

核桃粕、核桃仁酶解物抗氧化活性的研究

赵谋明, 陈卉平, 任娇艳

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 比较核桃粕、核桃粕蛋白提取物、核桃仁、去皮核桃仁、脱脂核桃仁和脱脂去皮核桃仁酶解物的抗氧化活性。结果表明, 各样品酶解物还原力大小顺序为: 核桃仁>核桃粕蛋白提取物>核桃粕>脱脂核桃仁>去皮核桃仁>脱脂去皮核桃仁。当底物浓度为 10 mg/mL 时, 核桃仁直接酶解物的还原力达到谷胱甘肽的 79.74%。ORAC 值大小顺序为: 核桃仁>脱脂核桃仁>核桃粕蛋白提取物>核桃粕>去皮核桃仁>脱脂去皮核桃仁。核桃仁直接酶解物的 ORAC 值最大, 为 1560.75 $\mu\text{mol Trolox equivalent/g Peptide}$, 与等质量的谷胱甘肽的 ORAC 值相当。各样品对 H_2O_2 诱导 PC12 细胞损伤均有保护效果, 其中核桃仁直接酶解物的保护效果最好, 当底物浓度为 0.10 mg/mL、0.25 mg/mL 和 0.50 mg/mL 时, 均比其它样品的细胞存活率高, 分别为 72.64%、90.43% 和 84.98%; 当底物浓度为 1.00 mg/mL 时, 脱脂核桃仁酶解物的保护效果最好, 细胞存活率为 85.11%。

关键词: 核桃粕; 核桃仁; 去皮; 脱脂; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2013)10-2335-2339

The Antioxidant Activities of Walnut Protein and its Enzymolysis Product

ZHAO Mou-ming, CHEN Hui-ping, REN Jiao-yan

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The antioxidant activities of walnut dreg, walnut dreg protein extract, walnut kernel, peeled walnut kernel, defatted walnut kernel, peeled and defatted walnut kernel hydrolysates were researched. The results showed that, the order of reducing power of each hydrolysate was as follows: walnut kernel > walnut dreg protein extract > walnut dreg > defatted walnut kernel > peeled walnut kernel > peeled and defatted walnut kernel. When the substrate concentration was 10 mg/mL, the reducing power of walnut kernel hydrolysate was 79.74% of the glutathione. The sequence of ORAC value was as followed: walnut kernel > defatted walnut kernel > walnut dreg protein extract > walnut dreg > peeled walnut kernel > peeled and defatted walnut kernel. Walnut kernel hydrolysate had the highest ORAC value 1560.75 $\mu\text{mol Trolox equivalent/g peptide}$, which was equal to the same weight of the glutathione. All the enzymolysis products could protect PC12 cell damage induced by H_2O_2 , compared with other hydrolysates, the walnut kernel had the best protective effect. When its substrate concentration was 0.10 mg/mL, 0.25 mg/mL and 0.50 mg/mL, the cell survival rate reached 72.64%, 90.43% and 84.98% respectively. When the substrate concentration was 1.00 mg/mL, the best protective effect was defatted walnut kernel with the cell survival rate being of 85.11%.

Key words: walnut dreg; walnut kernel; peeled; defatted; antioxidant activity

核桃, 又名羌桃、胡桃, 属胡桃科胡桃属植物^[1], 是一种经济价值和营养价值都很高的珍贵果木。核桃蛋白是一种优质的植物蛋白, 含有 18 种氨基酸, 且人体所需的 8 种必需氨基酸含量合理。核桃蛋白中蕴涵许多具有生物活性的氨基酸序列, 用特异的蛋白酶水解有可能释放出活性肽段。核桃粕是核桃油深加工的副产物, 核桃蛋白含量高达 30% 以上^[1], 是一种丰富、物美价廉的植物性蛋白源, 同时核桃油制取过程中的温度、有机溶剂等对核桃粕蛋白会产生一

收稿日期: 2013-03-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31000759), 广东省战略性新兴产业核心技术攻关项目 (2012A020800002), 广东省科技计划项目 (2011A080403019)

