

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2023.02.021

蒋丽娜, 张秀清, 裴海生, 等. 食源性高 F 值寡肽的制备及护肝功效研究进展[J]. 粮油食品科技, 2023, 31(2): 163-171.

JIANG L N, ZHANG X Q, PEI H S, et al. Research progress on preparation and hepatoprotective effect of food-derived high fischer ratio oligopeptides[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2023, 31(2): 163-171.

食源性高 F 值寡肽的制备及 护肝功效研究进展

蒋丽娜^{1,2}, 张秀清², 裴海生¹, 李媛媛¹, 梁亮¹, 翟晓娜¹✉(1. 农业农村部规划设计研究院, 农业农村部农产品产地初加工重点实验室, 北京 100125;
2. 中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 高 F 值寡肽广泛存在于自然界动植物中, 是一种来源丰富、天然环保、无副作用的优质肽源, 具有抗疲劳、抗氧化、醒酒、辅助治疗肝病及苯丙酮尿症等多种生物活性。高 F 值寡肽因其支链氨基酸含量较高, 能够逆转肝病患者体内支链氨基酸与芳香族氨基酸比例失衡现象, 在辅助治疗慢性肝病及其多种并发症方面起到了重要作用。主要对食源性高 F 值寡肽的蛋白原料、制备与分离纯化方法、护肝功效及相关作用机制进行了综述, 重点介绍植物蛋白、动物蛋白中的水产品蛋白和乳源性蛋白几种原料蛋白, 酶解法和微生物发酵法两种高 F 值寡肽的制备方法, 膜分离法、活性炭吸附法和色谱分离法几种分离纯化方法, 以及高 F 值寡肽的护肝功效和发挥护肝功效的三种途径, 旨在为提高食源性高 F 值寡肽开发及其在食品医药领域中的应用提供参考。

关键词: 高 F 值寡肽; 支链氨基酸; 制备方法; 分离纯化; 慢性肝病

中图分类号: TS201.4 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2023)02-0163-09

Research Progress on Preparation and Hepatoprotective Effect of Food-derived High Fischer Ratio Oligopeptides

JIANG Li-na^{1,2}, ZHANG Xiu-qin², PEI Hai-sheng¹, LI Yuan-yuan¹, LIANG Liang¹, ZHAI Xiao-na¹✉(1. Key Laboratory of Agro-Products Primary Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Academy of Agricultural Planning and Engineering, MARA, Beijing 100125, China;
2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: As a high-quality peptide source with rich sources, natural environmental protection and none side effects, high Fischer ratio oligopeptides widely exist in natural animals and plants. High Fischer ratio oligopeptides have a variety of biological activities, such as anti-fatigue, anti-oxidation, sobering up, adjuvant treatment of liver disease and phenylketonuria. Because of its high content of branched chain amino acids, high Fischer ratio oligopeptides can improve the imbalance between branched chain amino acids and

收稿日期: 2022-09-21

基金项目: 鲁渝科技协作计划项目 (cstc2021jsex-lyggX0003)

Supported by: Lu-yu Science and Technology Cooperation Project (No. cstc2021jsex-lyggX0003)

作者简介: 蒋丽娜, 女, 1998 年出生, 在读硕士生, 研究方向为功能因子开发与利用。E-mail: jianglina98@163.com.

通讯作者: 翟晓娜, 女, 1989 年出生, 博士, 研究方向为功能因子的挖掘及其稳态化。E-mail: zhaixiaona907@163.com.

aromatic amino acids in patients with liver disease, and play an important role in the adjuvant treatment of chronic liver disease and its complications. This paper mainly reviews the raw materials, preparation, separation and purification methods, liver protection efficacy and action mechanism of food-derived high Fischer ratio oligopeptides, focusing on the introduction of several raw material proteins including plant protein, aquatic product protein and milk derived protein in animal protein, two preparation methods including enzymatic hydrolysis and microbial fermentation, several separation and purification methods including membrane separation, activated carbon adsorption and chromatographic separation, and the liver protection effect of high Fischer ratio oligopeptides and three ways to play the role of liver protection. This review is trying to provide a theoretical reference for the future development and application of food-derived high Fischer ratio oligopeptides in the field of food and medicine.

Key words: high Fischer ratio oligopeptides; branched chain amino acids; preparation method; separation and purification; chronic liver disease

高 F 值寡肽是指支链氨基酸（包括亮氨酸（Leu）、异亮氨酸（Ile）和缬氨酸（Val），简称 BCAA）与芳香族氨基酸（包括酪氨酸（Tyr）、苯丙氨酸（Phe）和色氨酸（Trp），简称 AAA）物质的量比值 F 大于 20 的混合寡肽体系，其中寡肽是指由 2~9 个氨基酸组成的蛋白质前体物或水解物^[1]。高 F 值寡肽因其高支链氨基酸含量和 200~1 000 Da 低分子量而具有多种生物活性功能，如辅助治疗慢性肝病^[2]、缓解疲劳^[3]和抑制肥胖^[4]等。慢性肝病作为全球发病率和死亡率的主要原因之一，据估计全世界约有 15 亿人患有慢性肝病，其中我国慢性肝病的患者人数超过 4.47 亿。慢性肝病是一种全身性疾病，不仅具有肝脏相关并发症的表现，还会引起心血管、免疫介导和代谢相关的疾病，因此挖掘食源性护肝保肝成分对于慢性肝病的预防与康复具有重大的意义。高 F 值寡肽能够纠正慢性肝病患者体内 F 值过低的病态模式，并且不会给肝脏产生额外的代谢负担，是一种具有开发前景的功能活性肽。本文拟从食源性高 F 值寡肽的制备原料、制备与分离纯化方法以及护肝功效等方面入手进行综述，并对其研究发展方向进行展望，旨在为食源性高 F 值寡肽的研究与开发提供参考。

