

食源性抗氧化肽的构效关系及强化方法

康记珍¹, 许承志^{2*}, 王希搏³, 汪海波^{1*}

(¹ 武汉轻工大学食品科学与工程学院 武汉 430040

² 武汉轻工大学化学与环境工程学院 武汉 430040

³ 湖北瑞邦生物科技有限公司 湖北荆州 434008)

摘要 食源性多肽因具有较高的营养价值和多种生物活性,备受研究者关注。然而,由于天然食源性多肽的来源和提取工艺受限,其抗氧化性能在实际应用中逐渐无法满足抗衰老和慢性疾病防治的需求。本文综述了食源性抗氧化多肽的来源,分析了多肽抗氧化性能与水解度、氨基酸组成及序列、分子质量及二级结构之间的构效关系,并探讨了当前多肽抗氧化性强化方法的研究现状及存在的问题。这些工作将为食源性抗氧化肽的应用和拓展提供重要支持。

关键词 食源性多肽; 构效关系; 强化方法; 抗氧化性

文章编号 1009-7848(2024)05-0465-14 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.05.039

随着生活水平的日益提高,人们越来越关注由自由基水平失衡引发的人体衰老和各种慢性疾病。抗氧化剂可以清除活性氧并提高细胞内抗氧化酶水平,帮助人体维持体内自由基平衡,从而避免过量自由基引发的氧化性损伤。当前常用的抗氧化剂一般为合成抗氧化剂,如没食子酸丙酯、叔丁基对苯二酚等,虽然效果显著,但是潜在的毒性和致癌性导致其在食品工业领域的应用受到限制^[1-3]。天然抗氧化剂,如 β -胡萝卜素、虾青素、茶多酚等,具有绿色、无毒、安全性高等优势,是当前抗氧化剂研究的热点方向。在诸多天然产物中,部分食源性多肽被发现具有较强的抗氧化性。食源性多肽是一类以食物蛋白或富含蛋白的农副产品为原料,经过酶解制成的小分子肽类混合物,具有分子质量低,易吸收,稳定性强等特点。除抗氧化活性及提供营养外,它们还兼具有抗菌性、降血糖及增强免疫力等功效,已被广泛应用于食品、医药以及护肤品等行业^[4]。

抗氧化性是食源性多肽研究最广泛的生物活性,众多学者围绕食源性抗氧化肽的资源挖掘^[5-7],提取工艺开发与优化^[8-9],分离纯化及结构解

析^[10-11],构效关系分析^[12-13]等开展了大量研究。然而,受其氨基酸序列以及提取工艺的限制^[5],食源性多肽的抗氧化性已逐渐不能满足日益增长的健康需求。近年来,众多学者在多肽抗氧化性构效关系解读的基础,尝试通过多种物理或化学方法进一步强化多肽的抗氧化性,以提升食源性抗氧化肽的实际应用价值^[14-15],现已取得一系列研究进展。孙跃如等^[16]综述了谷物抗氧化多肽的来源以及谷物多肽抗氧化性与氨基酸组成、氨基酸序列、肽构象等因素间的内在关联。Akharume 等^[17]总结了改善植物蛋白功能活性的物理、化学修饰方法,其中物理方法包括超声、超高压等,化学方法包括磷酸化、酰基化、糖基化等。

本文综述食源性抗氧化多肽的来源,多肽抗氧化性能与水解度、氨基酸组成及序列、分子质量及二级结构间的构效关系,以及多肽抗氧化性强化方法的研究现状和存在问题。

1 食源性抗氧化肽主要来源

食源性多肽根据其生产来源可分为植物源多肽和动物源多肽。植物含有丰富的蛋白质,是多肽的重要原料来源。植物源抗氧化肽主要以大豆、玉米、大米等为原料,具有温和、安全以及食用性高等特点^[18]。动物蛋白作为人类蛋白摄入的重要对象,也被广泛应用于制备抗氧化肽。动物源抗氧化肽可分为畜禽类多肽、水生生物类多肽、乳制品多肽等^[19]。

收稿日期: 2023-05-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(22178277)

第一作者: 康记珍,女,硕士生

通信作者: 许承志 E-mail: xuchengzhi@whpu.edu.cn

汪海波 E-mail: wanghaiibo@whpu.edu.cn

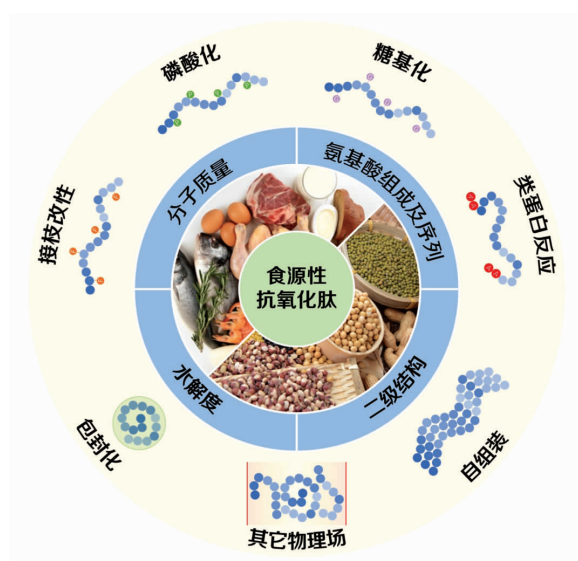


图1 食源性多肽抗氧化活性的影响因素及强化策略

Fig.1 Influencing factors and enhancement strategies for the antioxidant activity of food-derived peptides

1.1 植物源抗氧化肽

植物源抗氧化肽主要来源于豆类、玉米和大米等高产量的农作物。豆类中含有较多的蛋白质,是目前研究最广泛的原料。绿豆多肽中分子质量<3 ku的组分对DPPH·清除能力可达(89.64±0.24)%。进一步分离纯化得到的Trp-Gly-Asn、Arg-Gly-Trp-Tyr-Glu被证明对·OH清除率大于谷胱甘肽,并且具有良好的调节细胞内抗氧化性的能力^[20]。大豆多肽早已被证明具有较好的抗氧化性^[18],近年研究发现,以发芽大豆为原料,所提取的大豆多肽具有更高的抗氧化性,这为制备豆类抗氧化肽提供了新思路^[21]。玉米中含有较为丰富的抗氧化氨基酸,如亮氨酸、丙氨酸与缬氨酸等。Wang等^[22]研究发现玉米多肽可以较好地清除细胞内的ROS(活性氧),可作为食源性抗氧化肽的重要来源。碎米作为大米加工中产生的副产物,其直接应用价值较低,将其水解后得到的碎米蛋白多肽被证明具有较强的体外抗氧化活性,并且可以有效地抑制细胞体内活性氧的积累,是碎米高价值化利用的理想途径^[23]。

1.2 动物源抗氧化肽

来源于动物蛋白的多肽种类丰富,其中乳制

品多肽研究应用较为广泛。Waili等^[24]在新鲜马乳中分离出抗氧化肽组分,其铁离子还原能力可达到88.75%。动物实验表明,马乳抗氧化肽可使大鼠体内的丙二醛水平下降,还可促进大鼠自身抗氧化肽的分泌量增加。陈晨^[25]通过水解酪蛋白得到AA和BB 2种不同类型的多肽,并进行了抗氧化性比较。结果表明,AA型β-酪蛋白多肽中0~3 ku组分具有最强的抗氧化性,铁离子还原能力可达380 μmol/L FeSO₄在食品加工领域具有良好的应用前景。

