

抗氧化活性肽的研究进展*

Research Progress of Antioxidative Peptides

蒋海萍^{1,2}, 廖丹葵^{2**}, 童张法²

JIANG Hai-ping^{1,2}, LIAO Dan-kui², TONG Zhang-fa²

(1. 广西科学院, 非粮生物质酶解国家重点实验室, 国家非粮生物质能源工程技术研究中心, 广西生物质产业化工程院, 广西生物质炼制重点实验室, 广西南宁 530007; 2. 广西大学化学化工学院, 广西南宁 530004)

(1. Guangxi Academy of Science, State Key Laboratory of Non-food Biomass and Enzyme Technology, National Engineering Research Center for Non-food Biorefinery, Guangxi Biomass Industrialization Engineering Institute, Guangxi Key Laboratory of Biorefinery, Nanning, Guangxi, 530007, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530004, China)

摘要:研究表明,不少疾病的起因与自由基有关,而抗氧化活性肽可有效清除体内过剩的活性氧自由基,保护细胞和线粒体的正常结构和功能,在预防治疗自由基诱发的疾病和抗衰老方面有着广阔的应用前景。食品工业通过添加具有抗氧化活性的物质可以增加食品体系的稳定性。本文综述抗氧化活性肽的不同来源、活性检测方法、作用机理、应用前景及面临的一些问题,以期为后续的相关研究提供参考。

关键词: 抗氧化肽 自由基 抗氧化活性

中图分类号:TS201.2 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2015)01-0060-05

Abstract: Recent researches indicated that many of the cause of disease are related to free radical. Antioxidative peptides can effectively scavenge the excess reactive oxygen species (ROS) in living organisms, so that normal cell and mitochondria function are protected. They possess a broad prospect in the prevention and treatment of diseases and aging that induced by ROS. Meanwhile, the stability of food system can be improved through adding antioxidants. In this paper, the source of antioxidative peptides, detection method of antioxidant activity, antioxidant mechanism and application prospect were summarized, and also the problems in the development were previewed, which could provide reference for subsequent research.

Key words: antioxidative peptides, free radical, antioxidative activity

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20150126.007

收稿日期:2014-10-20

修回日期:2014-10-25

作者简介:蒋海萍(1986-),女,博士,主要从事功能活性物质提取研究。

* 广西自然科学基金项目(2012GXSFDA53004),化工资源有效利用国家重点实验室开放基金项目(CRE-2012-C-202)和广西理工中心项目(LGZX201208)资助。

** 通讯作者:廖丹葵(1967-),女,博士,教授,博士研究生导师,主要从事生物化工、精细化工方面的研究, E-mail:ldk1101@sina.com。

0 引言

自从1956年Harman提出自由基理论^[1]以来,人们逐渐认识到人的衰老和许多疾病与体内物质氧化产生的自由基有关^[2]。自由基是指含有一个或多个未配对电子的分子、原子、基团或离子,化学性质活泼,反应性极强,容易反应生成稳定分子。在需氧生物体的新陈代谢过程中会不断地产生各种自由基,并作为代谢产物排泄到人体内环境中。同时,人体内的

酶促氧化还原反应中,黄嘌呤氧化酶、过氧化物酶和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶等均可以诱导产生大量的自由基中间产物。这些自由基被称为内源性自由基,主要有氧自由基和氮自由基两种。其中活性氧自由基(ROS)以超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)、羟基自由基($\cdot OH$)、脂自由基($ROO \cdot$)为代表,而氮氧化物($NO \cdot$)为活性氮类自由基(reactive nitrogen species, RNS)。外源性自由基则是由高温、紫外线照射、电子辐射作用、环境污染、某些食品或药物成分及体内微量元素和维生素的缺乏等因素引起的,会促进体内自由基数的增加。