1 制备原料

高 F 值寡肽的制备原料十分广泛，主要包括植物蛋白、水产品蛋白和乳源性蛋白等，优选

BCAA/AAA 大的原料是制备高 F 值寡肽的关键环节。

1.1 植物蛋白

玉米蛋白因其易获得性及特殊的氨基酸组成（BCAA 含量较高，AAA 含量较低）成为目前制备高 F 值寡肽最普遍的植物蛋白原料，如王鑫等^[5]通过酶解法制备得到了 F 值为 26.29 的玉米蛋白高 F 值活性肽；Yang 等^[6]以玉米黄粉为原料，采用二步酶解法得到的寡肽 F 值高达 28.30。此外，籽粕、糟糠、下脚料和废渣等农产品加工产物也是开发高 F 值寡肽的重要来源。如常桂英等^[7]以食药菌榆耳为原料开发出了一种 F 值为 22.67 的功能型低聚肽；童波等^[8]以紫苏粕为原料通过酶解法制备出了 F 值高达 79.25 的紫苏低聚肽；刘玲等^[9]利用高蛋白含量的啤酒糟获得了 F 值为 21.02、分子质量为 794.24 Da 的高 F 值寡肽，实现了副产物麦糟的高值化利用。

1.2 动物蛋白

1.2.1 水产品蛋白

水产品其氨基酸种类齐全、必需氨基酸组成均衡，是一种优质的氨基酸资源，以其为原料制备高 F 值寡肽已有相关报道。如刘海梅^[10]等利用活性炭吸附-脱芳技术制备出了栉孔扇贝高 F 值寡肽溶液；丁冬各^[11]以带鱼鱼肉为原料，采用分步水解法制备出了 F 值达 30.72 的寡肽；Lan 等^[12]制备的南极磷虾高 F 值寡肽其平均 F 值和分子量

分别为 21.12、779.9 Da, 且该南极磷虾高 F 值寡肽具有较高的自由基清除活性、还原能力和脂质过氧化抑制能力。此外, 罗非鱼排碎肉、鱿鱼碎肉、金枪鱼碎肉等水产品加工边角料以及微藻蛋白等, 也可用于高 F 值寡肽的制备。

1.2.2 乳源性蛋白

从氨基酸组成来看, 乳源性蛋白是制备高 F 值寡肽的优质原料, 如酪蛋白富含支链氨基酸、乳清蛋白中支链氨基酸含量是芳香族氨基酸的 2.7 倍^[13]。20 世纪 90 年代 Adachi 等^[14]已利用酪蛋白水解得到四个特征肽组, 并通过 HW-40S 凝

胶树脂间歇色谱将其中一肽组中 BCAA 的含量提高了 1.5 倍。秦于思^[15]以羊乳清蛋白为原料, 酶解制备的脱芳液体系中的 F 值为 26.32, 其中支链氨基酸含量为 101.568 ng/mL, 占总氨基酸的 17.88%, 并具有较好的体外抗氧化能力及保肝护肝的生理活性。

综上, 原料蛋白的氨基酸组成直接影响高 F 值寡肽的提取工序的难易程度、得率和 F 值, 优选 BCAA/AAA 大的原料是制备高 F 值寡肽的关键环节。本文针对常见的几种制备高 F 值的原料, 将原料中的 BCAA 和 AAA 含量一一罗列, 如表 1 所示。

表 1 高 F 值寡肽制备原料的 BCAA 与 AAA 含量

Table 1 Contents of BCAA and AAA of several raw materials for preparing high Fischer ratio oligopeptides

原料	BCAA 含量/%			AAA 含量/%			F 值	数据库/参考文献
	Leu	Ile	Val	Tyr	Phe	Trp		
玉米	1.03	0.26	0.40	0.34	0.43	0.08	1.99	中国饲料数据库
大豆	2.72	1.28	1.50	0.64	1.42	0.45	2.19	中国饲料数据库
血粉	8.38	0.75	6.08	2.55	5.23	1.11	1.73	中国饲料数据库
牛乳	0.26	0.15	0.18	0.15	0.15	0.032	1.78	[16]
马氏珠母贝	1.04	0.60	0.64	0.49	0.49	0.14	2.04	[17]

2 高 F 值寡肽的制备与分离纯化

2.1 高 F 值寡肽的制备方法

2.1.1 酶解法

酶解法因其专一高效、反应条件温和、安全性高等特点是国内外制备高 F 值寡肽最常见的方法。根据使用酶种类的不同, 酶解法可分为单一酶水解和复合酶水解, 由于单一酶的作用范围有限, 复合酶水解效率更高。其中, 二步酶解法是一种常见的复合酶分步水解的方法, 它能够提高酶解反应的水解度和酶的利用率。在二步酶解法制备高 F 值寡肽中, 通常首先利用碱性蛋白酶、中性蛋白酶、胰蛋白酶等内肽酶将原料中分子质量大的多肽链肽键切断, 获得分子质量较小的脘和脞等蛋白水解物, 同时充分暴露出芳香族氨基酸残基; 然后可以利用风味蛋白酶、复合蛋白酶及羧肽酶等外肽酶将第一步水解完成后暴露出羧基末端或氨基末端的粗肽链二次水解, 使芳香族氨基酸游离出来以便后续去除。康鹏等^[18]以碱性蛋白酶为内肽酶(加酶量 4 000 U/g、底物浓度