禽畜来源的多肽也有大量的研究报道。Ao等^[26]的研究采用胰蛋白酶和链霉菌蛋白酶酶解猪皮,制备的猪皮胶原肽表现出良好的抗氧化活性,抗亚油酸氧化能力可达(85.28±0.83)%。吴立国^[27]采用碱性蛋白酶对羊血浆蛋白进行酶解,得到羊血浆蛋白肽,氨基酸组成结果分析显示,酶解后天冬氨酸、谷氨酸以及甘氨酸等疏水氨基酸增加,其中分子质量<5 ku的多肽具有较强的抗氧化性,对DPPH·的清除率可达75%以上。

海洋生物种类繁多,其蛋白的氨基酸组成及序列与陆地生物蛋白存在显著差异,因此海洋生物源多肽的开发是抗氧化肽新资源挖掘的重要方向^[19]。如,碱性蛋白酶酶解制得的海参蛋白肽显示出较高的抗氧化活性,当肽质量浓度为5 mg/mL时,DPPH·清除能力可达68.27%^[28]。Guo等^[29]的研究采用木瓜蛋白酶酶解制备海马多肽,在优化制备条件时发现,在pH 6.0、反应体系温度60℃、酶用量2 000 U/g、料液比1:15的条件下水解40 min获取的产物具有最高的抗氧化活性,其DPPH·清除能力可达88.45%。

食源性抗氧化肽的原料来源非常广泛,研究者们围绕原料来源、酶解工艺、分离纯化等方向开展了大量的工作,表1总结了部分食源性抗氧化肽的来源、采用的酶以及部分抗氧化肽的氨基酸序列。然而,在实际应用过程中,天然食源性多肽的抗氧化性受其氨基酸组成及酶解工艺限制,已逐渐不能满足日益增长的实际应用需求。因此,解析多肽抗氧化性的构效关系,并以此为基础开发多肽抗氧化性的强化方法是当前本领域研究的重要方向。

表 1 食源性抗氧化肽的来源及抗氧化肽序列

抗氧化肽来源		采用的酶	抗氧化肽序列	参考文献
植物	大豆	碱性蛋白酶	VVFVDRL、VIYVVDLR	[30]
	豆粕	碱性蛋白酶、中性蛋白酶	QAL、KAI	[31]
	燕麦	碱性蛋白酶	IRIPIL、LIGRPIIY	[32]
	玉米	风味蛋白酶、碱性蛋白酶	CSQAPLA、YPKLAPNE	[33]
动物	骆驼乳	胃蛋白酶、胰酶	RGLHPVPQ	[34]
	鸭胚蛋	胰蛋白酶	TVDGPSGKLWRD	[35]
	黄鱼	中性蛋白酶	SRCH、PEHW	[36]
	血蛤	碱性蛋白酶、中性蛋白酶	EPLSD、WLDPDG	[37]

2 多肽抗氧化构效关系

构效关系分析可以为抗氧化肽的优化制备、筛选分离以及强化改性提供重要的理论指导,是抗氧化肽研究的重要方向。大量研究数据表明,多肽的抗氧化活性与其水解度、氨基酸组成和序列、分子质量以及二级结构等因素密切相关。

2.1 水解度

在实际生产中,控制多肽水解度可调节多肽抗氧化活性。Zhang 等^[38]通过发酵制得不同水解度的花生肽,结果表明产物的抗氧化性随其水解度的提高呈现出增强的趋势,产物氨基酸组成分析表明,这是由于蛋白质中的抗氧化氨基酸残基随着水解度的提高逐步被释放出来。Liu 等^[39]采用木瓜蛋白酶对羊绒胃蛋白进行水解,同样发现产物的抗氧化性随水解度提高而增强。

另一方面,过度水解也会导致部分具有抗氧化功能的序列被破坏^[40]。Yarnpakdee 等^[41]采用不同酶制备罗非鱼鱼肉肽,发现产物抗氧化性随水解度的变化呈现出不同的变化趋势,碱性蛋白酶及风味蛋白酶制备产物的抗氧化性均随水解度升高而增强,而风味蛋白酶制备的不同水解度产物,其铁离子还原能力没有显著差异。Yi 等^[42]采用碱性蛋白酶获得不同水解度下的鱼皮胶原肽,结果显示中等水解度的肽比高水解度肽具有更高的 ABTS⁺清除活性。

目前已有较多研究证实,水解度与抗氧化性间并非简单的线性相关。水解度升高往往会伴随着更多的抗氧化氨基酸暴露,使产物的抗氧化性得到提升,而过度水解也会破坏一些抗氧化序列,导致抗氧化性的下降。因此,进行适当水解才能获

取具有较高抗氧化活性的产物。

2.2 氨基酸组成和序列

氨基酸组成及序列作为多肽的一级结构在多肽抗氧化活性的发挥中起到至关重要的作用。在氨基酸组成方面,目前研究发现,在多肽中发挥抗氧化作用的氨基酸主要有以下几类:芳香族氨基酸、疏水性氨基酸、酸性氨基酸、碱性氨基酸以及半胱氨酸^[43]。

抗氧化性氨基酸所占比例不同,多肽抗氧化性表现出显著差异。Damgaard 等^[44]研究显示,脂质氧化抑制活性与 His、Glu 呈现正相关关系,ABTS⁺清除活性则与 Arg、Met、Tyr 以及 Trp 含量相关。Yao 等^[45]的研究发现,不同工艺生产的肽其·OH 清除率不同,氨基酸组成分析表明抗氧化性差异主要来源于抗氧化氨基酸组成差异,总疏水氨基酸占比以及精氨酸含量较高的产物具有较高·OH 清除活性。

另一方面,在相似的氨基酸组成下,氨基酸序列不同,多肽的抗氧化性亦会存在显著差异。其中,以肽链末端氨基酸的影响尤为重要,例如,以 Tyr 和 Trp 取代 C 末端的 Lys,可以显著提高多肽的 ABTS⁺清除率和铁还原活性^[46]。在末端氨基酸相同的情况下,在肽链中增加特定的氨基酸序列也会影响抗氧化性能,如在多肽中增加 Gln-Pro 或 Pro-Gln 结构单元,可显著提高 DPPH·清除活性^[47],这是由于氨基酸之间的联合作用对抗氧化性能的强化。

氨基酸组成对多肽抗氧化性的影响主要源自抗氧化性氨基酸的含量以及比例,而氨基酸间的搭配和特定的序列在多肽抗氧化功能的实现中也

不容忽视。目前,关于后者的研究相对较少,且对氨基酸间联合作用的研究还未深入开展。

2.3 分子质量

一般而言,分子质量较小的多肽具有较高的抗氧化能力,这是由于较短的肽链可以暴露出更多的抗氧化氨基酸。同时在生物体摄入时,小分子肽更易被吸收利用,从而发挥出更高的抗氧化作用。Xie等^[48]采用超滤分离牛胶原蛋白肽,不同抗氧化活性测试的结果均显示分子质量小的组分具有更高的抗氧化性。Liu等^[49]关于绵羊皱胃蛋白多肽的研究中得到了相似的结论,分子质量最小(<3 ku)的组分表现出最好的自由基清除率。在小分子肽链的抗氧化活性测试中,亦发现分子质量小的 Trp-Tyr 的抗氧化活性大于 Trp-Tyr-Ser^[50]。

需注意的是,大量研究结果表明,分子质量最小的游离氨基酸并不都会表现出最优良的抗氧化性。这是因为氨基酸处于游离状态时,大部分氨基酸不具有抗氧化性,只有 Trp、Try、Cys 等少数几种氨基酸具有一定的抗氧化性^[44]。如 Gly-His 表现出比单独的 Gly、His 的更高的·OH 清除活性^[43]。因此,与水解度相关的研究结果类似,在大范围划分分子质量区域时,虽然趋向于小分子肽具有更高的抗氧化活性,但不能单纯凭借分子质量大小判断产物抗氧化性强弱,分子质量过小往往意味着过度水解以和抗氧化氨基酸序列的破坏。