作者简介: 赵谋明(1964-), 男, 教授, 主要从事食品生物技术的研究

通讯作者: 任娇艳(1980-), 女, 教授, 主要从事食品生物技术的研究

定的影响。核桃仁除了含有丰富的脂质和蛋白质以外, 还含有多种具有生理活性的多酚类物质, 它们具有积极的抗氧化活性、抗诱变性和抗癌活性。虽然内种皮含量在整个核桃仁中所占比例不足 10%, 但活性测试结果表明, 核桃仁中对人体有益的多酚类物质主要集中在内种皮^[2]。国内有关核桃蛋白生物活性肽的研究逐渐增多, 主要集中在利用酶解核桃粕制备核桃多肽, 研究其抗氧化活性^[3]。目前关于综合分析和比较核桃粕和核桃仁蛋白酶解效果、核桃粕与实验室脱脂核桃仁蛋白酶解物的抗氧化活性, 研究核桃榨油技术对核桃粕蛋白的影响, 以及核桃内种皮对核桃蛋白酶解的影响等的报道很少。本文通过比较核桃粕、核桃粕蛋白提取物、核桃仁、去皮核桃仁、脱脂核桃仁和脱脂去皮核桃仁酶解物的抗氧化活性, 比较核桃粕和核桃

仁蛋白酶解效果和抗氧化活性的差异,以及内种皮对核桃仁蛋白酶解物抗氧化活性的影响,对核桃蛋白进行深入的研究,为实现大宗蛋白高值化利用,采用核桃蛋白制备低分子活性肽提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

核桃粕,云南汇智源食品有限公司;核桃,购于五山好当家一楼菜市场;胰酶,杭州时盛科技有限公司,酶活力为4600万U/g; Trolox、AAPH和荧光素FL,美国Sigma公司;大鼠肾上腺嗜铬瘤细胞(PC12),中国科学院细胞库;其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器及设备

KDN-102F自动定氮仪,上海纤检仪器有限公司;UV-754分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;多功能酶标仪,瑞士Tecan公司;倒置相差生物显微镜,OLYMPUS;多功能荧光分析仪,瑞士Tecan公司。

1.3 方法

1.3.1 去皮核桃仁的获取

采用水泡剥皮法^[4]。将核桃仁放置于洁净干燥的烧杯中,加入适量的水浸泡,55℃保温8min,手动剥皮,置于真空烘箱55℃烘干,研磨粉碎,备用。

1.3.2 脱脂核桃仁、脱脂去皮核桃仁的获取^[5]

核桃仁、去皮核桃仁烘干后经粉碎机破碎,用正己烷在室温下进行脱脂处理6h,核桃仁:正己烷比例为0.1g/mL,提取液用滤纸过滤,残渣再用正己烷进行脱脂处理,直到滤液无色为止,收集残渣于通风橱挥干溶剂,脱脂粉过40目筛,装袋,置-20℃备用。

1.3.3 核桃粕蛋白提取物的获取^[5]

碱溶酸沉法提取蛋白工艺流程:核桃粕粉末→溶液调pH至8.5(物料比为1:12)→搅拌2h→离心(6000r/min,15min,4℃)→取上清液调pH至4.5→搅拌1h→静置2h→离心(8000r/min,15min,4℃)→沉淀水洗至中性→冷冻干燥→核桃粕蛋白

1.3.4 酶解物的制备

各原料→加水匀浆→85℃加热15min→酶解(胰酶,加酶量为2%,温度55℃,22h)→灭酶(沸水浴,15min)→冷却→离心(8000r/min,4℃,20min)→抽滤→收集上清液→酶解物。

1.3.5 各样品酶解效果指标测定

1.3.5.1 蛋白质利用率的测定^[6]

以凯氏定氮法分别测定各样品酶解产物蛋白氮含

量,按照式(1)进行计算:

$$\text{蛋白质回收率}(\%) = \frac{\text{上清液总蛋白氮含量}}{\text{原料总蛋白氮含量}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.5.2 水解度的测定^[6]