6%、酶解 pH 9.0、温度 45 °C、时间 3 h)、风味蛋白酶为外肽酶(加酶量 6 200 U/g、酶解 pH 6.5、温度 49 °C、时间 2 h), 最终制得 F 值为 21.82 羊乳高 F 值肽。表 2 列举了部分利用二步酶解法获得高 F 值寡肽的情况。

此外, 研究者通常会采用酶解前处理技术或辅助手段来缩短酶解进程、提高水解液中目标肽的含量以及其生物活性。漆倩涯^[19]在制备杏鲍菇高 F 值寡肽实验中发现, 超声破碎辅助酶解可将杏鲍菇浆液的蛋白提取率提高 33.35%, 同时将酶解时间缩短了约 30 min, 碱液的用量也有所下降。李楠^[20]发现低温等离子预处理技术可通过引起玉米醇溶蛋白中部分二硫键、氢键的断裂及二级结构的改变, 增强其亲水性及比表面积, 从而提高蛋白发酵液的水解程度及 F 值。

2.1.2 微生物发酵法

微生物发酵法是利用微生物自身的胞外蛋白酶体系直接作用于原料蛋白质将其降解为小分子肽的过程, 该方法产生的肽片段具有一定随机性, 且菌体本身会分泌肽类物质。近年来, 研究人员

表 2 二步酶解法制备高 F 值寡肽的情况

Table 2 Preparation of high Fischer ratio oligopeptides by two-step enzymatic hydrolysis

原料蛋白	一步酶解	酶解条件 1	二步酶解	酶解条件 2	评价指标	分离纯化	实验结果
玉米黄粉 ^[6]	碱性蛋白酶	酶用量 12.5 kU/g、pH 9、料液比 1 : 35 g/mL、50 °C、时间 3 h	复合风味蛋白酶	酶用量 2.7 kU/mL、pH 7、45 °C、时间 2.5 h	蛋白转化率、F 值	活性炭吸附	蛋白转化率为 85.61%、F 值为 28.30
羊乳乳清 ^[15]	胃蛋白酶	酶用量 1%、pH 2、50 °C、时间 2 h	风味蛋白酶	酶用量 0.5%、pH 7、45 °C、时间 3 h	F 值、DH	活性炭吸附	胃蛋白酶 DH 为 15.74%、风味蛋白酶 DH 为 48.01%、F 值为 26.32
杏鲍菇 ^[19]	碱性蛋白酶	酶用量 4.21%、pH 11.08、51.1 °C	风味蛋白酶	酶用量 4.27%、pH 7.04、温度 50.95 °C	DH	活性炭吸附、UF、GFC	碱性蛋白酶 DH 23.78%、风味蛋白酶 DH 39.67%
酵母 ^[21]	α -胰凝乳酶	酶用量 8 kU/g、pH 8、40 °C、时间 5 h	羧肽酶 A	酶用量 4 U/mL、pH 8、40 °C、时间 4 h	DH、芳香族氨基酸游离率	UF、活性炭吸附	α -胰凝乳酶 DH 39.5%、羧肽酶 A 酶解得游离 Phe 和 Tyr 分别为 89.4%、74.5%

注：超滤 (UF)；凝胶过滤层析 (GFC)；水解度 (DH)

Note: Ultrafiltration (UF); Gel filtration chromatography (GFC); Degree of hydrolysis (DH)

在微生物发酵法制备高 F 值寡肽上也取得一定进展。Chen 等^[22]使用枯草芽孢杆菌发酵芹菜籽蛋白，经过发酵后的芹菜籽蛋白氨基酸总量由原来的 3.844 mg/g 提高到 45.177 mg/g，其中异亮氨酸和缬氨酸等支链氨基酸的含量均有所提高；张振洋^[23]利用一株高产碱性蛋白酶的纳豆芽孢杆菌菌株发酵玉米黄粉可制备出 F 值为 21.8 的寡肽。相比于酶解法，微生物发酵法制备高 F 值寡肽在工艺上具有周期长、条件不易控和分离纯化难等缺点。

2.2 高 F 值寡肽的分离纯化方法

2.2.1 膜分离法

膜分离技术是一种借助外界能量或化学位差 (如压力差、温度差、浓度差)，以选择性透过膜为分离介质，根据被分离物质的分子量、体积、化学性质等差异对两组分或多组分气体或液体进行分离和分级。由于高 F 值寡肽分子量集中在 200~1 000 Da，目前研究常采用超滤和纳滤两种膜分离技术。Li 等^[24]将得到的玉米醇溶蛋白水解液经超滤膜 (5 000 Da) 和纳滤膜 (500 Da) 分离后，从分子量小于 1 000 Da 的肽组分中分离出约占 97.62% 的高 F 值寡肽。Phongthai 等^[25]使用 5 kDa 超滤分子膜处理米糠浓缩蛋白水解物，控制进料速度为 30 mL/min，得到的超滤渗透液中含有大量的以 BCAA 为主的疏水氨基酸。此外，研究人员巧妙联用超滤-电渗析技术完成了对活

性肽的分离，该技术一方面利用超滤膜的孔径差异性，分离不同分子量的组分，另一方面利用电驱动原理，克服压力驱动式超滤膜的膜污染问题，是一项具有前景的电膜分离新技术^[26]。膜分离法虽可快速分离出目标分子量 (<1 000 Da) 的高 F 值寡肽，但无法对寡肽液中的功能肽段进行特征性分离。

