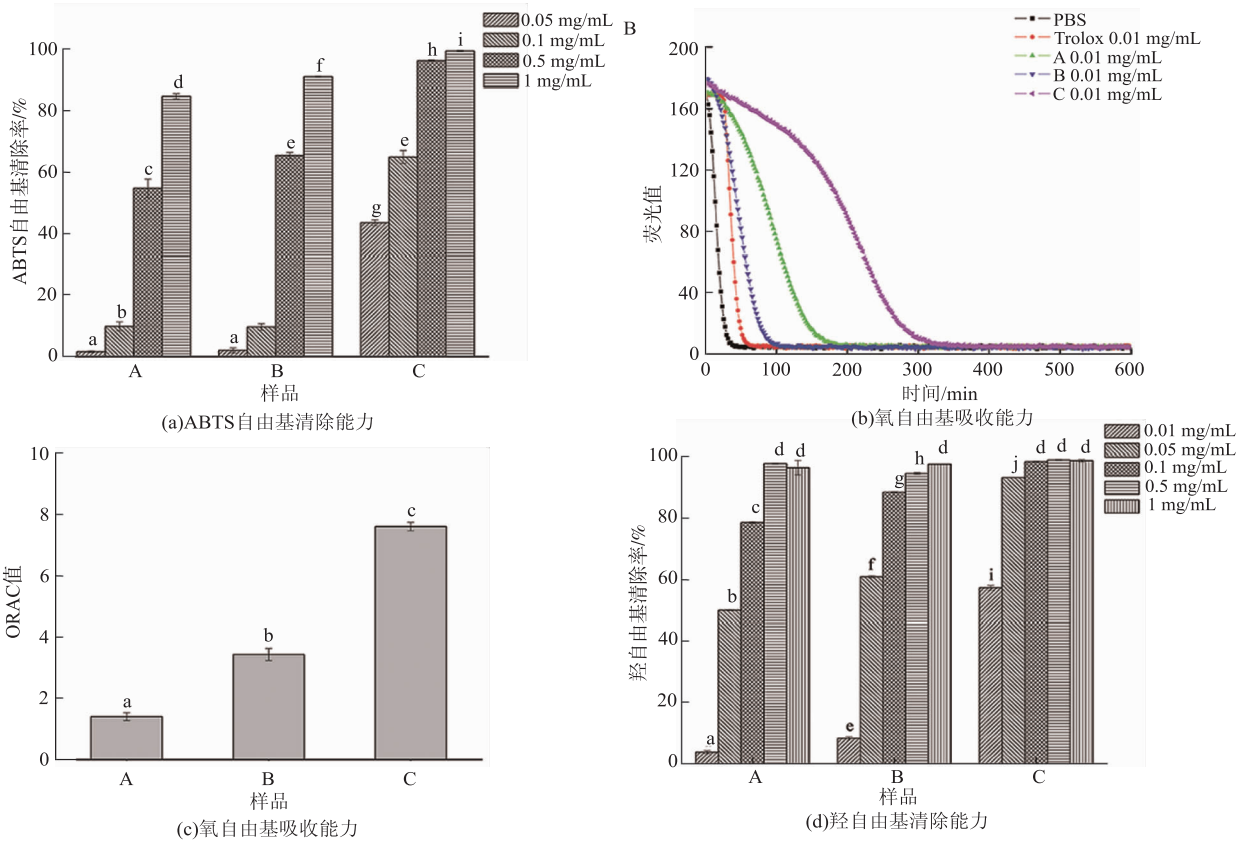
2.4 豆粕抗氧化肽的活性表征

由图 5(a)可知,3 种样品对 ABTS 自由基清除能力均呈现出质量浓度依赖性,通过计算,IWNLN 的 IC_{50} 为(0.060±0.003) mg/mL,豆粕抗氧化肽粗提液与豆粕抗氧化肽(相对分子质量<1 000)的 IC_{50} 分别为(0.412±0.022) mg/mL 和 (0.338±0.005) mg/mL。IWNLN 之所以具有较强的 ABTS 自由基清除能力,是因为 IWNLN 上具有疏水性氨基酸 Ile 和 Trp,当存在于非极性的 N 端时可增强抗氧化活性[32-33],且 Trp 的侧链上含有吲哚基,具有供氢能力,可减缓或终止自由基的链式反应[34]。