正常情况下,生物机体内的自由基不断生成,同时也存在着由内源性抗氧化剂(谷胱甘肽等)和抗氧化酶(超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化物酶等)组成的防御系统,用于维持正常的氧自由基的代谢平衡,使得氧自由基的产生和清除处于动态平衡,保护机体不受自由基的伤害。然而,当内源性或外源性刺激促使机体代谢异常而骤然产生大量活性氧自由基,或机体的抗氧化物与氧化剂之间的平衡失常时,就会导致氧化应激^[3],严重的情况会造成氧化损伤,导致生物膜受损、蛋白质变性和DNA链的破坏等,使整个代谢系统遭到破坏,从而影响机体健康。大量研究表明,许多器官功能异常或组织病变都与体内活性氧自由基含量的增加有关,如心脏病、中风、动脉硬化、糖尿病和癌症等。这些疾病可大致分为两类,一类是以氧化强化剂改变硫醇或二硫化物氧化还原状态并削弱葡萄糖耐受性为特征,包括线粒体氧化应激下的疾病,如癌症和糖尿病;另一类是由炎症氧化应激和NADPH氧化酶活性增高导致(如动脉硬化和慢性炎症),或由黄嘌呤氧化酶诱导ROS形成的与缺血再灌注损伤有关的疾病,而衰老在更大程度上是自由基对细胞成分的有害攻击造成的^[4]。

因此,我们需要寻求外源性抗氧化剂来清除体内过多的自由基,以维持机体的健康。同时,在食品加工行业中,热、光敏过渡金属、金属蛋白和辐射都会引起脂质过氧化,造成产品的质量如颜色、气味、组织结构甚至营养成分的变化,加速并导致食品变质。也可以通过添加具有抗氧化活性物质的方法来增加食品体系的稳定性。人工合成的抗氧化剂如2,6-二叔羟基对甲酚(BHT)、丁基羟基茴香醚(BHA)、特丁基对苯二酚(TBHQ)和没食子酸(PG)等虽然具有较强的抗氧化作用,但由于其对人体存在潜在的致畸、致癌作用而被限制或禁止使用^[5]。而天然抗氧化剂具有高效、无毒且安全等优点,因此人们逐渐将目光转向

从自然界寻求天然抗氧化剂。

目前,国内外开发研究的天然抗氧化剂主要有香料提取物、茶多酚类、天然黄酮类、维生素类、蛋白质和酶类、植酸和一些中草药提取物等。其中,许多研究发现食物蛋白质中也存在具有抗氧化活性的肽序列,其活性往往高于蛋白质和氨基酸,运用酶工程技术可将其释放出来。因此,食物蛋白源抗氧化肽因其低毒、高效、安全和结构特殊等特点,已成为新型功能食品和保健品开发的一种极具潜力的基料。

1 抗氧化活性肽的分类

1.1 陆地生物蛋白源抗氧化活性肽

按照来源,抗氧化活性肽可分为人工合成抗氧化活性肽、天然抗氧化活性肽和蛋白降解产生的抗氧化活性肽3种^[6]。其中,合成抗氧化活性肽是以氨基酸或小肽为原料,采用固液相合成或在合成酶的催化作用下定向合成。天然抗氧化活性肽是指生物体内天然存在的抗氧化活性肽,主要有肌肽和谷胱甘肽,能够抑制体内脂质过氧化反应、阻断自由基链反应,是生物体内重要的自由基清除剂。

目前应用较广的抗氧化活性肽是酶法水解蛋白质制备的,依据取材可分为陆地生物活性肽和海洋生物活性肽。其中,陆地生物活性肽大多来源于大豆蛋白、乳蛋白、麦胚蛋白、玉米蛋白和一些动物蛋白等(表1)。