2.2.2 活性炭吸附法

活性炭吸附法作为高 F 值寡肽最常见的分离纯化方法之一，也是提高目标肽 F 值最简便高效的方法。高 F 值寡肽的制备核心技术在于降低酶解液中 AAA 的含量同时保留 BCAA。活性炭吸附法的主要作用机制是借助活性炭表面石墨微晶结构与 AAA 苯环结构间的色散力、疏水作用力、氢键以及静电作用力，将 AAA 吸附在活性炭上的同时，使 BCAA 继续保留在寡肽体系中，从而实现寡肽高 F 值化。鄢珊瑶等^[27]发现南极磷虾酶解液经活性炭吸附后其 F 值可由 2.4±0.2 提升至 87.2±0.7。刘海梅等^[10]制备出的高 F 值栉孔扇贝酶解液经活性炭吸附后，支链氨基酸保留率达到 73.869%、芳香族氨基酸脱除率达到 93.120%。此外，活性炭对 AAA 吸附效果会受到酶解液体系和活性炭物理属性的影响，吸附工艺的优化是非常有必要的。

为响应国家“节能减排”号召，活性炭吸附

法中对 AAA 和活性炭的回收也是一个重要课题。化工生产上常采用的方法有冷凝脱附、蒸汽脱附、有机溶剂萃取和热氮脱附等，其中有机溶剂萃取法常用在高 F 值寡肽的制备中，并可分为静态解吸、动态解吸和循环解吸。祁文翰^[28]以乙酸乙酯-乙醇作为复合萃取剂，在 65 °C、乙醇浓度 60%、乙醇与乙酸乙酯配比 1 : 1.5 的条件下进行静态解吸 360 min，完成了对 AAA 的回收和活性炭的重复利用。楼康微等^[29]也发现乙酸乙酯-乙醇复合萃取剂对 AAA 的解吸效果较佳，并在其最佳解吸工艺条件下（65 °C、乙醇体积分数 60%、乙醇与乙酸乙酯配比 1 : 1、解吸时间 390 min），AAA 的回收率高达 91.28%，且获得的活性炭可再次利用。活性炭吸附法简便高效、可重复利用，适用于规模化生产，但同时要求酶解液中 AAA 的含量不能太低且解吸时间不宜过长，否则会吸附效率下降甚至出现 BCAA 损失的现象。

2.2.3 色谱分离法

色谱技术具有适用性广、高灵敏度、高分辨率和连续性好等优点。在高 F 值寡肽的分离纯化应用上，较为常见的有凝胶过滤色谱、离子交换色谱、高效液相色谱、反相高效液相色谱和高速逆流色谱等。Han 等^[30]开发出了一种 pH-区带精制逆流色谱分离新技术，利用该技术对草鱼蛋白酶解液进行分离纯化可得到 5 个高 F 值（F 值为 24.7~36.4）肽组。Pedroche 等^[31]对芸苔水解液进行凝胶过滤层析，可从 Biogel P2 柱洗脱液中获得多个 BCAA 和 AAA 分离的肽组，其中 F 值最大（28.3）的肽组其芳香族氨基酸的含量显著降低，并含有 35%亮氨酸、30%异亮氨酸、20%缬氨酸，测得 F 值为 28.3。

目前，在高 F 值寡肽的分离纯化中，使用单一分离方法的报道较少，通常联用膜分离法、活性炭吸附法以及色谱分离法，如表 3 所示。

表 3 几种高 F 值寡肽的氨基酸序列、分离纯化方法和生理功能
 Table 3 Amino acid sequences, separation and purification methods and physiological functions of several high Fischer ratio oligopeptides

氨基酸序列	分子量/Da	蛋白来源	分离纯化方法	生理功能	参考文献
VAQVDA VLLVLYLA LYQVAAG LVYAVQ	612~1 355	鲑鱼	活性炭吸附+GFC+RP-HPLC	—	[28]
GVL(I) ML(I)	约 265	玉米黄粉	GFC+RP-HPLC	抗疲劳、解醉酒、治疗 HE	[32]
NQKPDFENDNGRF RGEEEEAEER	1 581 1 363	红松松仁	UF+IEC+GFC	抗氧化、抗疲劳	[33]
GACLLPK LGVRGGGG SIAPEY INGAPKN NREKPYE	758.422 672.439 679.387 713.463 935.540	羊乳	UF+GFC	抗疲劳	[34]

注：高效液相色谱（HPLC）；反相高效液相色谱（RP-HPLC）；离子交换层析（IEC）；丙氨酸（Ala-A）；天冬氨酸（Asp-D）；精氨酸（Arg-R）；甘氨酸（Gly-G）；谷氨酸（Glu-E）；赖氨酸（Lys-K）；蛋氨酸（Met-M）；谷氨酰胺（Gln-Q）；天冬酰胺（Asn-N）；缬氨酸（Val-V）；异亮氨酸（Ile-I）；酪氨酸（Tyr-Y）；亮氨酸（Leu-L）；脯氨酸（Pro-P）；苯丙氨酸（Phe-F）

Note: high performance liquid chromatography (HPLC); Reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC); Ion exchange chromatography (IEC); Alanine (Ala-A); Aspic acid (Asp-D); Arginine (Arg-R); Glycine (Gly-G); Glutamic acid (Glu-E); Lysine (Lys-K); Methionine (Met-M); Glutamine (Gln-Q); Asparagine (Asn-N); Valine (Val-V); Isoleucine (Ile-I); Tyr - Y; Leu-L; Proline (Pro-P); Phenylalanine (Phe-F)

3 高 F 值寡肽的护肝功效

正常人的血液中 F 值一般为 3.5 左右，而患

有慢性肝病患者的血液中 F 值<2.5，肝性脑病的患者甚至<0.8。肝脏是 AAA 分解代谢的主要场所，当肝功能受到损伤时，肝脏对 AAA 的代谢

分解能力显著下降同时肌肉蛋白质加速分解,使得 AAA 在血液中累积而浓度升高;而 BCAA 主要在骨骼肌中完成分解代谢,肝损伤会导致胰岛素在肝脏的灭活作用降低,过量的胰岛素则促使过量的 BCAA 进入肌肉而耗用血液中的 BCAA,最终导致血液中 F 值的下降^[35],如图 1 所示。