图 5(b)和图 5(c)为氧自由基吸收能力,由图可知,在初始质量浓度同为 0.01 mg/mL 时,3 种样品的抗氧化能力均比 Trolox 强,其中 IWNLN 活性最强,ORAC 值可达(7.614±0.138) mg TE/mg。这是由于 IWNLN 上有芳香族氨基酸 Trp,在 ORAC 反应

中,易失去氢原子而与自由基发生反应,并且 Trp 还与 Asn 相连,可产生共轭效应[35-36],使得氢质子更易释放。

如图 5(d)所示,3 种样品对羟自由基清除能力均呈现出剂量效应,经过计算,3 种样品的 IC_{50} 分别是 (0.051±0.002)、(0.038±0.001) mg/mL 和(0.008±0.001) mg/mL。研究表明,芳香族氨基酸和疏水性氨基酸因其特殊的结构,具有非常强的自由基清除能力[37],而五肽 IWNLN 上不仅具有芳香族氨基酸 Trp,还具有疏水性氨基酸 Ile 和 Leu,占整个肽序列的 3/5,因此 IWNLN 具有较强的羟自由基清除能力。



(a)ABTS自由基清除能力 (b)氧自由基吸收能力 (c)氧自由基吸收能力 (d)羟自由基清除能力

(a)(c)(d)中 A 为豆粕抗氧化肽粗提液,B为相对分子质量<1 000 的豆粕抗氧化肽,C 为豆粕源抗氧化肽 IWNLN。

图 5 豆粕抗氧化肽的抗氧化活性

Fig. 5 Antioxidant activity of soybean meal antioxidant peptides

3 结 语

以 ABTS 自由基清除率为主要评价指标,通过单因素和响应面实验确定了采用超声辅助酶解法制备大豆抗氧化肽的最优工艺参数为:酶解pH 8.0、底物质量分数 9%、加酶量 6 665.39 U/g、酶解温度 50 ℃、酶解时间 4.0 h、超声时间 9 min、超声功率 300 W。经过超滤处理,获得相对分子质量<1 000 的组分进行 LC-MS/MS 鉴定,获得豆粕源抗氧化肽 Ile-Trp-Asn-Leu-Asn(IWNLN),其 ABTS 自由基清除能力的 IC_{50} 值为 (0.060±0.003) mg/mL,ORAC 值为(7.614±0.138) mg TE/mg,羟自由基清除能力的 IC_{50} 值为(0.008±0.001) mg/mL。研究表明,豆粕源肽 IWNLN 具有明确的结构和良好的抗氧化活性,可作为抗氧化功能因子为豆粕抗氧化肽功能食品开发提供新的思路。

参考文献:

[1] 许腾,卢聪,范海茹,等. 酶解法制备豆粕水解肽工艺优化[J]. 核农学报,2019,33(9):1783-1788.

