

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2023.04.012

牛培荣, 李炜, 夏美茹, 等. 河套小麦胚芽源多肽的抗氧化活性研究[J]. 粮油食品科技, 2023, 31(4): 87-94.

NIU P R, LI W, XIA M R, et al. Study on the antioxidant activity Hetao wheat germ polypeptides[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2023, 31(4): 87-94.

河套小麦胚芽源多肽的 抗氧化活性研究

牛培荣^{1,2}, 李 炜¹, 夏美茹¹, 阿木日汗¹,
王吉力特¹, 刘 聪¹✉(1. 河套学院 农学系, 内蒙古 巴彦淖尔 015000;
2. 宁夏大学 食品科学与工程学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要: 利用中性蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶等酶解河套小麦胚芽蛋白获得多肽, 测定其体外抗氧化能力, 利用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 确定其多肽分布。结果表明, 胚芽蛋白及多肽浓度与抗氧化能力呈正相关。不同浓度的中性蛋白酶酶解获得的多肽的抗氧化能力显著高于胃蛋白酶和胰蛋白酶酶解获得的多肽 ($P < 0.05$), 其还原能力、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS⁺) 和 1,1-二苯基-2-苦基苯肼 (DPPH) 清除率最高达 (1.17±0.004) 1.0 mg/mL、(84.82%±0.87%) 1.5 mg/mL 和 (55.01%±0.01%) 1.0 mg/mL, 且其 ABTS⁺ 和 DPPH 自由基清除率均显著高于胚芽蛋白 ($P < 0.05$)。另外, 不同蛋白酶水解能力不同, 其中胃蛋白酶的水解能力最大, 中性蛋白酶水解能力最小; 胚芽蛋白多肽的抗氧化能力与其分子量大小相关, 但不一定蛋白多肽的分子量越小, 其抗氧化效果越好。上述结果为进一步研究河套小麦胚芽抗氧化肽提供了一定的参考依据。

关键词: 河套地区; 小麦胚芽蛋白; 多肽; 抗氧化活性

中图分类号: TS201.1; S-3 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2023)04-0087-08

Study on the Antioxidant Activity Hetao Wheat Germ Polypeptides

NIU Pei-rong^{1,2}, LI Wei¹, XIA Mei-ru¹, A Mu-ri-han¹,
WANG Ji-li-te¹, LIU Cong¹✉(1. Department of Agriculture, Hetao College, Bayannur, Inner Mongolia 015000, China;
2. School of Food & Wine, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China)**Abstract:** In this experiment, the peptides were obtained by enzymatic digestion of wheat germ proteins

收稿日期: 2023-04-13

基金项目: “科技兴蒙”行动重点专项巴彦淖尔国家农业高新技术产业示范区重点项目 (NMKJXM202111); 河套学院科学技术研究项目 (HYZX202165); 内蒙古自治区自然科学基金资助项目 (2021MS03028); 巴彦淖尔市科技计划项目 (K202105); 内蒙古自治区高校科技青年人才计划项目 (NJYT-20-B12)**Supported by:** Technology Flourishes Project of Inner Mongolia Autonomous Region (No. NMKJXM202111) Natural Science Project of Hetao College (No. HYZX202165). Project funded by the Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (No. 2021MS03028). Bayan Nur Science and Technology Plan Project (No. K202105). Program for Young Talents of Science and Technology in Universities of Inner Mongolia Autonomous Region (No. NJYT-20-B12)**作者简介:** 牛培荣, 女, 1999 年出生, 在读硕士生, 研究方向为健康食品生物制造。E-mail: 1619416637@qq.com**通讯作者:** 刘聪, 女, 1984 年出生, 硕士, 讲师, 研究方向食品营养与功能因子研究。E-mail: 645309001@qq.com

from river sets using neutral protease, trypsin and pepsin. In vitro antioxidant capacity of samples was determined and their polypeptides distribution was determined using polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). The results showed that germ protein and polypeptides concentrations were positively correlated with antioxidant capacity. The antioxidant capacity of the peptides obtained by enzymatic digestion of neutral protease at different concentrations was significantly higher than that obtained by enzymatic digestion of pepsin and trypsin ($P < 0.05$), and their reducing capacity, 2,2-biazo-bis(3-ethyl-benzothiazole-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS⁺), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) clearance was up to (1.17±0.004) 1.0 mg/mL, (84.82%±0.87%) 1.5 mg/mL and (55.01%±0.01%) 1.0 mg/mL, respectively, and their ABTS⁺ and DPPH radical scavenging rates were significantly higher than those of germ proteins ($p < 0.05$). In addition, for the hydrolysis capacity of different proteases differs, pepsin had the greatest hydrolysis capacity while neutral protease had the least. The antioxidant capacity of germ protein polypeptides correlated with their molecular weight, but it is not necessarily the case that the smaller the molecular weight of a protein peptide had the better antioxidant effect. The results of these experiments provide a theoretical basis for further research on the antioxidant polypeptides of wheat germ in the Hetao.