2.4 二级结构

二级结构的不同亦会导致多肽抗氧化性的差异。研究发现,多肽折叠的空间构象对其抗氧化活性的呈现有较大的影响,甚至高于氨基酸组成、氨基酸序列以及肽链长度的影响^[51]。多肽的抗氧化性会随其二级结构的转变而改变。Yuan等^[52]的研究表明当多肽中 α -螺旋/ β -结构较少时,其抗氧化性呈现出增强的趋势,而当 β -折叠转变为 β -转角再转变为无规则卷曲时,其抗氧化性显著下降,无规则卷曲构象并不利于多肽抗氧化性的呈现。Jiang等^[53]的研究显示出相同的结果,即抗氧化活性较好的肽段中 α -螺旋以及无规则卷曲含量较少。Yang等^[54]研究发现抗氧化性的变化与 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角的直接相关性较低,而与无规则卷曲的含量呈显著的负相关关系,当无规则卷曲含量减少时,其抗氧化性显著增强。

目前关于二级结构对多肽抗氧化性影响机理的研究仍然较少,其影响机制也还未深入解析。然而,多肽折叠方式对其抗氧化性的显著影响,提示采用适宜的物理手段调控多肽的折叠构象,可在不影响多肽化学结构的前提下,获得更高的抗氧化性。

3 强化多肽抗氧化性的方法

在构效关系研究的基础上,众多学者围绕如何强化多肽的抗氧化活性开展了一系列的研究工作。目前,强化多肽抗氧化性的方法主要可分为化学方法和物理方法,化学方法是通过化学键将基团或者化学物质连接到多肽分子中,从而增强多肽的抗氧化性。物理方法则是通过非化学反应调控多肽的折叠构象,或对多肽的抗氧化活性位点施以保护或富集,以达到提高抗氧化性的目的^[17]。

3.1 化学方法

化学方法可以高效地、有针对性地将目标基团结合到多肽上,进而强化多肽的抗氧化活性,可沿用诸多比较成熟的蛋白质改性方法,常见的主要有糖基化、类蛋白反应、磷酸化、接枝等方法。

3.1.1 糖基化 多肽的糖基化修饰是将亲水的糖类物质通过共价键连接到肽分子中,可以提高多肽的生物活性释放程度^[55-56],糖基化修饰主要有2个途径:美拉德反应和酶法。

美拉德反应是羰基化合物和氨基化合物之间的反应,主要涉及赖氨酸的 ϵ -氨基、精氨酸的胍基、半胱氨酸的巯基、组氨酸的咪唑基、色氨酸的吲哚基或氨基酸的N-末端氨基与还原糖的羰基之间形成的共价键^[17,57]。例如,蛋白质的天冬酰胺残基与葡萄糖发生糖基化反应,可将葡萄糖连接到天冬酰胺的N端(图2)。在美拉德反应过程中生成的还原酮、类黑精和挥发性杂环化合物是产物抗氧化性提高的重要原因^[58]。Chen等^[59]在100℃的温度条件下,利用鱼鳞肽与木糖的美拉德反应制得糖基化鱼鳞肽,结果显示糖基化后鱼鳞肽的ABTS⁺清除能力和抗亚油酸氧化能力均有显著提高。He等^[60]的研究将杜蛎肉肽与葡萄糖混合进行美拉德反应,抗氧化测定结果证明美拉德反应可以提高肽的抗氧化活性。

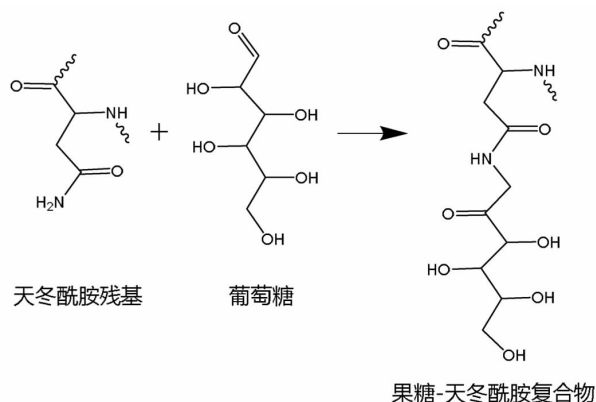


图 2 蛋白质的天冬酰胺残基和葡萄糖之间的糖基化反应的机理^[17]

Fig.2 Mechanism of glycosylation reaction between asparagine residues of protein and glucose^[17]

在美拉德反应过程中还原糖种类是影响反应产物抗氧化性的重要因素。Jiang 等^[61]采用木糖、乳糖、果糖等与蟹壳多肽发生美拉德反应,抗氧化测定结果显示添加果糖的效果最好。Habinshuti 等^[62]研究比较了木糖、阿拉伯糖糖基化的甘薯多肽的抗氧化性,结果发现木糖糖基化对甘薯多肽的抗氧化性的提高效果更好。

酶法是用特异性酶催化多肽与氨基糖结合,对比传统美拉德反应,具有反应特异性强、反应条件温和、产物安全性高的优点。Gottardi 等^[63]研究采用转谷氨酰胺酶在 37 °C 条件下,将谷蛋白肽与葡萄糖胺进行偶联,结果发现,偶联产物的抗氧化性能显著增强。Hong 等^[64]在 25 °C、转谷氨酰胺酶存在的条件下,采用葡萄糖胺对鱼皮肤进行糖基化,结果显示,糖基化的肽表现出更强的抗亚油酸氧化性以及细胞抗氧化性。这些研究表明温和条件下酶促糖基化或可替代传统高温美拉德反应强化多肽的抗氧化性。

通过糖基化改善多肽的抗氧化活性是一个越来越受关注的研究方向,在实际应用过程中高温处理的美拉德反应常伴随有毒有害物质以及不良气味的生成,难以满足绿色、健康的高品质需求^[65-66]。反应条件温和的酶法可以较好地避免副产物的生成,因此继续开发酶促糖基化提高多肽的抗氧化性无疑拥有更大的应用前景,而酶法的强化效果还有待进一步提高。

3.1.2 类蛋白反应 类蛋白反应 (Plastein reaction)是指在合适的条件下,利用蛋白酶诱导高浓度的多肽通过缩合、转肽或物理聚集等作用,形成新蛋白(沉淀或凝胶状物质)的反应,属于聚合酶法修饰。在类蛋白反应中,可添加外源性氨基酸使其连接到多肽中,以提高多肽的抗氧化性^[67-68]。戚莉佳等^[69]采用苯丙氨酸、酪氨酸及色氨酸这 3 种氨基酸对酪蛋白肽进行类蛋白反应修饰,发现 3 种氨基酸修饰产物的抗氧化性均得到了显著提高,其中色氨酸修饰对多肽抗氧化性的提高效果最好。Zhao 等^[70]研究了苯丙氨酸对酪蛋白多肽抗氧化活性的提升效果,并采用对照试验证实使修饰物具有更好的抗氧化性能的不是物理添加的抗氧化氨基酸,而是类蛋白反应。

除了上述添加外源氨基酸的类蛋白反应修饰外,多肽也可在不添加外源氨基酸的情况下,通过蛋白酶诱导多肽间发生类蛋白反应,强化多肽的抗氧化性。Zhao 等^[71]以大豆多肽为底物,采用碱性蛋白酶催化其发生类蛋白反应,达到改善大豆多肽的抗氧化性能的目的。吴丹等^[72]采用木瓜蛋白酶对酪蛋白多肽进行类蛋白反应修饰,结果证明类蛋白反应产物的抗氧化活性有显著提升。