以凯氏定氮法测定各样品上清液总蛋白氮含量,水解后生成的氨基酸态氮由甲醛滴定法测定,按照式(2)进行计算:

$$\text{水解度}(\%) = \frac{\text{水解后生产的氨基酸态氮含量}}{\text{上清液总蛋白氮含量}} \times 100 \quad (2)$$

1.3.6 各样品酶解物抗氧化能力的测定

1.3.6.1 还原力的测定^[7]

取2mL样品(蛋白浓度为10mg/mL)加到2mL 0.2mol/L磷酸盐缓冲液(pH6.6)和2mL1%(m/V)铁氰化钾溶液的混合液中,混合物在50℃保温20min,然后在反应混合物加入2mL10%(V/V)的TCA,混合后以3000r/min离心10min,取2mL上清液、2mL蒸馏水以及0.4mL1%(V/V)氯化铁在反应试管中反应,10min后测定其在700nm处的吸光值,以谷胱甘肽作为参照,吸光值增加表明还原力增加。

1.3.6.2 ORAC值的测定^[8]

在96孔板各微孔中分别加入20μL待测样品(将各酶解产物用75mmol/L磷酸盐缓冲液做适当稀释,每个样品待测液浓度为0.08mg/mL),然后加入75mmol/L磷酸盐缓冲液20μL和70nmol/LFL20μL,于37℃预置5min后,用多道移液器迅速在各孔中加入12nmol/LAAPH140μL启动反应,将微孔板置于荧光分析仪中于37℃下激发波长485nm,发射波长538nm进行连续测定,每2min测定一次各孔荧光强度,一般测定60次。ORAC值测定需要设定两种对照组,即没有添加自由基的FL荧光自然衰减对照(-AAPH)和没有抗氧化剂存在时的自由基作用对照(+AAPH)。ORAC值一般以Trolox当量(μmol/Trolox equivalent per g Peptide)表示,本研究的各酶解产物用Trolox当量表示,以谷胱甘肽的ORAC值作为对照。

1.3.6.3 样品保护H₂O₂诱导PC12细胞损伤效果

(1) PC12细胞培养

PC12细胞常规培养于37℃、5%CO₂,含10%FBS,青霉素、链霉素各100IU/mL的DMEM培养液中,饱和湿度培养箱孵育,每1~2d更换1次培养液,每3~4d传代一次^[9]。

(2) H₂O₂诱导的细胞损伤模型的建立

收集对数生长期细胞接种于96孔板中,调整细胞密度为50000个/mL,每孔接种100μL,设定对照组(未经任何处理)、实验组(H₂O₂损伤组)。生长36h

后, 实验组吸弃原培养液, 用 PBS 液洗 1 次。对照组每孔加入 100 μL 含 5% FBS 的 DEMA 培养液。H₂O₂ 损伤组每孔加入 H₂O₂, 终浓度分别为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mmol/L 的含 5% FBS 的 DEMA 培养液 100 μL , 在孵箱中继续培养 2 h 后, 吸弃原培养基, 加入终浓度为 0.5 mg/mL MTT 孵育 4 小时, 以 150 μL /孔的 DMSO 溶解生成的不溶物, 待完全显色后, 采用酶标仪测定各孔 490 nm (OD) 值^[9]。按照式 (3) 进行计算:

$$\text{细胞存活率}(\%) = \frac{\text{实验组 OD} - \text{空白组 OD}}{\text{对照组 OD} - \text{空白组 OD}} \times 100 \quad (3)$$

(3) 样液保护 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞损伤

收集对数生长期细胞接种于 96 孔板中, 调整细胞密度为 50000 个/mL, 每孔接种 100 μL , 设定对照组 (未经任何处理)、实验一组 (H₂O₂ 损伤组)、实验二组 (加入样品组)、实验三组 (加入谷胱甘肽组)。实验二组和三组设置 4 个浓度梯度, 分别为 0.10 mg/mL、0.25 mg/mL、0.50 mg/mL、1.00 mg/mL, 各样品分别过 0.22 μm 滤膜。细胞经铺板生长 24 h 后, 实验二组和三组分别加入上述 4 个不同终浓度的样液孵育 12 h。孵育结束后, 加入终浓度为 0.65 mmol/L H₂O₂ 进行氧化损伤, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱孵育 2 h 后, 采用 MTT 法测定细胞存活率^[9]。