Key words: Hetao area; wheat germ protein; polypeptides; antioxidant activity

许多植物源的天然化合物,如多酚、多糖、多肽等具有良好的抗氧化活性,其中肽的抗氧化活性引起了越来越多的关注^[1-3]。抗氧化肽是一类具有抗氧化作用的生物活性肽,可以清除自由基并缓解氧化应激^[4]。植物蛋白被认为是抗氧化肽的新来源,抗氧化肽具有保护细胞与肝脏、改善记忆力、抗癌症、降血压等作用,其在食品添加剂、开发功能性食品和治疗药物等方面的有潜在应用^[5-6]。

小麦胚芽含有约 26.0%~31.5%的蛋白质,其中清蛋白约 30.2%,球蛋白约 18.9%,醇溶蛋白约 14.0%,谷蛋白约 0.3%~0.37%^[7],蛋白提取率高达 77.99%^[8]。除了基本营养物质外,还富含多酚类、凝集素、二十八醇、谷胱甘肽等多种生物活性成分^[9]。王琪^[8]等研究表明,小麦胚芽蛋白的水解产物具有自由基清除能力并且含有抗氧化活性较强的肽,可应用于天然保健食品中。张弘^[10]等研究表明,小麦胚芽中黄酮和酚酸含量与抗氧化能力间有明显的相关关系。林童^[11]等研究表明,利用碱性蛋白酶水解小麦胚芽蛋白得到的生物活性肽具有较强的抗氧化能力。曹小周^[12]等研究表明,小麦胚芽抗氧化肽对高糖诱导的血管平滑肌细胞增殖具有明显的保护作用。

河套小麦是世界三大优质小麦之一,由于种

植在北纬 40 度的特殊地理位置,光照时间长,昼夜温差大,其蛋白质、面筋含量高,粉质指标、拉伸指标、沉降指标优良,被誉为“五项全能”冠军小麦。我们课题组前期研究表明,河套小麦胚芽及胚芽蛋白通过调控胆固醇代谢相关基因降低高脂模型大鼠血脂水平^[13]。利用中性蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶酶解河套小麦胚芽蛋白获得多肽,采用还原能力、ABTS⁺自由基清除能力和 DPPH 自由基清除能力等分析其抗氧化作用,并利用 SDS-PAGE 实验确定其酶解产物分子质量的分布。旨在为河套地区小麦胚芽抗氧化活性的研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

小麦胚芽粉:内蒙古恒丰集团银粮面业有限责任公司;小麦胚芽蛋白:实验室自制;1,1-二苯基-2-苦基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulph-onate) diammonium salt, ABTS)、中性蛋白酶(≥14000 U/g):上海源叶生物科技有限公司;胃蛋白酶(414 U/mg)、胰蛋白酶(1794 U/mg):西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;盐酸(HCl)、正己烷(C₆H₁₄)、过氧化氢(H₂O₂)、无水乙醇

(C₂H₅OH): 天津市致远化学试剂有限公司; 铁氰化钾 (K₃Fe(CN)₆): 天津市北联精细化学品开发有限公司。

1.2 仪器与设备

CF16RN 落地式高速冷冻离心机: 日本日立公司; FD-1C-50 真空冷冻干燥机: 北京博医康实验仪器有限公司; AUV-120D 分析天平: 日本岛津公司; 752pro 紫外可见分光光度计: 上海棱光技术有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 小麦胚芽蛋白的提取

利用碱溶酸沉淀法^[14]提取小麦胚芽蛋白, 方法略有改动。小麦胚芽粉(过 60 目)按料液比(1:3 w/v)与正己烷混合, 脱脂 2 次。脱脂小麦胚芽, 按料液比(1:9 w/v)与蒸馏水混合, 用 0.5 mol/L NaOH 调 pH 至 9.5, 50 °C 浸提 120 min, 收集上清液调节 pH 至 4.5, 离心收集沉淀物, 冷冻干燥即为小麦胚芽蛋白(纯度 81.0%)。

1.3.2 小麦胚芽蛋白多肽的制备

参考郑志强^[15]等的实验方法酶解小麦胚芽蛋白。10 g 小麦胚芽蛋白加 90 mL 去离子水混合, 预热到不同酶的最适温度和 pH(中性蛋白酶 37 °C、pH 7.0, 胃蛋白酶 60 °C、pH 3.0, 和胰蛋白酶 25 °C、pH 7.6, 如表 1), 酶添加量为 2 000 U/g, 水浴锅最适温度恒温酶解 4 h, 期间用 1.0 mol/L NaOH 或 HCl 每隔 30 min 调节至最适 pH, 沸水灭酶 10 min, 离心收集上清液冷冻干燥即为小麦胚芽蛋白多肽, -20 °C 保存待用。