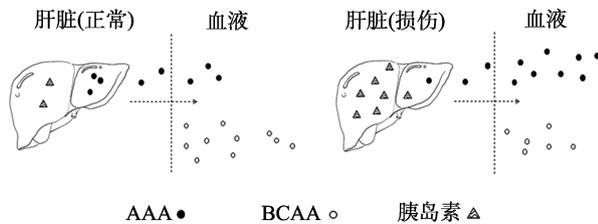


图 1 慢性肝病体内 BCAA、AAA 的代谢机制示意图
 Fig.1 Metabolic mechanism of BCAA and AAA in patients with chronic liver disease

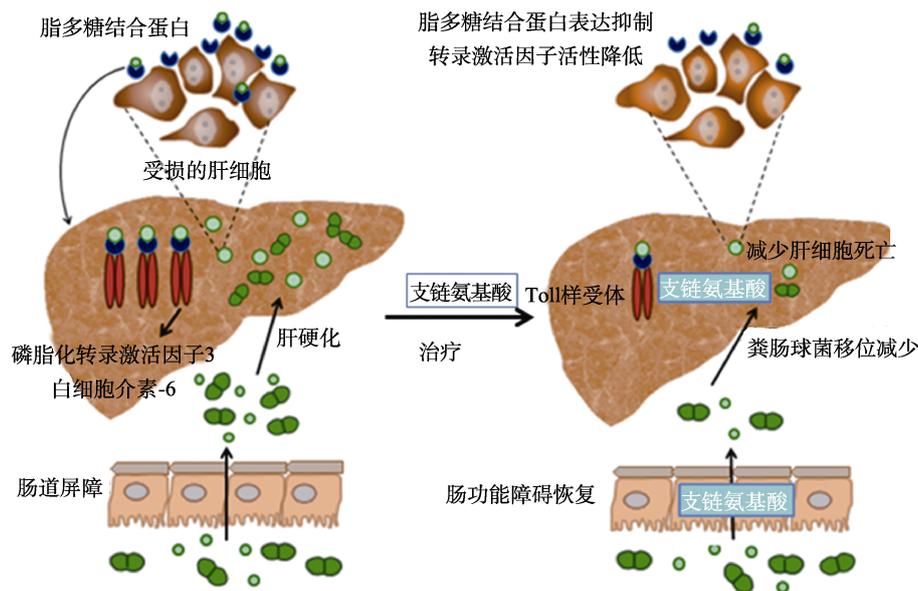
F 值降低是肝硬化的临床表征,BCAA 与 AAA 浓度的变化有助于诊断、评估肝脏形态学变化的严重程度以及该类型肝病的预后^[36]。在临床营养治疗中,患者通过口服或静滴富含 BCAA 的复方氨基酸制剂(如高 F 值寡肽制品)的方式,保障每日能量摄入、减轻肝脏负担并调整血液 F 值,从而缓解血液中 F 值过低的病态模式^[37-38]。高 F 值寡肽发挥护肝功效得益于其中高含量的 BCAA,当患者长期接受富含 BCAA 的营养治疗时,可以改善胰岛素抵抗、减少氧化应激反应、减轻肝细胞凋亡、降低多种并发症的发生率^[39]、预防肝癌并延长肝硬化患者的生存期^[40]等。Nojiri 等^[41]发现在射频消融术前两周给予肝硬化患者口服 BCAA 制剂,能够有效帮助患者缓解术后精神压力、降低并发症和肝内复发风险。Konstantis 等^[42]利用 Scopus、Cochrane 数据库平台收集了 1 297 名成年肝硬化患者口服或静脉注射 BCAA 制剂的治疗案例,从 20 项随机临床试验结果中发现补充 BCAA 可以显著增加患者体内血浆白蛋白浓度、降低肝硬化并发症发生率。

BCAA 护肝的具体分子机制尚未明确,但从目前已有的研究来看,BCAA 可以通过以下三种途径发挥护肝功效。一方面,BCAA 与肌肉部位的氨解毒相关,肝病患者由于尿素合成减少和门体分流的影响,导致血氨水平升高,高血氨症会

促使肌肉中 BCAA 的摄取量增加、谷氨酸谷氨酰胺 (glutamine, GLN) 的合成以及其肌肉内代谢;外源补充 BCAA 可通过缓解肌肉组织消耗 BCAA、减少肌肉蛋白质分解、刺激蛋白质合成,从而使患者血氨水平降低、血浆氨基酸模式恢复正常^[43]。Milan 等^[44]认为 BCAA 是合成谷氨酸的氮源,可为三羧酸循环产物 α -酮戊二酸 (α -ketoglutarate, α -KG) 提供氮用以合成谷氨酸和 GLN,同时 BCAA 还可以在高血氨症期间增加人体肠道和肾脏中 GLN 对氨的代谢。另一方面,Zhang 等^[45]发现膳食氨基酸的缺乏会通过稳定脂滴保护蛋白 Plin2 诱导肝脏脂肪的变性,而 Leu 和 Ile 可直接结合并激活肝细胞中的 E3 泛素连接酶 Ubr1,随后靶向降解脂滴保护蛋白 Plin2,从而改善肝脏脂肪变性。再一方面,也有研究发现 BCAA 的护肝功效可通过抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 的表达来实现;通常 LPS 可通过门静脉渗入肝脏并在肝细胞产生脂多糖结合蛋白 (LPS-binding protein, LBP),进一步激活 Toll 样受体 (toll-like receptor 4, TLR4) 而引发肝脏炎症^[46-47],进一步 TLR4 的激活会导致磷脂化的转录激活因子 3 (activator of transcription3, STAT3) 被激活,继而刺激 TLR4 的加速反馈和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 的反应,最终使肝细胞受到损伤^[48-49]。Eguchi 等^[50]则发现受损 HepG2 细胞中的 LBP 表达在富含 BCAA 的培养基中会受到强烈的抑制,且接受 BCAA 治疗的肝硬化小鼠表现出了肝脏中 LBP-TLR4-STAT3 通路抑制、肠道功能恢复的现象,如图 2 所示。