类蛋白反应的修饰机理较为复杂,涉及缩合、转肽反应以及物理聚集等多种作用,目前尚未透彻解析。Li 等^[73]研究了猪血红蛋白的类蛋白反应,并探究其改性机理,发现肽键和二硫键在类蛋白反应中并没有起到关键性作用,疏水相互作用在类蛋白中则占主导地位,多肽间的物理聚集可能是多肽抗氧化性能提升的主要原因。

类蛋白反应作为一种酶法修饰技术,具有无需添加任何有机溶剂或化学试剂的优点,在改善多肽功能性方面拥有巨大的潜力^[74],然而目前对于类蛋白反应的反应修饰机理还未进行深入研究和探讨,需进一步探明类蛋白反应中特殊的修饰机理,以便针对性地选择蛋白酶或外源氨基酸补充物,以提高类蛋白的反应效率,降低成本,满足工业化生产的需求。

3.1.3 磷酸化 在生物体内,蛋白质磷酸化是由蛋白质激酶催化的磷酸基转移反应,在细胞信号转导过程中起重要作用^[75]。体外磷酸化修饰则是蛋白改性的重要方法之一,在多肽修饰改性中也

有较多应用,以偏磷酸钠与丝氨酸残基反应为例,原理如图3所示,磷酸根取代了多肽支链上的羟

基^[76],导致多肽抗氧化性的变化。

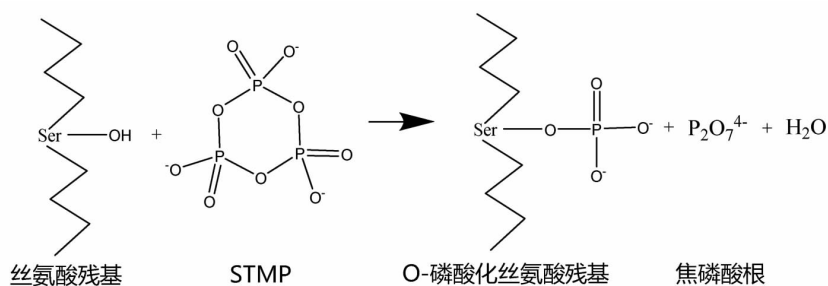


图3 三偏磷酸钠与丝氨酸残基的磷酸化机制^[17]

Fig.3 Phosphorylation mechanism of sodium trimetaphosphate and serine residues^[17]

Luo 等^[77]研究了磷酸化修饰对鱼骨胶原肽抗氧化性的影响,结果显示,磷酸化后鱼骨胶原肽的 DPPH·清除能力显著增强,由 58.27% 提高至 68.17%,说明磷酸化可作为强化多肽抗氧化性的有效手段。此外,磷酸化是一种比较稳定的修饰多肽的手段,具有普遍适用性,其它修饰手段或者水解与其联合处理不易破坏磷酸化对多肽抗氧化性的提高^[78]。研究还发现磷酸化除对多肽支链的修饰作用外,还会对多肽的折叠构象产生影响。Qiu 等^[79]研究发现磷酸化会将未折叠的类胶原肽单链向折叠的三螺旋结构转变,进而改变其抗氧化性。

磷酸化可以与其它修饰手段复合处理,能够更大幅度地强化多肽的抗氧化性,而利用磷酸化提升多肽抗氧化性的研究还不够全面,其抗氧化活性强化机理尚未深入。

3.1.4 接枝 接枝改性是通过化学反应将其它物质或者官能团与多肽分子链相结合的改性方法。多肽上的反应基团,如氨基、羧基、羟基、胍基等,都可以用于接枝改性^[80]。Chotphruethipong 等^[81]的研究发现,鱼皮肽与表儿茶素没食子酸酯(EGCG)偶联物表现出比未处理鱼皮肽更高的抗氧化性活性,证明了偶联物抗氧化活性的增加与 EGCG 中羟基含量的增加密切相关。Yang 等^[82]的研究中采用咖啡酸与 β -乳球蛋白多肽片段偶联,原理如图4所示,咖啡酸经过一系列变化再与多肽上的氨基反应得到咖啡酸-多肽衍生物(CA-MHIR),亚油酸过氧化抑制试验证实其具有良好的抗氧化

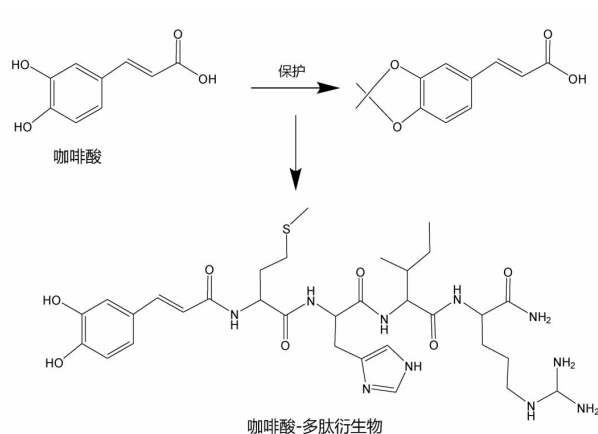


图4 咖啡酸-多肽衍生物合成过程图^[82]

Fig.4 Synthesis process diagram of caffeic acid-polypeptide derivatives^[82]

性。对于相同的官能团或化合物,一般而言,较高接枝率的产物往往具有更好的抗氧化性。Li 等^[83]研究发现,随着咖啡酸对鱼骨胶原肽的接枝率越高,其·OH清除率越高。

总体而言,接枝改性是一种高效、简单且灵活性强的多肽修饰方法,不仅可以强化多肽的抗氧化性,而且能根据需求对多肽的生物活性进行“订单式”的“改造”,而非蛋白组分的掺入可能会引起多肽毒性提高,且存在操作成本较高等亟需解决的问题。

3.2 物理方法

相对化学方法,物理方法可在不改变多肽本身氨基酸序列的情况下提高其抗氧化性,具有产物安全性高、操作简单等优点,常用的方法主要有

包封化、自组装等^[84]。

3.2.1 包封化 在食品以及医药等实际应用过程中,多肽往往会出现加工、运输或使用过程中就被氧化降解,导致抗氧化活性降低和生物利用率低等问题,因此在抗氧化多肽的生产中选用合适的壁材将多肽包封化,是强化多肽抗氧化性的重要途径之一^[85-86]。Yekta 等^[87]研究发现采用大豆磷脂酰胆碱与胆固醇包埋藜麦蛋白肽组成藜麦蛋白肽纳米脂质体,可以更有效地抑制汉堡样品中过氧化物水平的提高,显示纳米微胶囊包封可以显著提高抗氧化肽的抗氧化性能。Nasri 等^[88]以壳聚糖为壁材负载虾虎鱼肽制成微胶囊,对比未包封的虾虎鱼肽和包封的虾虎鱼肽的 DPPH·清除活性,发现包封的虾虎鱼肽表现出更高的抗氧化性。

选用合适的壁材和包封工艺,可显著提高包封多肽的抗氧化性。很显然,壁材种类、包封方法的选择尤为重要,将在很大程度上决定产物抗氧化活性的提升效果。da Rosa Zavareze 等^[89]研究采用磷脂酰胆碱包封黄花鱼肉多肽,结果显示包封化未能显著增强黄花鱼肉多肽的抗氧化性。Tkaczewska 等^[90]在研究中发现呋喃纤维素壁材会阻碍鲤鱼皮多肽的释放,导致其抗氧化活性降低。