表 1 不同蛋白酶酶解最适温度和 pH 值

Table 1 The optimum temperature and pH value for enzymatic hydrolysis of different proteases

蛋白酶种类	酶活性/(U/g)	酶解最适温度/°C	酶解最适 pH
中性蛋白酶	14 000	37	7.0
胃蛋白酶	414 000	60	3.0
胰蛋白酶	1 794 000	25	7.6

1.3.3 小麦胚芽蛋白及酶解产物的蛋白质含量测定

凯氏定氮法, 参照 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》第一法测定蛋白质。

1.3.4 还原能力测定方法

参照黄越^[16]等的方法测定还原能力。分别取 2 mL 三种浓度样品(0.25、0.5 和 1.0 mg/mL), 加入 2 mL 磷酸缓冲液和 2 mL K₃Fe(CN)₆(1%) 混匀, 50 °C 水浴 20 min, 加入 2 mL C₂HCl₃O₂, 离心上清液加去离子水 2 mL 和 0.4 mL FeCl₃ 混匀, 50 °C 水浴 10 min, 在 700 nm 下测定其吸光值 A。

1.3.5 ABTS⁺自由基清除的测定方法

参照梁红敏^[17]等的方法稍作改动。对照组 A0: 3.2 mL 已稀释的 ABTS⁺自由基工作液(0.7±0.02 nm)和 0.8 mL 95%乙醇混匀。样品组 A: 160 μL 不同浓度样品(0.5、1.0 和 1.5 mg/mL)、640 μL 95%乙醇和 3.2 mL 已稀释 ABTS⁺自由基溶液混均, 使最终反应液体积为 4 mL, 暗处反应 30 min, 在 734 nm 下测定其吸光值。计算公式为

$$R = \frac{(A_0 - A)}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: R 为 ABTS⁺清除率, %; A₀ 为不加样品时的值; A 为加入样品后的值。

1.3.6 DPPH 清除能力的测定

参照李培源^[18]等的方法稍作改动。对照组 A0: 0.1 mL DPPH 溶液和 0.1 mL 75%乙醇混匀; 样品组 A_i: 0.1 mL 不同浓度样品(0.25、0.5 和 1.0 mg/mL)和 0.1 mL DPPH 溶液混匀; 样品对照 A_j: 0.1 mL 样品溶液和 0.1 mL 75%乙醇溶液混匀, 加样顺序为样品-乙醇-DPPH, 暗处反应 30 min, 在 517 nm 处测定其吸。计算公式为:

$$B = \frac{1 - (A_i - A_j)}{A_0 - A_{空}} \times 100 \quad (2)$$

式中: B 为 DPPH 清除率, %; A₀ 为对照组吸光值; A_空 为空白调 0; A_i 为样品组吸光值; A_j 为样品对照组吸光值。

1.3.7 分子量分布的测定

参考徐清^[18]等的实验方法稍作改动, 分离胶(12.0%)和浓缩胶(3.0%)制备胶板。样品与上样缓冲液混合沸煮 5 min。上样量为 10 μL。样品在浓缩胶阶段电压为 80 V, 时间为 30~40 min, 分离胶阶段为 150 V, 时间为 120~150 min。电泳结束后采用考马斯亮蓝染色 20 min, 随后进行

脱色。

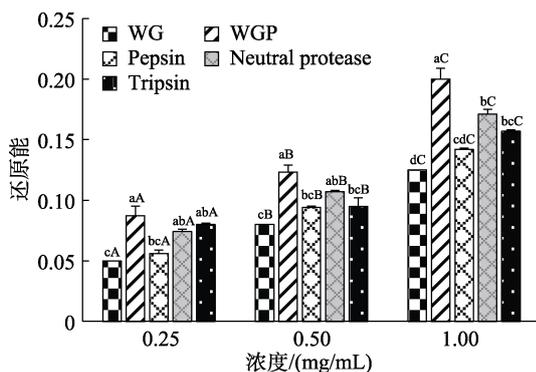
1.4 数据分析

每组实验均为 3 组平行, 所有实验数据均以用均数±标准差 (Mean±SD) 表示。采用 SPSS22.0 统计软件进行方差分析法 (ANOVA), 以 $P < 0.05$ 为显著性差异。

2 结果与分析

2.1 小麦胚芽蛋白及其酶解产物还原能力测定

还原能力中抗氧化成分将试剂中的 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} , 可以通过吸光度来间接的反映物质的抗氧化能力^[20]。由图 1 可知, 小麦胚芽组、胚芽蛋白组、胃蛋白酶组、胰蛋白酶组和中性蛋白酶组均表现出较强的还原能力, 且浓度与还原能力呈正相关, 其中小麦胚芽蛋白的还原能力最强, 1.0 mg/mL 浓度时还原能力吸光值为 0.20 ± 0.009 , 与其他组均有显著差异 ($P < 0.05$); 在 0.25 mg/mL 浓度下胰蛋白酶组还原能力强于小麦胚芽组、胃蛋白酶组 and 胰蛋白酶组。在不同浓度下各样品组之间的抗氧化效果不同, 这可能是因为底物浓度会影响各蛋白酶与底物的结合, 不同蛋白酶有不同的最适底物结合浓度, 过高的蛋白浓度会影响蛋白酶的分散性和活性物质的释放^[21]。徐杨林^[22]