1.2 海洋生物蛋白源抗氧化活性肽

海洋生物种类繁多,为了适应恶劣的生活环境条件,如高压、高盐、低温、低照和寡营养等,海洋生物一般具有多样性、复杂性和特殊性等特点,从而产生了与陆地生物不同的代谢系统和机体防御系统,其氨基酸组成和序列也与陆地生物有很大的不同。随着生物活性物质研究范围的增大和研究技术的提高,越来越多的海洋生物活性多肽被发掘出来。海洋生物活性肽主要来源于两大类:天然存在于海洋生物中的活性肽和海洋蛋白酶解产生的活性肽^[7]。目前,一些海洋生物包括海鞘、海葵、芋螺、海星、海藻、鱼贝类等均已被发现体内存在天然生物活性肽。研究表明,海洋蛋白源活性肽的生理活性主要体现在抗肿瘤、降血压、降血脂、抗氧化、免疫调节、抗病毒、抗菌和抗过敏等方面。其中,海洋生物蛋白源抗氧化活性肽可通过各种途径清除内源性和外源性自由基,且具有抗氧化作用强、种类多、结构复杂、副作用低等特点,人们已从牡蛎、金枪鱼、鱿鱼等海洋生物中分离鉴定出大量抗氧化活性肽(表2)。

表 1 陆地食物蛋白源抗氧化活性肽

Table 1 Antioxidative peptides derived from terrestrial food protein hydrolysates

Protein	Protease	Evaluation of antioxidant activity	Peptide sequence
Casein ^[8]	Pepsin	O ₂ ⁻ ·, ·OH, DPPH· scavenging activity	YFYPEL
Rice endosperm protein ^[9]	Neutral protease	O ₂ ⁻ ·, ·OH, DPPH· scavenging activity, lipid peroxidation	FRDEHKK, KHNRGDEF
Soybean β-conglycinin ^[10]	Protease S	Lipid peroxidation	VIPAGYP
Egg white albumin ^[11]	Amano S	Lipid peroxidation	AHK, VHH, VHHANEN
Lecithin-free egg yolk ^[12]	Alkaline protease	Lipid peroxidation and in cultured human liver cells	LMSYMWSTSM, LELHKLRSWWFSRR
Wheat gluten ^[13]	Pepsin	Lipid peroxidation	LQPGQGQQG, AQIPQQ
Zein ^[14]	Alkaline protease	O ₂ ⁻ ·, DPPH·, ABTS scavenging activity	YA, LMCH
Porcine myofibrillar proteins ^[15]	Papain	DPPH· scavenging activity, metal ion chelation, lipid peroxidation	DSGVT, DAQEKLE, IEAEGE, EELDNLN,
Algae protein ^[16]	Pepsin	O ₂ ⁻ ·, ·OH, DPPH·, ABTS scavenging activity	VECYGPNRPQF
Bullfrog skin ^[17]	Alkaline protease	O ₂ ⁻ ·, ·OH, DPPH·, H ₂ O ₂ scavenging activity, lipid peroxidation	LEELEEELEGCE
Grass carp ^[18]	Alkaline protease	·OH scavenging activity, lipid peroxidation	PSKYEPFV

表 2 海洋蛋白源抗氧化活性肽

Table 2 Antioxidative peptides from marine proteins

Peptide sequence	Source of protein
RPDFPLEPPY	Yellowfin sole ^[19]
LKQELEDLLEKQE	Oyster ^[20]
FGHPY	Blue mussel ^[21]
VKAGFAWTANEELS	Tuna back bone protein ^[22]
FDSGPAGVL	Fish skin gelatin ^[23]
LPHSGY	Alaska pollack ^[24]
IKK, FKK, FIKK	Prawn ^[25]
LGLNGDDVN	Conger eel ^[26]
LLGPGLTNHA	Marine rotifer ^[27]
HDHPVC, HEKVC	Round scad ^[28]

2 抗氧化活性检测方法

抗氧化剂是指在低浓度条件下能显著抑制或阻止底物被氧化的物质。机体内可被氧化的物质包括脂类、蛋白质、糖和 DNA。由于生物体内存在多个抗氧化系统、多种自由基和抗氧化剂,而且抗氧化反应复杂多样。因此需要采用多种测定方法来综合考察筛选抗氧化剂。根据抗氧化物质的作用机理可以将抗氧化方法分为基于单电子转移和氢原子转移两种。

2.1 基于单电子转移法 (SET)