4 结语

食源性高 F 值寡肽是一种极具开发前景的生物活性肽。目前,国内高 F 值寡肽的研究发展较晚,但制备原料多样,且多偏重于原料蛋白的制备、分离和纯化工艺;国外高 F 值寡肽的研究起源早,但制备原料单一、报道较少,更偏重于对其功能性质的评价和治疗效果的统计调查。食源性高 F 值寡肽的开发仍存在一些局限,首先由于高 F 值寡肽的特殊氨基酸组成,并不是所有原料都适用于其高效制备,酶解前对制备原料蛋白的

图 2 BCAA 治疗在肝硬化大鼠肝脏中的作用^[50]Fig.2 Effect of BCAA treatment on liver of cirrhotic rats^[50]

氨基酸组成、等电点以及酶切位点等结构信息的分析是很有必要的，可利用如 BioPepDB (<http://bis.zju.edu.cn/biopepdr/>) 等活性肽在线数据库对原料进行比对分析，预测目标肽的生物活性。再者，高 F 值化是高 F 值寡肽的制备关键环节，现阶段实验室高 F 值化技术存在着具有操作繁琐、连续化程度低、结果预见性低等缺陷，需通过开发适用于食源性蛋白高 F 值化的新型技术及仪器设备，来简化操作流程、提高结果的可视性，实现高 F 值寡肽产品的规模化生产。

未来，食源性高 F 值寡肽的研究可在：1) 利用化学合成法、基因工程等方法制备高 F 值寡肽，并借助 cDNA 文库、生物信息学、分析基因组文库等手段探索崭新序列的高 F 值寡肽；2) 比较评估不同肽序列的高 F 值寡肽功能差异；3) 高 F 值寡肽功能活性的构效关系解析；4) 以高 F 值寡肽为主要原料的个性化定制营养制剂或功能产品开发，并优化产品的感官属性等方向进行深入研究。总体来说，食源性高 F 值寡肽的研究与开发还有很大空间，深入探索其功能活性机制并交叉联用多学科领域知识进行开发研究，将有助于拓宽高 F 值寡肽在食品、医药等领域的应用价值。

参考文献：

[1] 秦于思, 程明, 韦海涛, 等. 高 F 值寡肽的功能特性研究进展

[J]. 轻工学报, 2021, 36(3): 28-35.

QIN Y S, CHENG M, WEI H T, et al. Research progress in functional characteristics of high Fischer ratio oligopeptides[J]. Journal of Light Industry, 2021, 36(3): 28-35.

[2] TAMAI Y, CHEN Z, WU Y, et al. Branched-chain amino acids and l-carnitine attenuate lipotoxic hepatocellular damage in rat cirrhotic liver[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 135: 111181.

[3] SHEKARCHIZADEH P, ENAYAT M, KARIMIAN J. The effect of branched chain amino acids supplementation (BCAA) on muscle damage and the indicators of fatigue in soccer players[J]. Atherosclerosis Supplements, 2018, 32: 135-136.

[4] YOSHIDA N, YAMASHITA T, OSONE T, et al. Bacteroides spp. promotes branched-chain amino acid catabolism in brown fat and inhibits obesity[J]. iScience, 2021, 24(11): 103342.

[5] 王鑫, 侯威, 赵磊, 等. 不同分子特性玉米蛋白高 F 值活性肽的制备及其模拟消化吸收[J]. 食品工业科技, 2019, 40(1): 58-65.

WANG X, HOU W, ZHAO L, et al. Preparation technology and simulated digestion absorption of high Fischer ratio peptide derived from corn protein with different molecular properties[J]. Science and Technology of Industry, 2019, 40(1): 58-65.

[6] YANG H, HOU W, ZHAO L, et al. Optimization on preparation of high Fischer ratio oligopeptides by two-step enzymolysis from corn yellow powder[J]. Journal of Food Science and Technology (Beijing), 2019, 37(6): 100-107.

[7] 常桂英, 楚海娇, 高桂凤, 等. 榆耳高 F 值低聚肽的制备及氨基酸组成分析[J]. 中国酿造, 2013, 32(12): 35-37.

CHANG G Y, CHU H J, GAO G F, et al. Preparation of oligopeptide with high F value and composition analysis of amino acid from Gloeostereum incarnatum[J]. China Brewing, 2013, 32(12): 35-37.