注: WG: 小麦胚芽, WGP: 小麦胚芽蛋白, Pepsin: 胃蛋白酶, Neutral protease: 中性蛋白酶, Tripsin: 胰蛋白酶; 小写英文字母表示同浓度不同样品, 大写英文字母表示同样品不同浓度之间的显著性差异 ($P < 0.05$)。

Note: WG: wheat germ, WGP: wheat germ protein, Pepsin: pepsin, Neutral protease: Neutral protease, Tripsin: trypsin; lower case letters indicate different samples of the same concentration, upper case letters indicate significant differences between different concentrations of the same product ($P < 0.05$).

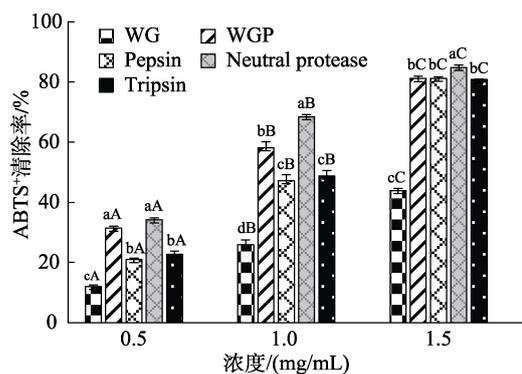
图 1 小麦胚芽蛋白及其酶解产物还原能力的影响

Fig. 1 Effect of wheat germ proteins and their enzymatic digestion products on the reducing capacity

等酶解苦杏仁醇溶蛋白底物含量在 3% 时抗氧化活性达到最大, 底物浓度增大, 抗氧化性减小。于丽娜^[23]等表明底物质量分数较低时底物与酶的结合率较低, 酶解液中的活性肽含量越少, 抗氧化能力越弱; 而底物质量分数越高, 则蛋白酶与底物易生成无活性的中间产物, 从而使酶解反应受到抑制抗氧化效果变差。因此, 在 0.25 mg/mL 浓度下, 小麦胚芽蛋白与胰蛋白酶结合较佳, 其抗氧化活性最高。但在 0.5 mg/mL 和 1.0 mg/mL 浓度下中性蛋白酶组还原能力强于胃蛋白酶和胰蛋白酶组, 与小麦胚芽组和小麦胚芽蛋白组有显著差异 ($P < 0.05$)。

2.2 小麦胚芽蛋白及其酶解产物 ABTS⁺ 自由基清除能力测定

因 ABTS⁺ 自由基不易受提取物光谱的干扰, 操作简单、反应敏感性高和反应速度快, 适用于的抗氧化剂的评价^[24]。在图 2 可知, 各实验组 ABTS⁺ 自由基清除能力与浓度呈正相关, 其中中性蛋白酶组清除能力显著高于其他四组 ($P < 0.05$)。在各浓度下各实验组清除能力呈: 中性蛋白酶 > 小麦胚芽蛋白 > 胰蛋白酶 > 胃蛋白酶 > 小麦胚芽。在 0.5 mg/mL 浓度下, 除胚芽蛋白组和中性蛋白酶



注: WG: 小麦胚芽, WGP: 小麦胚芽蛋白, Pepsin: 胃蛋白酶, Neutral protease: 中性蛋白酶, Tripsin: 胰蛋白酶; 小写英文字母表示同浓度不同样品, 大写英文字母表示同样品不同浓度之间的显著性差异 ($P < 0.05$)。

Note: WG: wheat germ, WGP: wheat germ protein, Pepsin: pepsin, Neutral protease: Neutral protease, Tripsin: trypsin; lower case letters indicate different samples of the same concentration, upper case letters indicate significant differences between different concentrations of the same product ($P < 0.05$).

图 2 小麦胚芽蛋白及其酶解产物 ABTS⁺ 自由基清除的影响

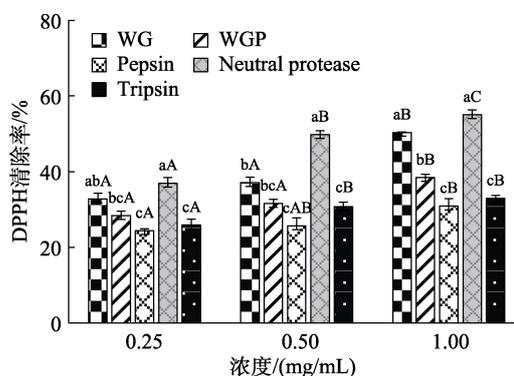
Fig. 2 Effect of wheat germ protein and its enzyme digestion product on ABTS⁺ radical clearance