基于 SET 法主要用于测定抗氧化物的还原能力,通过提供一个电子给金属离子、醛酮类化合物或自由基来实现,如下所示^[29]: $X \cdot + AH \rightarrow X^{-} + AH^{+} \cdot$; $AH^{+} \cdot + H_2O \rightarrow A \cdot + H_3O^{+}$; $H_3O^{+} + X^{-} \rightarrow XH + H_2O$; $AH + M^{3+} \rightarrow AH^{+} + M^{2+}$

基于 SET 法的抗氧化活性主要基于反应官能团的去质子化和离子化势能而测定得到^[30]。因此, SET 反应与 pH 值密切相关。一般而言,离子化势能随着 pH 值的增加而减弱,与此同时,抗氧化物质

的供电子能力增强。基于 SET 法是以测定氧化还原能力为基础的方法,大多操作简单快速。但是由于其反应缓慢,需要的反应时间较长,因此通常采用清除百分比来表示物质的抗氧化能力。主要包括以下测定方法:1)总酚估计法(FC);2)当量抗氧化能力(TEAC)法;3)铁离子还原能力(FRAP)法;4)DPPH 自由基清除能力法;5)ABTS 自由基清除能力法;6)Cu²⁺ 还原能力法。

2.2 基于氢原子转移法 (HAT)

基于氢原子转移法(HAT)主要测定抗氧化物提供氢原子给自由基以猝灭自由基的能力,如式(1)所示。



同时,被广泛应用于生物体系和食品行业中的活性氧自由基清除能力测定方法包括:1)超氧阴离子自由基(O₂⁻·)清除能力;2)羟自由基(·OH)清除能力;3)过氧化氢(H₂O₂)清除能力等方法。金属离子螯合能力法也常被用于间接测定物质的抗氧化能力。

这些体外抗氧化活性检测方法各有利弊,不能只用一种方法作为标准方法,在具体应用时需考虑不同机理的方法(HAT 和 SET)和不同自由基清除的方法。

3 抗氧化活性肽的抗氧化作用机制

抗氧化活性肽的抗氧化机理主要表现为 4 个方面:1)提供氢原子型;2)自由基吸收剂或清除剂;3)螯合金属离子型;4)疏水性氨基酸的脂肪烃侧链可以有效的抑制脂质过氧化^[31]。

一般来说,生物活性肽的特定生理功能与其分子

结构中的氨基酸数量、组成、排列顺序及分子构象密切相关。目前,已研究发现抗氧化肽的活性大小主要与肽序列中的疏水性氨基酸、酸性氨基酸、抗氧化性氨基酸及肽分子结构有关。疏水性氨基酸能够增加抗氧化肽在油脂中的溶解度,其脂肪烃侧链能够与脂肪分子发生某种相互作用,从而延缓或阻断脂质过氧化反应链,保护脂质体系和膜质的完整,起到抗氧化作用。由于酸性氨基酸的侧链羧基具有供氢作用,可以整合金属离子以钝化其氧化作用,从而减弱自由基链反应,达到抗氧化效果。

抗氧化性氨基酸酪氨酸(Tyr)、蛋氨酸(Met)、组氨酸(His)、赖氨酸(Lys)、色氨酸(Trp)、半胱氨酸(Cys)等^[32]以单个氨基酸形式存在时也具有一定的抗氧化活性,但往往其活性要远低于由其组成的抗氧化活性肽,这可能是由于肽链内氨基酸间的短程相互作用,强化了其与自由基之间的作用。同时,多肽的抗氧化活性还受肽链的长度、末端氨基酸组成及周围环境 pH 值等因素的影响。然而到目前为止有关抗氧化活性肽的构效关系和作用机制还不清楚,有待进一步研究。

4 抗氧化活性肽的分离纯化

在蛋白质和肽类的提取分离中,较常用的分离技术主要有膜分离技术(微滤、超滤、纳滤)、离子交换色谱、凝胶过滤法、亲和色谱、反相高效液相色谱和毛细管电泳等。其中每种方法都是利用被分离物质的某些理化性质来达到分离纯化的目的(表 3)。实际应用中,常常需要采用多种分离方法对目标产物进行分级分离以取得良好的分离效果。