[2] 秦健，许皎姣，童惠英，等. 食用级豆粕的加工新技术及其应用[J]. 粮食与食品工业，2016，23(3)：29-31.
[3] 张成，韩坤坤，罗世龙，等. 发酵豆粕的应用研究进展[J]. 粮食与饲料工业，2018(12)：42-45.
[4] CHATTERJEE C，GLEDDIE S，XIAO C W. Soybean bioactive peptides and their functional properties[J]. **Nutrients**，2018，10(9)：1211.
[5] 马福建，高长城，解迪，等. 大豆 11S 球蛋白水解肽的制备及抗氧化研究[J]. 食品研究与开发，2019，40(11)：89-93.
[6] WANG Y T，WANG Z J，HANDA C L，et al. Effects of ultrasound pre-treatment on the structure of β-conglycinin and glycinin and the antioxidant activity of their hydrolysates[J]. **Food Chemistry**，2017，218：165-172.
[7] 吴长平. 大豆 ACE 抑制肽的选择性制备及其作用机理研究[D]. 广州：华南理工大学，2019.
[8] RUDOLOH S，LUNOW D，KAISER S，et al. Identification and quantification of ACE-inhibiting peptides in enzymatic hydrolysates of plant proteins[J]. **Food Chemistry**，2017，224：19-25.
[9] 王俊强. 大豆肽钙螯合物的结合机理及其性质研究[D]. 无锡：江南大学，2019.
[10] YE Q W，WU X P，ZHANG X Y，et al. Organic selenium derived from chelation of soybean peptide-selenium and its functional properties *in vitro* and *in vivo*[J]. **Food & Function**，2019，10(8)：4761-4770.
[11] 郑萍. 天然抗氧化剂的应用与发展[J]. 科技展望，2016，26(1)：123-124.
[12] ZOU T B，HE T P，LI H B，et al. The structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins[J]. **Molecules**，2016，21(1)：72-85.
[13] EERIQUE M R，CARMEN L D T S. Antioxidant peptides from terrestrial and aquatic plants against cancer[J]. **Current Protein & Peptide Science**，2018，19(4)：368-379.
[14] 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)：1462-1468.
[15] HE S D，ZHANG Y，SUN H J，et al. Antioxidative peptides from proteolytic hydrolysates of false abalone(*Volutharpa ampullacea perryi*)：characterization，identification，and molecular docking[J]. **Marine Drugs**，2019，17(2)：116-136.
[16] WANG X Q，YU H H，XING R G，et al. Preparation and identification of antioxidative peptides from pacific herring(*Clupea pallasii*) protein[J]. **Molecules**，2019，24：1946-1962.
[17] SHENG J Y，YANG X Y，CHEN J T，et al. Antioxidative effects and mechanism study of bioactive peptides from defatted walnut (*Juglans regia* L.) meal hydrolysate[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**，2019，67(12)：3305-3312.
[18] HEEGER A，AGNIESZKA K C，CANTERGIANI E，et al. Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of cascara beverage[J]. **Food Chemistry**，2017，221：969-975.
[19] ZHENG L，SU G W，REN J Y，et al. Isolation and characterization of an oxygen radical absorbance activity peptide from sefatted peanut meal hydrolysate and its antioxidant properties[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**，2012，60(21)：5431-5437.
[20] 孙敏，李诚，刘爱平，等. 乳清蛋白抗氧化肽的制备及体外抗氧化活性研究[J]. 中国油脂，2019，44(8)：22-27.
[21] 刘媛，王健，闫凤岐，等. 双酶分步酶解制备杏仁蛋白酶解物的工艺[J]. 食品工业，2019，40(8)：142-145.
[22] 宁晁.影响酶活性的因素综述[J]. 科技经济导刊，2018，26(31)：125-127.
[23] 任海伟，石菊芬，蔡亚玲，等. 响应面法优化超声辅助酶解制备藏系羊胎盘肽工艺及抗氧化能力分析[J]. 食品科学，2019，40(24)：265-273.
[24] 黄帆，曲敖廷，王建祖，等. 蛋白质折叠调控策略的研究进展[J]. 高分子通报，2015(9)：71-86.
[25] BARTON S，BULIOCK C，WEIR D. The effects of ultrasound on the activities of some glycosidase enzymes of industrial importance[J]. **Enzyme and Microbial Technology**，1996，18(3)：190-194.
[26] 蓝尉冰，韩鑫，陈冠余，等. 超声波预处理协同酶提取近江牡蛎活性肽研究[J]. 食品研究与开发，2018，39(8)：48-52.
[27] 于冬蕾，李婷婷，吴海波，等. 超声辅助酶解高温豆粕制备抗氧化产物[J]. 食品科学，2018，39(20)：268-277.
[28] JANG H L，LICEAGA A M，YOON K Y. Purification，characterisation and stability of an antioxidant peptide derived from sandfish(*Arctoscopus japonicus*) protein hydrolysates[J]. **Journal of Functional Foods**，2016，20：433-442.
[29] TIAN L，LIU J H，MA L，et al. Isolation and purification of antioxidant and ACE - inhibitory peptides from yak (*Bos grunniens*) skin[J]. **Journal of Food Processing and Preservation**，2017，41(5)：1-11
[30] IRSHAD I，KANEKANIAN A，PETERS A，et al. Antioxidant activity of bioactive peptides derived from bovine casein hydrolysate

fractions[J]. **Journal of Food Science & Technology**,2015,52(1):231-239.