- [8] 童波, 刘大川, 刘晔. 紫苏高 F 值低聚肽的制备研究[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 178-181.
TONG B, LIU D C, LIU Y. Preparation of oligopeptides with high F value from perilla[J]. Food Science, 2009, 30(20): 178-181.
- [9] 刘玲, 刘茜, 王红. 啤酒糟蛋白中高 F 值寡肽的制备[J]. 食品工业科技, 2012, 33(9): 309-312.
LIU L, LIU Q, WANG H. Preparation of high fischer ratio oligo-peptide from protein of brewer's spent grains[J]. Science and Technology of Industry, 2012, 33(9): 309-312.
- [10] 刘海梅, 王芸, 裴继伟, 等. 活性炭法制备高 F 值栉孔扇贝酶解液的工艺条件[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(22): 167-172.
LIU H M, WANG Y, PEI J W, et al. Process conditions of enzymatic hydrolysis of scallop *Chlamys farreri* with high Fischer ratio by activated carbon method[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(22): 167-172.
- [11] 丁冬各. 带鱼抗氧化肽和高 F 值寡肽制备工艺研究[D]. 浙江海洋大学, 2016.
DING D G. Studies on the preparation and purification of antioxidant-peptide and high ratio oligo-peptide from hairtail[D]. Zhejiang Ocean University, 2016.
- [12] LAN C, ZHAO Y Q, LI X R, et al. High fischer ratio oligopeptides determination from antarctic krill: preparation, peptides profiles, and in vitro antioxidant activity[J]. J Food Biochem, 2019, 43(5): e12827.
- [13] 秦于思, 程明, 陈平华, 等. 基于乳源性蛋白制备高 F 值寡肽的研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2020: 31-35.
QIN Y S, CHENG M, CHEN P H, et al. Recent progress in preparation of oligopeptides with high F value from milk proteins[J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2020: 31-35.
- [14] ADACHI S, KIMURA Y, MURAKAMI K, et al. Separation of peptide groups with definite characteristics from enzymatic protein hydrolysate[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1991, 55(4): 925-932.
- [15] 秦于思. 羊乳乳清蛋白高 F 值寡肽的制备及其功能活性研究[D]. 齐鲁工业大学, 2021.
QIN Y S. Preparation of goat whey protein high Fisher ratio oligopeptide and study on its functional activity[D]. Qilu University of Technology, 2021.
- [16] 刘琴, 陆东林. 双峰驼乳和牛乳蛋白质氨基酸含量和组成比较分析[J]. 新疆畜牧业, 2021, 36(2): 12-15.
LIU Q, LU D L. Comparative analysis of protein amino acid content and composition between Bactrian camel milk and cow milk[J]. Xinjiang Animal Husbandry, 2021, 36(2): 12-15.
- [17] 章超桦, 吴红棉, 洪鹏志, 等. 马氏珠母贝肉的营养成分及其游离氨基酸组成[J]. 水产学报, 2000(2): 180-184.
ZHANG C H, WU H M, HONG P Z, et al. Nutrients and composition of free amino acid in edible part of *pinctada martensii*[J]. Journal of Fisheries of China, 2000(2): 180-184.
- [18] 康鹏, 葛武鹏, 何锐, 等. 羊乳高 F 值肽酶解工艺优化[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(4): 1240-1248.
KANG P, GE W P, HE R, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of high fischer ratio peptide from goat milk[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(4): 1240-1248.
- [19] 漆倩涯. 超声辅助酶法水解杏鲍菇制备高 F 值寡肽液[D]. 甘肃农业大学, 2017.
QI Q Y. Preparation of pleurotus eryngii F-measure oligopeptide using ultrasonic assisted enzymatic hydrolysis[D]. Gansu Agricultural University, 2017.
- [20] 李楠. 玉米醇溶蛋白等离子改性及其发酵生产 F 值寡肽[D]. 天津科技大学, 2020.
LI N. Modification of zein via cold plasma treatment and its application of producing F-value oligopeptides[D]. Tianjin University of Science & Technology, 2020.
- [21] 吴警涛. 高 F 值酵母寡肽的制备及双酶共固定化[D]. 江南大学, 2019.
WU J T. Preparation of high F value yeast oligopeptide and immobilization of double enzyme[D]. Jiangnan University, 2019.
- [22] CHEN G Y, CHEN Y, HOU Y J, et al. Preparation, characterization and the in vitro bile salts binding capacity of celery seed protein hydrolysates via the fermentation using *B. subtilis*[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 117.
- [23] 张振洋. 玉米高 F 值寡肽的微生物发酵法生产制备[D]. 江南大学, 2021.
ZHANG Z Y. Microbially fermentative production of corn oligopeptides at high Fisher's ratio[D]. Jiangnan University, 2021.
- [24] LI T, TIAN Y, ZHOU N, et al. Modification of zein by ultrasound oscillation and preparation of oligopeptides with a high fischer's ratio[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2020, 39(11): 104-111.
- [25] PHONGTHAI S, RAWDKUEN S. Fractionation and characterization of antioxidant peptides from rice bran protein hydrolysates stimulated by in vitro gastrointestinal digestion[J]. Cereal Chemistry, 2020, 97(2): 316-325.
- [26] 苏慧超, 张田明, 吴云奇, 等. 电渗析-超滤耦合技术研究进展[J]. 化工进展, 2020, 39(S2): 1-7.
SU H C, ZHANG T M, WU Y Q, et al. Development of electrodialysis with ultrafiltration membrane technology[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2020, 39(S2): 1-7.
- [27] 鄢珊瑶, 迟海, 冯广朋, 等. 高 F 值南极磷虾小分子肽的制备优化及其对 HepG2 细胞影响研究[J]. 食品与发酵工业, 2022: 1-11.
YAN S Y, CHI H, FENG G P, et al. Optimization and preparation of high Fischer ratio peptides from antarctic krill and its effects on human hepatocellular carcinoma cell line HepG2[J]. Food and Fermentation Industries, 2022: 1-11.
- [28] 祁文翰. 鱿鱼高 F 值寡肽制备优化及工厂设计[D]. 浙江海洋大学, 2017.
QI W H. Squid high Fischer ratio oligo-peptide preparation