表 3 蛋白质和多肽分离技术

Table 3 Purification methods of protein and peptide

Separation method	The principle and application of separation
Microfiltration	0.1 to 1.0 μm of microns particles, suspended solids and bacteria are intercepted based on pressure difference. It is used for coarse separation before ultrafiltration.
Ultrafiltration	It is usually used for the concentration of big molecule protein between 1.0 and 500 kDa.
Nanofiltration	It is usually used for separation of oligopeptides and amino acids (0.2~1.0 kDa), and also the removal of salt ions.
Ion exchange chromatography	Purification of polypeptides based on the electric properties and charge.
Gel filtration chromatography	Screening according to the molecular weight.
Affinity chromatography	Separation according to the specific affinity between polypeptide and ligands.
Reversed high performance liquid chromatography	Purification of small molecule peptide (< 5.0 kDa) based on the hydrophobicity.
Capillary electrophoresis	A separation method according to the electric charge and electric field migration in solution.

5 展望

随着人们对机体和食品体系氧化反应重视程度的增加,抗氧化活性肽已被广泛用于食品工业、化妆品工业和医药工业。在食品加工行业中,食源性抗氧化活性肽被用于肉类、海鲜类、乳类、水果蔬菜类食品及饮料等加工。还在化妆品行业中用于减缓皮肤的衰老及化妆品自身的氧化和褪色。医药行业中,抗氧化活性肽可作为功能因子用于开发保健品和抗氧化药物。然而,目前国内外对于抗氧化活性肽的研究尚停留在实验室阶段,对抗氧化肽的活性评价多采用体外检测方法,缺少相对应的体内活性临床验证。此外,越来越多的抗氧化活性肽序列片段被分离鉴定出来,但是整个分离纯化过程复杂,耗时耗力,且蛋白回收率不高。因此探索新型快速并能大规模制备生物活性肽的方法已成为当今食品研究开发亟需解决的问题。针对新发现的肽序列,往往由于时间关系和所得样品量的限制,未能进行肽段活性验证及其构效关系研究,从而无法实现对其作用机制的深入研究,阻碍了商品化进程。因此,随着生物工程技术的发展,开发制备高活性的抗氧化活性肽并实现产业化生产将具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Harman D. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry [M]. Berkeley: University of California Radiation Laboratory, 1955.
- [2] Najafian L, Babji A S. A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: Their production, assessment, and applications [J]. Peptides, 2011, 33: 178-185.
- [3] Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: General properties and effect of hyperbaric oxygen [J]. Biochemical Journal, 2003, 134: 707-716.
- [4] 黎观红, 晏向华. 食物蛋白源生物活性肽 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.
Li G H, Yan X H. Food Protein Source of Bioactive Peptides [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010.
- [5] 阎果兰, 靳利娥. 食品中抗氧化剂的发展趋势 [J]. 山西食品工业, 2005, 3: 20-22.
Yan G L, Jin L E. The development trend of antioxidant in the food [J]. Shanxi Food Industry, 2005, 3: 20-22.
- [6] 王瑞雪, 孙洋, 钱方. 抗氧化肽及其研究进展 [J]. 食品科技, 2011, 36(5): 83-86.
Wang R X, Sun Y, Qian F. Antioxidant peptides and research advance [J]. Food Science and Technology, 2011, 36(5): 83-86.
- [7] 王导, 朱翠凤. 海洋生物活性肽的生理活性研究进展 [J]. 医学综述, 2011, 17(5): 661-663.