总体而言,包封化在保护多肽抗氧化活性方面有巨大的潜力。然而,不同壁材与多肽之间相互作用,不同包封工艺对多肽抗氧化活性的影响,实际应用过程中多肽的释放等问题都还需进一步探索。

3.2.2 自组装 自组装是指在没有人干预的情况下,物质自发聚集形成有序结构的现象,在能源、生物医学和纳米技术等领域均有广泛的应用。对于多肽,自组装可以改变其二级结构,富集或暴露出更多的抗氧化活性部位,从而提高多肽的抗氧化性^[91-92]。

自组装可以分为自发型自组装和触发型自组装^[91]。Ma 等^[93]研究发现,在水溶液中,松子四肽 Val-Leu-Leu-Tyr (VLLY) 和海参五肽 Lys-Asp-His-Cys-His (KDHCH) 可自发组装成多肽 VLLY~KDHCH, 2 种不同的多肽结合后,将使活性氢位点增加,从而强化多肽抗氧化性能。触发型自组装则是通过改变体系的 pH 值、离子浓度、温度等诱导多肽间的自组装。Pugliese 等^[94]研究将磷酸盐缓冲

液滴加到羽扇豆肽样品中,通过改变环境的离子浓度来诱导羽扇豆肽自组装,得到具有抗氧化性的羽扇豆肽水凝胶,而且在不同离子浓度下获得的产物具有明显不同的抗氧化活性,这为可定制抗氧化活性自组装多肽的制备提供了一种全新的思路。

多肽自组装可避免外源非蛋白物质的掺入,使得产物具有较高的安全性,而食源性多肽序列的多样性可为抗氧化肽自组装产物的设计与构建提供丰富的样本^[95]。因此,利用多肽间的自组装创制具有优异生物活性的多肽制品,是多肽类产品创制升级的重要思路。然而,目前多肽自组装的研究和应用仍处于起步阶段,进展缓慢,主要是缺乏准确预测和控制多肽自组装的技术手段,且存在纯化以及成本过高等技术瓶颈^[96]。

3.2.3 其它 除了上述方法外,超声、热以及脉冲电场等技术也被用于强化多肽的抗氧化性。Liu 等^[97]研究发现超声辅助条件下的美拉德反应产物的 DPPH·清除能力高于未超声的美拉德反应产物。红外光谱显示超声通过改变产物多肽的二级结构而引起抗氧化性变化。Yuan 等^[52]采用不同程度热处理酸奶肽,使酸奶肽中 α -螺旋/ β -结构降低,从而提升酸奶肽的 ABTS·清除活性以及脂质过氧化抑制能力。Zhang 等^[98]采用脉冲电场处理多肽 VNAVLH,产物多肽的抗氧化性有显著提高。去除 C 端的组氨酸后,不同强度的脉冲电场处理却未能提升其抗氧化性,说明脉冲电场处理对多肽抗氧化性的提升可能不具有普适性。

通过简单的物理场强化多肽的抗氧化性,虽然可以避免外源物质的掺入及生成,但整体强化效率仍然较低,限制了其应用范围,目前一般作为其它修饰方法的辅助手段^[99]。

4 结语

食源性抗氧化肽被广泛应用于食品、医药以及保健品行业,具有很大的发展潜力。然而,随着学者对食源性多肽提取工艺的系统研究,食源性多肽的提取工艺日趋成熟,产品同质化问题已逐渐成为影响行业发展的瓶颈。传统水解法制备的食源性多肽,其抗氧化活性主要取决于原料来源、酶解工艺等,其抗氧化性已逐渐不能满足日益增

长的健康需求。因此,充分挖掘抗氧化性-多肽结构间的构效关系,再通过一系列物理化学方法,进一步提高食源性多肽的抗氧化活性,实现食源性多肽产品的升级,已经成为当前研究的热点课题。

近年来,抗氧化性的构效关系已取得一定的研究进展。大量研究数据表明,水解度、氨基酸组成及序列、分子质量及二级结构是影响多肽抗氧化性的重要因素,更多的抗氧化氨基酸暴露、特定的氨基酸搭配及序列、多肽折叠构象及聚集状态是提升多肽抗氧化性的关键。然而,目前关于一级结构对于抗氧化活性的影响研究较多,二级和三级结构对多肽抗氧化性的影响仍缺乏系统探究,与此同时,构效关系内在机理研究也还需进一步深入。

在构效关系研究的基础上,对抗氧化活性强化方法研究也取得了一定的成效,已经开发出糖基化、类蛋白反应等一系列强化方法。其中,糖基化、类蛋白反应、磷酸化等化学方法可高效地提高多肽的抗氧化性,却存在副产物复杂、成本较高、安全性较低等问题,而包封化、自组装等物理方法虽然强化效果相对较低,但未改变多肽的化学结构,具有安全性高等优点。目前,大部分强化改性研究仍停留在对修饰方法的开发、优化以及有效性验证上,多肽抗氧化性的强化机理还需进一步探究。深入阐释抗氧化性强化的相关机制不仅可为强化的实际应用提供理论,还可其它强化技术的开发提供新的思路,是当前抗氧化肽领域的重要方面。

参 考 文 献

- [1] 张强,李伟华. 抗氧化肽的研究现状[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(2): 298-304.
ZHANG Q, LI W H. Research progress of antioxidant peptides[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(2): 298-304.
- [2] KIM M R. Antioxidants of natural products[J]. Antioxidants, 2021, 10(4): 612-615.
- [3] 姚强. 食用油脂中合成抗氧化剂的检测分析研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(15): 5104-5110.
YAO Q. Advance in the detection and analysis of synthetic antioxidants inedible oils and fats[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(15): 5104-5110.
- [4] FENG L, WANG Y, YANG J, et al. Overview of the preparation method, structure and function, and application of natural peptides and polypeptides[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 153: 113493.
- [5] 张江涛,冯晓文,秦修远,等. 海洋蛋白低聚肽的抗氧化与降血压作用[J]. 中国食品学报, 2020, 20(11): 63-70.
ZHANG J T, FENG X W, QIN X Y, et al. Antioxidation and blood pressure lowering effects of marine protein oligopeptides[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(11): 63-70.
- [6] WONG F C, 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.
- [7] HUSSEIN F A, CHAY S Y, ZAREI M, et al. Whey protein concentrate as a novel source of bi-functional peptides with angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant properties: RSM study[J]. Foods, 2020, 9(1): 64.
- [8] 刘静波,王子秦,于一丁,等. 响应面法优化豆粕肽制备工艺[J]. 中国食品学报, 2021, 21(8): 216-223.
LIU J B, WANG Z Q, YU Y D, et al. Optimization of preparation technology of soybean meal peptides by response surface methodology[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(8): 216-223.
- [9] HE L, GAO Y F, WANG X Y, et al. Ultrasonication promotes extraction of antioxidant peptides from oxhide gelatin by modifying collagen molecule structure[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 78: 105738.
- [10] 刘文颖,冯晓文,李国明,等. 牡蛎低聚肽的结构表征及体外抗氧化作用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(12): 261-269.
LIU W Y, FENG X W, LI G M, et al. Structure characterization and antioxidant effects *in vitro* of oyster oligopeptides[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(12): 216-223.
- [11] REN L K, FAN J, YANG Y, et al. Identification, *in silico* selection, and mechanism study of novel