组、胃蛋白酶组和胰蛋白酶组无显著差异, 其他各组均有显著差异 ($P < 0.05$)。在 1.0 mg/mL 浓度下, 除胃蛋白酶组和胰蛋白酶组无显著差异, 其他各组均有显著差异 ($P < 0.05$); 在 1.5 mg/mL 浓度下, 胚芽蛋白组、胃蛋白酶组和胰蛋白酶组清除能力相似。以上结果与郑志强^[15]等的研究结果一致。吴伟菁^[25]等研究表明, 1.0 mg/mL 中性蛋白酶解产物的 ABTS⁺ 自由基清除率可达 11.25%±1.30%。ABTS 与过二硫酸钾发生反应形成 ABTS⁺ 自由基, 其溶液的颜色由蓝绿逐渐变浅, 吸光值减小, 抗氧化效率越高^[26]。中性蛋白酶组具有很高的 ABTS⁺ 自由基氧化能力, 酶解后的小麦胚芽蛋白可产生更多的能与 ABTS⁺ 自由基发生反应的小肽, 从而使其吸光度下降, 进而证明其抗氧化活性较强。

2.3 小麦胚芽蛋白及其酶解产物 DPPH 清除能力的测定

DPPH 是以氮为中心阴离子自由基, 反应过程中有抗氧化剂存在时, 会供给深紫色的 DPPH 电子或氢原子形成稳定黄色的 DPPH-H 化合物, 其褪色程度与抗氧化剂含量成定量关系, 常作为体外清除自由基活性评价^[27]。由表 3 可知, 各实验组 DPPH 清除能力与样品浓度呈正相关, 其中清除率最好的是中性蛋白酶组, 在 0.25 mg/mL 和 1.0 mg/mL 浓度下, 除中性蛋白酶组与小麦胚芽组无显著差异, 与其他各组均有显著差异 ($P < 0.05$); 其次清除率较高的分别是小麦胚芽组和胚芽蛋白组, 二者在 1.0 mg/mL 浓度下有显著差异 ($P < 0.05$); 胰蛋白酶组和胃蛋白酶组清除率最差, 二者在各浓度下均相差不大且无显著差异, 但与其他各组均有显著差异 ($P < 0.05$)。马倩^[28]等用中性蛋白酶酶解奇亚籽蛋白 DPPH 自由基清除活性为 54.90% 且为最适酶。DPPH 自由基清除活性的高低与多肽含的疏水性氨基酸或肽的多少有关^[23], 一些芳香类氨基酸对 DPPH 的抗氧化作用也较强。中性蛋白酶是肽链内切酶主要水解羧基端含有酪氨酸 (Tyr)、苯丙氨酸 (Phe)、色氨酸 (Trp) 等芳香族疏水性氨基酸^[29]; 胃蛋白酶易水解疏水性氨基酸, 其在水解过程中主要由芳香族氨基酸或酸性氨基酸所组成的肽键^[30], 优先

切断亮氨酸 (Leu)、苯丙氨酸 (Phe) 和谷氨酸 (Glu) 的羧基端; 胰蛋白酶选择性地切割碱性氨基酸^[31]。小麦胚芽多肽中总疏水性氨基酸含有 45.76 g/100 g, 其中 Tyr 含有 3.08 g/100 g, Phe 含有 4.53 g/100 g, Leu 含有 7.05 g/100 g, Glu 含有 14.71 g/100 g^[32], Tyr 和 Phe 是芳香族氨基酸, 也就解释了小麦胚芽多肽具有清除能力的原因。结果表明, 水解小麦胚芽蛋白形成氨基酸残基使酶解液中抗氧化多肽增加以提高 DPPH 清除能力, 增强了酶解液的抗氧化能力。



注: WG: 小麦胚芽, WGP: 小麦胚芽蛋白, Pepsin: 胃蛋白酶, Neutral protease: 中性蛋白酶, Tripsin: 胰蛋白酶; 小写英文字母表示同浓度不同样品, 大写英文字母表示同样品不同浓度之间的显著性差异 ($P < 0.05$)。

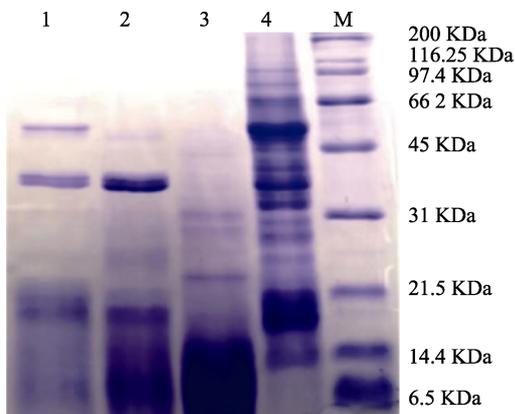
Note: WG: wheat germ, WGP: wheat germ protein, Pepsin: pepsin, Neutral protease: Neutral protease, Tripsin: trypsin; lower case letters indicate different samples of the same concentration, upper case letters indicate significant differences between different concentrations of the same product ($P < 0.05$).