- Wang D,Zhu C F. The development of biological activity research of marine biological activity peptide [J]. Medical Recapitulate,2011,17(5):661-663.
- [8] Suetsuna K,Ukeda H,Ochi H. Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein [J]. Journal of Nutritional Biochemistry,2000,11:128-131.
- [9] Zhang J H,Zhang H,Wang L,et al. Isolation and identification of antioxidative peptides from rice endosperm protein enzymatic hydrolysate by consecutive chromatography and MALDI -TOF/TOF MS/MS [J]. Food Chemistry,2010,119:226-234.
- [10] Chen H M,Muramoto K,Yamauchi F. Structural analysis of antioxidative peptides from soybean β -conglycinin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1995,43:574-578.
- [11] Tsuge N,Eikawa Y,Namura Y,et al. Antioxidative activity of peptides prepared by enzymic hydrolysis of egg white albumin [J]. Nippon Nogeikagaku Kaishi,1991,65:1635-1641.
- [12] Park P J,Jung W K N,Shahidi F,et al. Purification and characterization of antioxidative peptides from lecithin-free egg yolk [J]. Journal of American Oil Chemists Society,2001,78:651-656.
- [13] Suetsuna K,Chen J R. Isolation and characterization of peptides with antioxidant activity derived from wheat gluten [J]. Food Science and Technology Research,2002,8:227-230.
- [14] Tang X,He Z,Dait Y,et al. Peptide fractionation and free radical scavenging activity of zein [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2010,58:587-593.
- [15] Saiga A,Tanabe S,Nishimura T. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2003,51:3661-3667.
- [16] Sheih I C,Wu T K,Fang T J. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems [J]. Bioresource Technology,2009,100:3419-3425.
- [17] Qian Z J,Jung W K, Kim S K. Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide purified from hydrolysate of bullfrog skin, *Rana catesbeiana* Shaw [J]. Bioresource Technology,2008,99:1690-1698.
- [18] Ren J,Zhao M,Shi J,et al. Purification and identification of antioxidant peptides from grass carp hydrolysates by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry [J]. Food Chemistry,2008,108:727-736.
- [19] Jun S Y,Park P J,Jung W K,et al. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein [J]. European Food Research Technology,2004,219:20-26.
- [20] Qian Z J,Jung W K,Byun H G,et al. Protective effect of an antioxidative peptide purified from gastrointestinal digests of oyster, *Crassostrea gigas* against free radical induced DNA damage [J]. Bioresource Technology,2008,99:3365-3371.
- [21] Jung W K,Rajapakse N, Kim S K. Antioxidative activity of a low molecular weight peptide derived from the sauce of fermented blue mussel, *Mytilus edulis* [J]. European Food Research Technology,2005,220:535-539.
- [22] Je J Y,Qian Z J,Byun H G,et al. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna back bone protein by enzymatic hydrolysis [J]. Process Biochemistry,2007,42:840-846.
- [23] Mendis E,Rajapakse N, Kim S K. Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2005,53:581-587.
- [24] Je J Y,Park P J, Kim S K. Antioxidant activity of a peptide isolated from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate [J]. Food Research International,2005,38(1):45-50.
- [25] Suetsuna K. Antioxidant peptides from the protease digest of prawn (*Penaeus japonicus*) muscle [J]. Marine Biotechnology,2000,2:5-10.
- [26] Ranathunga S,Rajapakse N, Kim S K. Purification and characterization of antioxidative peptide derived from muscle of conger eel (*Conger myriaster*) [J]. European Food Research Technology,2006,222:310-315.
- [27] Byun H G, Lee J K, Park H G, et al. Antioxidant peptides isolated from the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis* [J]. Process Biochemistry,2009,44:842-846.
- [28] Jiang H P, Tong T Z, Sun J H, et al. Purification and characterization of antioxidative peptides from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle protein hydrolysate [J]. Food Chemistry,2014,154:158-163.
- [29] Gülciniş. Antioxidant activity of food constituents: An overview [J]. Archives of Toxicology,2012,86:345-391.
- [30] Wright J S, Johnson E R, DiLabio G A. Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical methods, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants [J]. Journal of American Chemical Society,2001,123:1173-1183.
- [31] 林金莺. 火麻仁蛋白水解及其抗氧化肽的研究 [D]. 广州: 华南理工大学,2010.
- Lin J Y. The Research on Protein Hydrolysis and the Antioxidative Peptide Derived from Hempseed (*Cannabis sativa* L.) [D]. Guangzhou: South China University of Technology,2010.
- [32] Chen H M,Muramoto K,Yamauchi F,et al. Antioxidative activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1996,44:2619-2623.

(责任编辑:尹 闯,黎贞崇)