- antioxidant peptides derived from the rice bran protein hydrolysates[J]. *Food Chemistry*, 2023, 408: 135230.
- [12] JIA X Y, ZHU M F, ZHANG L, et al. Extraction optimization and screening of antioxidant peptides from grass carp meat and synergistic-antagonistic effect[J]. *Food Science & Nutrition*, 2022, 10(5): 1481-1493.
- [13] 杨保军, 梁琪, 宋雪梅. 牦牛乳硬质干酪苦味肽 RK7 的抗氧化活性及其机制[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(8): 40-50.
- YANG B J, LIANG Q, SONG X M. Antioxidant activity and mechanism of yak milk hard cheese bitter peptide RK7[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2022, 22(8): 40-50.
- [14] 包显颖, 陈丽, 倪姮佳, 等. 抗氧化多肽研究及其应用前景[J]. *生命科学*, 2016, 28(9): 998-1005.
- BAO X Y, CHEN L, NI H J, et al. The research and application of the natural antioxidant peptides[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2016, 28(9): 998-1005.
- [15] KEENAN E K, ZACHMAN D K, HIRSCHHEY M D. Discovering the landscape of protein modifications[J]. *Mol Cell*, 2021, 81(9): 1868-1878.
- [16] 孙跃如, 林桐, 赵吉春, 等. 谷物源抗氧化肽: 制备、构效及应用[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(10): 299-305.
- SUN Y R, LIN T, ZHAO J C, et al. Antioxidant peptides from cereals: Preparation, structure-activity and application[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(10): 299-305.
- [17] AKHARUME F U, ALUKO R E, ADEDEJI A A. Modification of plant proteins for improved functionality: A review[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(1): 198-224.
- [18] WANG W Q, LIU Z C, LIU Y J, et al. Plant polypeptides: A review on extraction, isolation, bioactivities and prospects[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 207: 169-178.
- [19] 张丰文, 董超, 周丽亚, 等. 抗氧化多肽来源、提取及检测的研究进展[J]. *生物技术*, 2021, 31(1): 96-103, 64.
- ZHANG F W, DONG C, ZHOU Y L, et al. Research progress of antioxidant peptides[J]. *Biotechnology*, 2021, 31(1): 96-103, 64.
- [20] XIA J A, SONG H D, HUANG K, et al. Purification and characterization of antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of mungbean protein[J]. *Food Science*, 2020, 85(6): 1735-1741.
- [21] VERNAZA M G, DIA V P, DE MEJIA E G, et al. Antioxidant and antiinflammatory properties of germinated and hydrolysed Brazilian soybean flours[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(4): 2217-2225.
- [22] WANG L Y, DING L, YU Z P, et al. Intracellular ROS scavenging and antioxidant enzyme regulating capacities of corn gluten meal-derived antioxidant peptides in HepG2 cells[J]. *Food Research International*, 2016, 90: 33-41.
- [23] REN L K, FAN J, YANG Y, et al. Enzymatic hydrolysis of broken rice protein: Antioxidant activities by chemical and cellular antioxidant methods[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 8: 788078.
- [24] WAILI Y, GAHAFU Y, AOBULITALIFU A, et al. Isolation, purification, and characterization of antioxidant peptides from fresh mare's milk[J]. *Food Science and Nutrition*, 2021, 9(7): 4018-4027.
- [25] 陈晨. 水牛 β -酪蛋白 AA 和 BB 亚型酶解产物抗氧化性比较及活性肽分离[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
- CHEN C. Comparison of antioxidant activity of β -casein AA and BB subtype hydrolysates and isolation of antioxidant peptides from buffalo milk[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020.
- [26] AO J, LI B. Amino acid composition and antioxidant activities of hydrolysates and peptide fractions from porcine collagen[J]. *Food Science and Technology International*, 2012, 18(5): 425-434.
- [27] 吴立国. 羊血浆蛋白肽抗氧化功能评价与应用[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018.
- WU L G. Evaluation of antioxidant function and application of sheep plasma peptides[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018.
- [28] SAFARI R, YAGHOUBZADEH Z. Antioxidant activity of bioactive peptides extracted from sea cucumber (*Holothuria leucospilata*) [J]. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 2020, 26(4): 2393-2398.
- [29] GUO Z B, LIN D Q, GUO J J, et al. *In vitro* antioxidant activity and *in vivo* anti-fatigue effect of sea horse (hippocampus) peptides [J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 482-493.
- [30] QIAO Z Z, XIAO H T, YANG L, et al. Purifica-

- tion and characterization of antioxidant peptides from alcalase-hydrolyzed soybean (*Glycine max* L.) hydrolysate and their cytoprotective effects in human intestinal Caco-2 cells[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(20): 5772-5781.
- [31] DA SILVA CROZATTI T T, MIYOSHI J H, TONIN A P P, et al. Obtaining of bioactive di- and tripeptides from enzymatic hydrolysis of soybean meal and its protein isolate using alcalase and neutrase[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2023, 58(3): 1586-1596.
- [32] MA S, ZHANG M L, BAO X L, et al. Preparation of antioxidant peptides from oat globulin[J]. *CyTA - Journal of Food*, 2020, 18(1): 108-115.
- [33] JIN D X, LIU X L, ZHENG X Q, et al. Preparation of antioxidative corn protein hydrolysates, purification and evaluation of three novel corn antioxidant peptides[J]. *Food Chemistry*, 2016, 204: 427-436.
- [34] HOMAYOUNI -TABRIZI M, ASOODEH A, SOLTANI M. Cytotoxic and antioxidant capacity of camel milk peptides: Effects of isolated peptide on superoxide dismutase and catalase gene expression[J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2017, 25(3): 567-575.
- [35] HE Y, BU L J, XIE H D, et al. Characteristics of antioxidant substances and identification of antioxidant peptides in duck embryo eggs[J]. *British Poultry Science*, 2022, 63(6): 779-787.
- [36] ZHANG N N, ZHANG C, CHEN Y Y, et al. Purification and characterization of antioxidant peptides of *Pseudosciaena crocea* protein hydrolysates [J]. *Molecules*, 2016, 22(1): 57-68.
- [37] YANG X R, QIU Y T, ZHAO Y Q, et al. Purification and characterization of antioxidant peptides derived from protein hydrolysate of the marine bivalve mollusk *Tergillarca granosa* [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(5): 251-267.
- [38] ZHANG Y W, ZHANG H, WANG L, et al. Influence of the degree of hydrolysis (DH) on antioxidant properties and radical-scavenging activities of peanut peptides prepared from fermented peanut meal[J]. *European Food Research and Technology*, 2011, 232(6): 941-950.
- [39] LIU B, AISA H A, YILI A. Isolation and identification of two potential antioxidant peptides from sheep abomasum protein hydrolysates [J]. *European Food Research and Technology*, 2018, 244(9): 1615-1625.
- [40] CHAN W K M, DECKER E A, LEE J B, et al. EPR spin-trapping studies of the hydroxyl radical scavenging activity of carnosine and related dipeptides[J]. *Food Chemistry*, 1994, 42(7): 1407-1410.
- [41] YARNPAKDEE S, BENJAKUL S, KRISTINSSONH G, et al. Antioxidant and sensory properties of protein hydrolysate derived from *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*) by one- and two-step hydrolysis [J]. *Food Science Technology*, 2015, 52(6): 3336-3349.
- [42] YI J R, DE GOBBA C, SKIBSTED L H, et al. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activity of bioactive peptides produced by enzymatic hydrolysis of skin from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *International Journal of Food Properties*, 2016, 20(5): 1129-1144.
- [43] LIU R, XING L J, FU Q Q, et al. A review of antioxidant peptides derived from meat muscle and by-products [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2016, 5(3): 1-15.
- [44] DADMGAARD T, LAMETSCH R, OTTE J. Antioxidant capacity of hydrolyzed animal by-products and relation to amino acid composition and peptide size distribution [J]. *Food Science Technology*, 2015, 52(10): 6511-6519.
- [45] YAO H L, YANG J N, ZHAN J J, et al. Preparation, amino acid composition, and *in vitro* antioxidant activity of okra seed meal protein hydrolysates [J]. *Food Science and Nutrition*, 2021, 9(6): 3059-3070.
- [46] MIRDAMADI S, MIRZAEI M, SOLEYMANZADEH N, et al. Antioxidant and cytoprotective effects of synthetic peptides identified from *Kluyveromyces marxianus* protein hydrolysate: Insight into the molecular mechanism [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2021, 148: 1-10.
- [47] BAMDAD F, AHMED S, CHEN L Y. Specifically designed peptide structures effectively suppressed oxidative reactions in chemical and cellular systems [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 18(1): 35-46.
- [48] XIE Z K, WANG X G, YU S Y, et al. Antioxidant and functional properties of cowhide collagen