- optimization and factory design[D]. Zhejiang Ocean University, 2017.
- [29] 楼康微, 祁文翰, 罗红宇. 高 F 值寡肽制备中芳香族氨基酸的回收[J]. 食品工业, 2019, 40(2): 143-147.
- LOU K W, QI W H, LUO H Y. The recovery of aromatic amino acids in the preparation of high F oligopeptide[J]. The Food Industry, 2019, 40(2): 143-147.
- [30] QIN Q X, WEI D, GUO S Y. Separation of oligopeptides with high fisher's ratio by ph-zone-refining counter-current chromatography[J]. Natural Product R & D, 2008, 20(5): 866-869+883.
- [31] PEDROCHE J, YUST M D, LQARI H, et al. Production of Brassica carinata protein hydrolyzates with a high Fischer's ratio using immobilized proteases[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(20): 7621-7627.
- [32] 蒋竹青. 玉米高 F 值寡肽的制备及生理功能研究[D]. 济南大学, 2015.
- JIANG Z Q. Preparation and purification of corn oligopeptide and physiological function study[D]. University of Jinan, 2015.
- [33] 郑元元. 红松松仁高 F 值肽的制备及其抗疲劳抗氧化活性的研究[D]. 哈尔滨工业大学, 2018.
- ZHENG Y Y. Preparation of high fisher ratio peptide from pinus koraiensis sieb.et zucc. and its anti-fatigue and antioxidant activity[D]. Harbin Institute of Technology, 2018.
- [34] 康鹏. 羊乳高 F 值肽的制备及其抗疲劳功能研究[D]. 西北农林科技大学, 2022.
- KANG P. Study on the preparation of high Fischer ratio peptide from goat milk and its anti-fatigue effects[D]. Northwest A&F University, 2022.
- [35] 谷文英. 肝性脑病防治肽——高 F 值低聚肽的研究[J]. 中国食品添加剂, 2000(2): 69-73.
- GU W Y. High Fischer ratio peptide mixture——for patients suffered from hepatic encephalopathy[J]. China Food Additives, 2000(2): 69-73.
- [36] STEIGMANN F, SZANTO P B, POULOS A, et al. Significance of serum aminograms in diagnosis and prognosis of liver diseases[J]. J Clin Gastroenterol, 1984, 6(5): 453-460.
- [37] 秦环龙. 肝功能不全时氨基酸代谢变化与支链氨基酸的治疗作用[J]. 肠外与肠内营养, 2004(4): 249-252.
- QIN H L. Changes of amino acid metabolism and therapeutic effects of branched chain amino acids in liver dysfunction[J]. Parenteral & Enteral Nutrition, 2004(4): 249-252.
- [38] RUIZ-MARGAIN A, MENDEZ-GUERRERO O, ROMAN-CALLEJA B M, et al. Dietary management and supplementation with branched-chain amino acids in cirrhosis of the liver[J]. Rev Gastroenterol Mex (Engl Ed), 2018, 83(4): 424-433.
- [39] PLAUTH M, CABRE E, RIGGIO O, et al. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Liver disease[J]. Clin Nutr, 2006, 25(2): 285-94.
- [40] KAWAGUCHI T, SHIRAIISHI K, ITO T, et al. Branched-chain amino acids prevent hepatocarcinogenesis and prolong survival of patients with cirrhosis[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2014, 12(6): 1012-1018 e1.
- [41] NOJIRI S, FUJIWARA K, SHINKAI N, et al. Effects of branched-chain amino acid supplementation after radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: A randomized trial[J]. Nutrition, 2017, 33: 20-27.
- [42] KONSTANTIS G, POURZITAKI C, CHOURDAKIS M, et al. Efficacy of branched chain amino acids supplementation in liver cirrhosis: A systematic review and meta-analysis[J]. Clinical Nutrition, 2022.
- [43] DAM G, AAMANN L, VISTRUP H, et al. The role of Branched Chain Amino Acids in the treatment of hepatic Encephalopathy[J]. J Clin Exp Hepatol, 2018, 8(4): 448-451.
- [44] HOLEČEK M. Branched-chain amino acid supplementation in treatment of liver cirrhosis: Updated views on how to attenuate their harmful effects on cataplerosis and ammonia formation[J]. Nutrition, 2017, 41: 80-85.
- [45] ZHANG Y, LIN S, PENG J, et al. Amelioration of hepatic steatosis by dietary essential amino acid-induced ubiquitination[J]. Mol Cell, 2022, 82(8): 1528-1542 e10.
- [46] ZHOU Z, XU M J, GAO B. Hepatocytes: a key cell type for innate immunity[J]. Cell Mol Immunol, 2016, 13(3): 301-315.
- [47] GAO B, AHMAD M F, NAGY L E, et al. Inflammatory pathways in alcoholic steatohepatitis[J]. J Hepatol, 2019, 70(2): 249-259.
- [48] GREENHILL C J, ROSE-JOHN S, LISSILAA R, et al. IL-6 trans-signaling modulates TLR4-dependent inflammatory responses via STAT3[J]. J Immunol, 2011, 186(2): 1199-1208.
- [49] FU X Q, LIU B, WANG Y P, et al. Activation of STAT3 is a key event in TLR4 signaling-mediated melanoma progression[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(4): 246.
- [50] EGUCHI A, IWASA M, TAMAI Y, et al. Branched-chain amino acids protect the liver from cirrhotic injury via suppression of activation of lipopolysaccharide-binding protein, toll-like receptor 4, and signal transducer and activator of transcription 3, as well as Enterococcus faecalis translocation[J]. Nutrition, 2021, 86: 111194. 
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。