图 3 小麦胚芽蛋白及其酶解产物 DPPH 清除能力的影响
 Fig. 3 Effect of wheat germ protein and its digestion product on DPPH

2.4 小麦胚芽蛋白及其酶解产物的分子量的分布

通过 SDS-PAGE 图谱分析小麦胚芽蛋白及水解产物的分子量变化。由图 4 可以看出, 小麦胚芽蛋白、胃蛋白酶、中性蛋白酶和胰蛋白酶酶解获得的多肽的 4 条蛋白条带都较为清晰。小麦胚芽蛋白主要由 14.4~97.4 kDa 范围内的 12 条亚基带组成。小麦胚芽蛋白的三种蛋白酶酶解产物的高分子量亚基均有不同程度的下降, 且其亚基转向 21.5 kDa 以下的低分子量范围, 这说明酶解后的蛋白亚基发生了降解, 从而形成具有小分子量的片断。中性蛋白酶获得的多肽存在 38 kDa 和 51 kDa 的两个亚基带, 在 21.5 kDa 以下的低分子

量多肽最少;在 37 KDa 的胰蛋白酶得到的多肽具有一条亚基带;胃蛋白酶酶解获得的多肽在 21.5~200 kDa 高分子量亚基最少,而低分子量亚基含量则显著高于其他两个组,该结果表明,胃蛋白酶的水解强度最高,而中性蛋白酶的水解强度最低。以上结果结合各蛋白酶酶解产物的抗氧化能力(中性蛋白酶组>胚芽蛋白>胰蛋白酶组>胃蛋白酶组),表明,并不是蛋白分子量越小其抗氧化效果越好。上述结果与刘妍兵^[33]等的研究结果相似。进一步说明,小麦胚芽蛋白被酶水解成了不同分子量的多肽,其体外抗氧化效果与分子量大小有一定的关系,但不一定分子量越小,其抗氧化效果越好。



注: 1. 中性蛋白酶组; 2. 胰蛋白酶组; 3. 胃蛋白酶组; 4. 胚芽蛋白; M: 蛋白标本。

Note: 1. neutral protease group; 2. trypsin group; 3. pepsin group; 4. germ protein; M: protein specimen.

图 4 小麦胚芽蛋白及其酶解产物的水解程度

Fig. 4 Degree of hydrolysis of wheat germ proteins and their enzyme digestion products

3 结论

本研究利用 3 种蛋白酶酶解河套小麦胚芽蛋白获得多肽,比较分析其体外抗氧化能力和分子量分布。结果表明,小麦胚芽蛋白及各多肽的浓度与抗氧化能力呈正相关,其不同浓度中性蛋白酶酶解获得的多肽的抗氧化能力显著高于胃蛋白酶组和胰蛋白酶组($P<0.05$),其还原能力、ABTS⁺和 DPPH 清除率最高达(1.17±0.004) 1.0 mg/mL、(84.82%±0.87%) 1.5 mg/mL 和(55.01%±0.01%) 1.0 mg/mL,且其 ABTS⁺和 DPPH 自由基清除率均显著高于胚芽蛋白。另外,

不同蛋白酶水解能力不同,其中胃蛋白酶的水解度最大,中性蛋白酶水解度最小,多肽的抗氧化能力与分子量大小相关,但不一定蛋白分子量越小,其抗氧化效果越好。因此,小麦胚芽蛋白在抗氧化方面具有可靠性,经中性蛋白酶酶解获得的多肽具有较好的抗氧化活性,可作为开发小麦胚芽蛋白抗氧化肽的工具酶,下一步应对多肽进行高抗氧化肽的分离鉴定,分析其在体内抗氧化活性和不同抗氧化机制方面的研究。

参考文献:

- [1] 张泽生,郭擎,高云峰,等.天然抗氧化剂的产业化进展[J].食品研究与开发,2017,38(7):206-209.
ZHANG Z S, GUO Q, GAO Y F, et al. Progress in the industrialization of natural antioxidants[J]. Food Research And Development, 2017, 38(7): 206-209.
- [2] 刘燕,杨智玲,魏法山,等.天然抗氧化剂的研究现状[J].粮油加工,2014(4):66-70.
LIU Y, YANG Z L, WEI F S, et al. Research status of natural antioxidants[J]. Cereals and Oils Processing, 2014(4): 66-70.
- [3] 阮士龙,刘利华,鲍俊旺,等.植物抗氧化剂在食品中的应用[J].现代食品,2021,27(4):88-89+92.
RUAN S L, LIU L H H, BAO J W, et al. Application of plant antioxidants in food[J]. Modern Food, 2021, 27(4): 88-89+92.
- [4] 张红玉,李会珍,张天伟,等.抗氧化肽作用机制研究进展[J].食品安全质量检测学报,2022,13(12):3981-3988.
ZHANG H Y, LI H Z, ZHANG T W, et al. Research progress on the mechanism of antioxidant polypeptides[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(12): 3981-3988.
- [5] WONG F, XIAO J, WANG S, et al. Advances on the antioxidant peptides from edible plant sources[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 99: 44-57.
- [6] TADESSE S A, EMIRE S A. Production and processing of antioxidant bioactive peptides: A driving force for the functional food market[J]. Heliyon, 2020, 6(8): e04765.
- [7] 葛毅强,蔡同一.小麦胚芽及其综合利用的研究进展[J].粮食与饲料工业,2000(8):3-6.
GE Y Q, CAI T Y. Research progress of wheat germ and its comprehensive utilization[J]. Cereal & Feed Industry, 2000(8): 3-6.
- [8] 王琪.小麦胚芽蛋白的酶解及其产物抗氧化活性研究[D].武汉:武汉工业学院,2012.
WANG Q. Study on wheat germ hydrolysis by enzyme and the antioxidant activity of hydrolysates[D]. Wuhan: Wuhan Institute of Technology, 2012.
- [9] 刘月,丑建栋,陈玥璋,等.小麦胚芽的营养功能成分及综合利用研究进展[J].食品工业科技,2022,43(12):457-467.

- LIU Y, CHOU J D, CHEN Y Z, et al. Advances on nutritional functional components and comprehensive utilization of wheat germ[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(12): 457-467.
- [10] 张弘, 温纪平. 挤压处理对小麦胚芽多酚及抗氧化性的影响研究[J]. *食品科技*, 2022, 47(2): 173-180.
- ZHANG H, WEN J P. Effect of extrusion on polyphenols and antioxidant capacity of wheat germ[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 47(2): 173-180.
- [11] 林童, 张旭, 周灯银, 等. 小麦胚芽肽的制备及抗氧化活性分析[J]. *食品工业*, 2021, 42(8): 47-52.
- LIN T, ZHANG X, ZHOU D Y, et al. The preparation and antioxidant activity analysis of wheat germ peptide[J]. *The Food Industry*, 2021, 42(8): 47-52.
- [12] 曹小舟, 陈海娟, 刘永祥, 等. 小麦胚芽抗氧化肽对高糖诱导的血管平滑肌细胞增殖的保护作用[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(17): 49-53+58.
- CAO X Z, CHEN H J, LIU Y X, et al. Protective effect of wheat germ antioxidant peptide on proliferation of vascular smooth muscle cells exposed to high glucose[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(17): 49-53+58.
- [13] LIU C, SUN Y, YANG L, et al. The hypolipidemic and antioxidant activity of wheat germ and wheat germ protein in high-fat diet-induced rats[J]. *Molecules*, 2022, 27(7): 2260.
- [14] 樊永华. 小麦胚芽油的提取及应用[J]. *食品工程*, 2012(4): 11-13.
- FAN Y H. Extraction and application of wheat germ oil[J]. *Food Engineering*, 2012(4): 11-13.
- [15] 郑志强, 李宝林, 郝利民, 等. 不同蛋白酶对小麦蛋白酶解物抗氧化活性的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(7): 161-166.
- ZHENG Z Q, LI B L, HAO L M, et al. Effect of different proteases on antioxidant activities of wheat gluten hydrolysates[J]. *Food Science*, 2017, 38(7): 161-166.
- [16] 黄越. 猴头菇抗氧化活性成分的分离纯化及结构鉴定研究[D]. 广东: 华南理工大学, 2018.
- HUANG Y. Study on the isolation, purification and structure identification of antioxidant constituents in *Hericium erinaceus*[D]. Guangdong: South China University of Technology, 2018.
- [17] 梁红敏, 任继波, 李彦奎, 等. 改良的 DPPH 与 ABTS 自由基法评价不同葡萄籽油抗氧化能力[J]. *中国粮油学报*, 2018, 33(1): 85-91.
- LIANG H M, REN J B, LI Y K, et al. Modified DPPH and ABTS assays to assess the antioxidant capacity of different grape seed oils[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2018, 33(1): 85-91.
- [18] 李培源, 彭炳华, 莫媛媛, 等. DPPH 法测定龙眼叶丙酮提取物的自由基清除能力[J]. *山东化工*, 2018, 47(21): 69-70.
- LI P Y, PENG B H, MO Y Y, et al. Radical clearance ability of acetone extract of leaf of *dimocarpus longan* lour using DPPH assay[J]. *Shandong Chemical Industry*, 2018, 47(21): 69-70.
- [19] 徐清, 李梦, 罗雪梅, 等. 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术鉴别龟甲及其混伪品[J]. *中国现代中药*, 2019, 21(9): 1251-1255.
- XU Q, LI M, LUO X M, et al. Identification of tortoise shells and counterfeit products by polyacrylamide Gel electrophoresis (SDS-PAGE)[J]. *Modern Chinese Medicine*, 2019, 21(9): 1251-1255.
- [20] 兰文忠, 冀利, 贺晓芳, 等. 冬枣汁与金丝小枣汁总酚、总黄酮含量及抗氧化性能的比较研究[J]. *食品与发酵科技*, 2021, 57(1): 90-94.
- LAN W Z, JI L, HE X F, et al. Comparative study on the contents of total phenols, flavonoids and antioxidant activity of winter jujube juice and golden-silk jujube juice[J]. *Food and Fermentation Sciences & Technology*, 2021, 57(1): 90-94.
- [21] 庞会娜, 董红影, 肖凤琴, 等. 响应面法优化葛根蛋白酶解工艺及其体外抗氧化特性分析[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(24): 197-204.
- PANG H N, D H Y, XIAO F Q, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis process of pueraria protein by response surface methodology and its antioxidant properties in vitro[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(24): 197-204.
- [22] 徐杨林, 严宏孟, 高蕾, 等. 苦杏仁醇溶蛋白酶解抗氧化肽的制备工艺优化[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(6): 201-210+192.
- XU L Y, YAN H M, GAO L, et al. Optimizing antioxidant peptide preparation using the proteolysis of the prolamins produced by *prunus dulcis* var. *amara*[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(6): 201-210+192.
- [23] 于丽娜, 孙杰, 刘少芳, 等. 花生抗氧化水解产物制备及其抗氧化活性研究[J]. *核农学报*, 2013, 27(2): 188-196.
- YU L N, SUN J, LIU S F, et al. Preparation and antioxidant activities of peanut antioxidant hydrolysate[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2013, 27(2): 188-196.
- [24] 张海芬, 高云涛, 那吉, 等. 8 种水生蔬菜清除水溶性 ABTS⁺ 自由基活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(6): 8-1+18.
- ZHANG H F, GAO Y T, NA J, et al. Scavenging activities of water-soluble ABTS⁺ free radicals from eight species of aquatic vegetables[J]. *Food Research And Development*, 2019, 40(6): 8-13+18.
- [25] 吴伟菁, 纪美茹, 李再贵. 不同苦荞蛋白酶解产物抗氧化活性研究[J]. *粮油食品科技*, 2018, 26(5): 6-10.
- WU W Q, JI M R, LI Z G. Antioxidant activity of different protein hydrolysates from tartary buckwheat[J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2018, 26(5): 6-10.
- [26] 刘慧. 桃果实酚类物质及其抗氧化功能研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- LIU H. Study on phenolic compounds and their antioxidant activities from peach fruit[D]. Beijing: China Agricultural University, 2015.
- [27] 韦献雅, 殷丽琴, 钟成, 等. DPPH 法评价抗氧化活性研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 35(9): 317-322.
- WEI X Y, YIN L Q, ZHONG C, et al. Advances in the DPPH