- peptides[J]. Food Science, 2021, 86(5): 1802–1818.
- [49] LIU Q X, YANG M, ZHAO B T, et al. Isolation of antioxidant peptides from yak casein hydrolysate[J]. RSC Advance, 2020, 10(34): 19844–19851.
- [50] HERNÁNDEZ-LEDESMA B, AMIGO L, RECIO I, et al. ACE-inhibitory and radical-scavenging activity of peptides derived from β -lactoglobulin f (19–25) interactions with ascorbic acid[J]. Food Chemistry, 2007, 55(9): 3392–3397.
- [51] MA Y K, WU Y Y, LI L B. Relationship between primary structure or spatial conformation and functional activity of antioxidant peptides from *Pinctada fucata*[J]. Food Chemistry, 2018, 264(1): 108–117.
- [52] YUAN H N, LV J M, GONG J Y, et al. Secondary structures and their effects on antioxidant capacity of antioxidant peptides in yogurt[J]. International Journal of Food Properties, 2018, 21(1): 2167–2180.
- [53] JIANG Y, ZHANG M D, LIN S Y, et al. Contribution of specific amino acid and secondary structure to the antioxidant property of corn gluten proteins[J]. Food Research International, 2018, 105(1): 836–844.
- [54] YANG R W, LI X F, LIN S Y, et al. Identification of novel peptides from 3 to 10 kDa pine nut (*Pinus koraiensis*) meal protein, with an exploration of the relationship between their antioxidant activities and secondary structure[J]. Food Chemistry, 2017, 219(1): 311–320.
- [55] 王晓杰, 刘晓兰, 石彦国. 玉米肽的酶法糖基化修饰及产物溶解性的研究[J]. 中国油脂, 2019, 44(11): 70–74.
- WANG X J, LIU X L, SHI Y G. Enzymatic glycosylation of corn peptide and solubility glycosylated product[J]. Chinese Oil and Fats, 2019, 44(11): 70–74.
- [56] 冯燕英, 牟代臣, 祁文磊, 等. 蛋白质糖基化接枝改性研究进展[J]. 食品与机械, 2019, 35(2): 190–195.
- FENG Y Y, MOU D C, QI W L, et al. Research progress on grafting modification of protein glycosylation[J]. Food and Machinery, 2019, 35(2): 190–195.
- [57] AKILLIOĞLU H G, GÖKMEN V. Kinetic evaluation of the inhibition of protein glycation during heating[J]. Food Chemistry, 2016, 196(1): 1117–1124.
- [58] 张强, 刘昊, 马玉涵, 等. 美拉德反应改性蛋白质/肽的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(18): 306–313.
- ZHANG Q, LIU H, MA Y H, et al. Advances in protein / peptide modification by Maillard reaction[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(18): 306–313.
- [59] CHEN X, FANG F, WANG S Y. Physicochemical properties and hepatoprotective effects of glycated snapper fish scale peptides conjugated with xylose via maillard reaction[J]. Food and Chemical Toxicology, 2020, 137(1): 111–115.
- [60] HE S, CHEN Y N, BRENNAN C, et al. Antioxidative activity of oyster protein hydrolysates Maillard reaction products[J]. Food Science Nutrition, 2020, 8(7): 3274–3286.
- [61] JIANG W, LIU Y, YANG X Q, et al. Antioxidant and antibacterial activities of modified crab shell bioactive peptides by Maillard reaction[J]. International Journal of Food Properties, 2019, 21(1): 2730–2743.
- [62] HABINSHUTI I, ZHANG M, SUN H N, et al. Effects of ultrasound - assisted enzymatic hydrolysis and monosaccharides on structural, antioxidant and flavour characteristics of Maillard reaction products from sweet potato protein hydrolysates[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2021, 56(11): 6086–6099.
- [63] GOTTARDI D, HONG P K, NDAGIJIMANA M, et al. Conjugation of gluten hydrolysates with glucosamine at mild temperatures enhances antioxidant and antimicrobial properties[J]. LWT – Food Science and Technology, 2014, 57(1): 181–187.
- [64] HONG P K, GOTTARDI D, NDAGIJIMANA M, et al. Glycation and transglutaminase mediated glycosylation of fish gelatin peptides with glucosamine enhance bioactivity[J]. Food Chemistry, 2014, 142(1): 285–293.
- [65] NAIK R R, WANG Y, SELOMULYA C. Improvements of plant protein functionalities by Maillard conjugation and Maillard reaction products[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 61(6): 889–915.
- [66] O'MAHONY J A, DRAPALA K P, MULCAHY E

- M, et al. Controlled glycation of milk proteins and peptides: Functional properties[J]. *International Dairy Journal*, 2017, 67(1): 16–34.
- [67] 朱磊, 张馨心, 谢艳英, 等. 类蛋白反应的作用机制及其对海洋源蛋白修饰的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(9): 362–367.
- ZHU L, ZHANG X X, XIE Y Y, et al. Research progress on mechanism of plastein reactions and its modification function of marine proteins [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(9): 362–367.
- [68] UDENIGWE C C, WU S, DRUMMOND K, et al. Revisiting the prospects of plastein: Thermal and simulated gastric stability in relation to the antioxidative capacity of casein plastein[J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(1): 130–135.
- [69] 戚莉佳, 庞佳楠, 马春敏, 等. 酪蛋白水解物的类蛋白反应修饰产物的分离纯化及其抗氧化活性研究[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(5): 91–96.
- QI L J, PANG J N, MA C M, et al. Separation and purification of modified casein hydrolysates using plastein reaction and their antioxidant activities[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2017, 33(5): 91–96.
- [70] ZHAO X H, FU Y, YUE N. *In vitro* cytoprotection of modified casein hydrolysates by plastein reaction on rat hepatocyte cells[J]. *CyTA – Journal of Food*, 2013, 12(1): 40–47.
- [71] ZHAO X H, SONG J T. Evaluation of antioxidant properties in vitro of plastein–reaction–stressed soybean protein hydrolysate[J]. *International Journal of Food Properties*, 2013, 17(1): 152–162.
- [72] 吴丹, 李铁晶, 赵新淮. 酪蛋白水解物的酶法修饰优化与抗氧化活性改善[J]. *农业机械学报*, 2010, 41(1): 139–145.
- WU D, LI T J, ZHAO X H. Enzymatic modification of casein hydrolysates by plastein reaction and improvement in antioxidant activity[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2010, 41(1): 139–145.
- [73] LI Q, FU Y, ZHANG L T, et al. Plastein from hydrolysates of porcine hemoglobin and meat using alcalase and papain[J]. *Food Chemistry*, 2020, 320(1): 1–9.
- [74] 王再扬, 曹玉惠, 赵元晖, 等. 类蛋白反应修饰的牡蛎肽锌结合物的生物利用性[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(3): 46–51.
- WANG Z Y, CAO Y H, ZHAO Y H, et al. Bioavailability of oyster–derived zinc binding peptide modified by plastein reaction[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(3): 46–51.
- [75] 梁前进, 王鹏程, 白燕荣. 蛋白质磷酸化修饰研究进展[J]. *科技导报*, 2012, 30(31): 73–79.
- LIANG Q J, WANG P C, BAI Y R. Summarization on the progress in protein phosphorylation[J]. *Science and Technology Guide*, 2012, 30(31): 73–79.
- [76] HU Z Y, QIU L, SUN Y, et al. Improvement of the solubility and emulsifying properties of rice bran protein by phosphorylation with sodium trimetaphosphate[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 96(1): 288–299.
- [77] LUO J Q, YAO X T, SOLADOYE O P, et al. Phosphorylation modification of collagen peptides from fish bone enhances their calcium–chelating and antioxidant activity [J]. *LWT – Food Science and Technology*, 2022, 155: 1–9.
- [78] YIN C Y, YANG L, ZHAO H, et al. Improvement of antioxidant activity of egg white protein by phosphorylation and conjugation of epigallocatechin gallate[J]. *Food Research International*, 2014, 64(1): 855–863.
- [79] QIU Y M, POPPLETON E, MEKKAT A, et al. Enzymatic phosphorylation of Ser in a type I collagen peptide[J]. *Biophysical Journal*, 2018, 115(12): 2327–2335.
- [80] 杨俊晖. 胶原化学改性研究进展[J]. *云南化工*, 2018, 45(9): 1–3.
- YANG J H. Progress in chemical modification of collagen[J]. *Yunnan Chemical Technology*, 2018, 45(9): 1–3.
- [81] CHOTPHRUETHIPONG L, SUKKETSIRI W, BATTINO M, et al. Conjugate between hydrolyzed collagen from defatted seabass skin and epigallocatechin gallate (EGCG): Characteristics, antioxidant activity and *in vitro* cellular bioactivity[J]. *RSC Advances*, 2021, 11(4): 2175–2184.
- [82] YANG J K, LEE E, HWANG I J, et al. Beta–lactoglobulin peptide fragments conjugated with caffeic acid displaying dual activities for tyrosinase inhibition and antioxidant effect[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2018, 29(4): 1000–1005.