[31] HWANG C F,CHENG Y A,LUO C,et al. Antioxidant and antibacterial activities of peptide fractions from flaxseed protein hydrolysed by protease from *Bacillus altitudinis* HK02[J]. **International Journal of Food Science & Technology**,2016,51(3):681-689.

[32] KETNAWA S,WICKRAMATHILAKA M,LICEAGA A M. Changes on antioxidant activity of microwave-treated protein hydrolysates after simulated gastrointestinal digestion:purification and identification[J]. **Food Chemistry**,2018,254:36-46.

[33] CHI C F,WANG B,HU F Y,et al. Purification and identification of three novel antioxidant peptides from protein hydrolysate of bluefin leatherjacket(*Navodon septentrionalis*) skin[J]. **Food Research International**,2015,73:124-129.

[34] NWACHUKWU I D,ALUKO R E. Structural and functional properties of food protein-derived antioxidant peptides[J]. **Journal of Food Biochemistry**,2019,43(1):1-13

[35] GIRGIH A T,HE R,MALOMO S,et al. Structural and functional characterization of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein-derived antioxidant and antihypertensive peptides[J]. **Journal of Functional Foods**,2014,6:384-394.

[36] LIU J B,CHENG Z F,HE J,et al. Anti-oxidative and anti-apoptosis effects of egg white peptide,Trp-Asn-Trp-Ala-Asp,against H_2O_2-induced oxidative stress in human embryonic kidney 293 cells[J]. **Food & Function**,2014,5(12):3179-3188.

[37] 王丽英. 玉米抗氧化肽活性氧清除作用与抗氧化基因表达调节作用研究[D]. 长春:吉林大学,2018.

科　技　信　息

中国检验检疫科学研究院研制系列新型磁性材料应用于食用油脂改性

近日,中国检验检疫科学研究院张峰首席专家团队在磁性材料研制上取得新进展,在单酶固定化技术的基础上,结合多巴胺自聚合特性及磁性固定化材料优势制备共固定化双酶(CRL/TLL-PDA@Fe_3O_4)用于食用油脂改性,所制备的磁性共固定化双酶,克服了游离酶易失活、热稳定性差、不易回收利用的缺陷,且磁性固定化双酶系统又具有多酶的协同作用,有效提高催化效率。

固定化酶技术已成为生物催化领域的核心技术,被广泛应用于油脂改性领域。在大多数方法中,用于功能性油脂制备的生物催化剂通常使用单一脂肪酶作为生物催化剂。然而,对于更复杂的功能产物的制备,单一酶已不能满足实际需求,可能需要用多种酶进行一系列酶催化反应,而连续多步操作涉及中间产物纯化步骤,操作复杂耗时长。因此,急需开发一种简单、经济的酶法改性技术。

基于此,张峰研究团队结合纳米技术和生物技术,选择仿生聚多巴胺膜功能化的磁性纳米粒子为固定载体,通过共价键将皱褶假丝酵母脂肪酶(CRL)和疏棉状嗜热丝孢菌脂肪酶(TLL)共固定在聚多巴胺包裹的 Fe_3O_4 上制备共固定化双酶(CRL/TLL-PDA@Fe_3O_4)。以中国普遍食用的植物油(大豆油、菜籽油和花生油)为原料,基于所制备的固定化双酶开发了一种新颖的"一锅法"制备富含多功能成分的功能性油脂技术,并考察最佳反应工艺条件,系统研究酶用量、反应温度、反应体系、底物比例等酶法改性参数对脂质组成的影响。并对比分析采用共固定化双酶"一锅法"制备和采用单酶"两步法"制备的功能性油脂。研究表明,与采用单酶的两步反应比较,双脂肪酶系统反应表现出比连续两步反应更好的协同效应,具有更好的催化效果,且磁性固定化双酶可重复利用。因此,基于磁性固定化双酶制备的产品成本较低,操作简便,在工业上有良好的应用前景。

[信息来源] 中国检验检疫科学研究院. 我院研制系列新型磁性材料并应用于农药残留检测和食用油脂改性[EB/OL]. (2020-12-9). http://www.caiq.org.cn/hzdt/906588.shtml