- radical scavenging assay for antioxidant activity evaluation[J]. Food Science and Technology, 2014, 35(9): 317-322.
- [28] 马倩, 潘梦莹, 陈秋鑫, 等. 奇亚籽蛋白酶解制备抗氧化肽的工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(3): 122-129+224.
MA Q, PAN M Y, CHEN Q L, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of chia seed protein to prepare antioxidant peptides[J]. Food Research and Development, 2021, 42(3): 122-129+224.
- [29] 于丽娜, 许婷婷, 张玉凤, 等. 蓖麻限制性酶解蛋白功能特性和抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(6): 2188-2194.
YU L N, XU T T, ZHANG Y F, et al. Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of limited hydrolysis castor bean (*Ricinus communis* L.) protein[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2015, 6(6): 2188-2194.
- [30] 王珍如, 訾阳, 杜贺阳, 等. 不同酶对羊血红蛋白酶解液抗氧化活性的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2021, 57(6): 228-232.
WANG Z R, QIAN Y, DU H Y, et al. Effect of different enzymes on the antioxidant activity of sheep hemoglobin enzyme solution[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2021, 57(6): 228-232.
- [31] WEN C, ZHANG J, ZHANG H, et al. Plant protein-derived antioxidant peptides: Isolation, identification, mechanism of action and application in food systems: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 105: 308-322.
- [32] ZHU K, ZHOU H, QIAN H. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase[J]. Process Biochemistry, 2005, 41(6): 1296-1302.
- [33] 刘妍兵, 陶阳, 苗雪, 等. 绿豆蛋白酶解物抗氧化活性与其结构、氨基酸组成的相关性[J]. 食品工业科技, 2022, 43(7): 50-58.
LIU Y B, TAO Y, MIAO X, et al. Correlation between antioxidant activity and structure and amino acid composition of protease hydrolysates from mung bean[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(7): 50-58. 

备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。