- [83] LI X Q, LEI Z, SHENG J, et al. Preparation and properties of caffeic-chitosan grafting fish bone collagen peptide[J]. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 2021, 36(5): 414-430.
- [84] 张亚飞, 逢欣雨, 叶张靖, 等. 胶原蛋白改性方法与应用[J]. *渔业研究*, 2020, 42(2): 185-194.
ZHANG Y F, PANG X Y, YE Z J, et al. collagen modification methods and application[J]. *Journal of Fisheries Research*, 2020, 42(2): 185-194.
- [85] 吴琦. 抗氧化蛋清肽脂质的制备及其产品的研发[D]. 长春: 吉林大学, 2018.
WU Q. Preparation and antioxidant egg white peptide and development of their products[D]. Changchun: Jilin University, 2018.
- [86] MOHAN A, MCCLEMENTS D J, UDENIGWE C C. Encapsulation of bioactive whey peptides in soy lecithin-derived nanoliposomes: Influence of peptide molecular weight[J]. *Food Chemistry*, 2016, 213(1): 143-148.
- [87] YEKTA M M, REZAEI M, NOURI L, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of burgers with quinoa peptide - loaded nanoliposomes[J]. *Journal of Food Safety*, 2020, 40(2): 1-10.
- [88] NASRI R, HAMDI M, TOUIR S, et al. Development of delivery system based on marine chitosan: Encapsulation and release kinetic study of antioxidant peptides from chitosan microparticle[J]. *International Journal Biological Macromolecules*, 2021, 167(1): 1445-1451.
- [89] DA ROSA ZAVAREZE E, TELLES A C, MELLO EL HALAL S L, et al. Production and characterization of encapsulated antioxidative protein hydrolysates from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) muscle and byproduct[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2014, 59(2): 841-848.
- [90] TKACZEWSKA J, JAMRÓZ E, PIĄTKOWSKA E, et al. Furcellaran-coated microcapsules as carriers of *Cyprinus carpio* skin-derived antioxidant hydrolysate: An *in vitro* and *in vivo* study[J]. *Nutrients*, 2019, 11(10): 2502-2517.
- [91] 张晨羽, 李雪, 钱海, 等. 自组装多肽在生物医药领域的研究进展[J]. *中国药科大学学报*, 2015, 46(2): 250-256.
- ZHANG C Y, LI X, QIAN H, et al. Self-assembled peptides: Insights and biomedicine applications[J]. *Journal of China Pharmaceutical University*, 2015, 46(2): 250-256.
- [92] 任涵, 李茹祥, 陈志坚, 等. 自组装多肽的修饰方法及其应用[J]. *有机化学*, 2021, 41(10): 3983-3994.
- REN H, LI R X, CHEN Z J, et al. Modification methods and applications of self-assembly peptides[J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2021, 41(10): 3983-3994.
- [93] MA C, JU H P, ZHAO Y, et al. Effect of self-assembling peptides on its antioxidant activity and the mechanism exploration[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 125(1): 1-35.
- [94] PUGLIESE R, ARNOLDI A, LAMMI C. Nanostructure, self-assembly, mechanical properties, and antioxidant activity of a lupin-derived peptide hydrogel[J]. *Biomedicines*, 2021, 9(3): 294-305.
- [95] MIRZAEI M, MIRDAMADI S, SAFAVI M, et al. The stability of antioxidant and ACE-inhibitory peptides as influenced by peptide sequences[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 130: 1-9.
- [96] CHEN H M, CAI X X, CHENG J, et al. Self-assembling peptides: Molecule-nanostructure-function and application on food industry[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 120(1): 212-222.
- [97] LIU L, LI X D, DU L L, et al. Effect of ultrasound assisted heating on structure and antioxidant activity of whey protein peptide grafted with galactose[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 109(1): 130-136.
- [98] ZHANG S Y, DONG L, BAO Z J, et al. C-terminal modification on the immunomodulatory activity, antioxidant activity, and structure-activity relationship of pulsed electric field (PEF)-treated pine nut peptide[J]. *Foods*, 2022, 11(17): 1-14.
- [99] ZHAO S L, HUANG Y, MCCLEMENTS D J, et al. Improving pea protein functionality by combining high-pressure homogenization with an ultrasound-assisted Maillard reaction[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 126: 1-12.

Structure–activity Relationship and Strengthening Methods of Food–derived Antioxidant Peptides

Kang Jizhen¹, Xu Chengzhi^{2*}, Wang Xibo³, Wang Haibo^{1*}

(¹School of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430040

²School of Chemical and Environmental Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430040

³Hubei Rui Bang Biotechnology Co., Ltd., Jingzhou 434008, Hubei)

Abstract Food–derived peptides have attracted considerable attention from researchers due to their high nutritional value and diverse bioactivities. However, limitations in the natural sources and extraction processes of food–derived peptides have led to their antioxidant capabilities gradually falling short of meeting the demands for anti–aging and the prevention of chronic diseases in practical applications. This paper reviewed the sources of food–derived antioxidant peptides, analyzed the structure–activity relationships between peptide antioxidant properties and factors such as hydrolysis, amino acid composition and sequence, molecular weight, and secondary structure. Additionally, the current research status and existing issues of methods to enhance the antioxidant properties of peptides were discussed. These efforts will provide crucial support for the application and expansion of food–derived antioxidant peptides.

Keywords food–derived peptides; structure–activity relationship; strengthening method; antioxidant activity