表2 核桃各样品蛋白含量 (%)

Table 2 The walnut protein content of each sample

指标	核桃粕	核桃粕蛋白提取物	核桃仁	脱脂核桃仁	去皮核桃仁	去皮脱脂核桃仁
蛋白含量	42.14 \pm 0.60	80.81 \pm 0.62	15.79 \pm 0.57	37.29 \pm 0.47	15.85 \pm 0.40	44.75 \pm 0.58

如表2所示, 榨油后的核桃粕蛋白含量为42.14%, 实验室脱脂核桃仁的蛋白含量为44.75%, 两者差别不大, 结果说明在实验室采用正己烷脱脂处理可以有效脱除大量的核桃油。而经过碱溶酸沉提取的核桃粕蛋白纯度明显提高, 蛋白含量上升至80.81%。核桃仁及去皮核桃仁蛋白含量较低, 分别为15.79%和15.85%。

2.2 各样品酶解效果比较

如图 1 所示, 脱脂去皮核桃仁酶解物的蛋白质回收率为 71.73%, 略高于核桃粕蛋白提取物的酶解物蛋白回收率, 可能是由于脱脂去皮核桃仁中的部分内源酶参与酶解过程, 促进核桃蛋白的水解。核桃仁直接酶解物的蛋白质回收率最低, 为 32.01%, 主要因为核桃仁所含油脂较多, 酶解过程中油脂不利于核桃蛋白的水解。对于核桃仁样品, 去皮这一步骤对各酶解产物的蛋白质回收率影响较大, 去皮仁、脱脂去皮仁均比不去皮仁、脱脂不去皮仁的蛋白质回收率高很多,

2 结果与讨论

2.1 物质成分结果分析

2.1.1 核桃仁基本成分分析

表1 每100 g核桃仁成分分析

Table 1 The composition of walnut per 100g

样品	质量/g	蛋白含量/%
核桃仁	100	15.79 \pm 0.57
核桃内种皮	7.18	7.98 \pm 0.52
去皮核桃仁	92.92	15.85 \pm 0.40

如表1所示, 核桃内种皮占整个核桃仁质量的7%左右, 核桃内种皮中蛋白质含量为7.98%。研究表明, 核桃仁中对人体有益的多酚类物质主要集中在种皮部分, 而种皮的没食子酸等酚酸类物质是核桃仁产生收敛性的主要原因。在提取优质核桃蛋白过程中, 为消除核桃内种皮中单宁等酚酸类物质所带来的苦涩味口感, 避免酚酸类物质与蛋白质形成沉淀复合物, 一般会对核桃仁进行脱皮前处理。但是将核桃仁去掉种皮, 可能会因为多酚类物质和含量的减少从而降低核桃仁总体的生理活性^[4]。

2.1.2 各原料蛋白含量分析

这可能是由于内种皮的某些物质, 如矿物质和维生素对核桃蛋白酶解有一定的影响作用, 去掉内种皮后更有利于蛋白的降解。核桃粕蛋白提取物的酶解物比核桃粕直接酶解的蛋白质回收率高, 主要是因为核桃粕中含有的脂肪和碳水化合物等物质较多, 对核桃粕蛋白水解产生一定影响。

此外去皮核桃仁酶解产物的水解度最高, 为 11.72%, 核桃粕蛋白提取物的酶解物的水解度最低, 为 8.13%。总体而言, 各样品酶解产物的水解度差别不大, 表明在相同的酶解条件下, 核桃粕蛋白、核桃仁蛋白大部分被酶解, 并且所得酶解物多数为多肽。

2.3 各样品酶解物还原力测定结果

在一般情况下, 物质的还原能力与抗氧化能力呈正相关。通过测定还原能力, 从而检验待测物质是否为良好的电子供体。待测物的还原性与吸光值大小有关, 吸光值越大还原性越强, 因此还原力可作为一种

简单、便捷的方法,用于具有抗氧化活性物质的初步筛选^[10]。

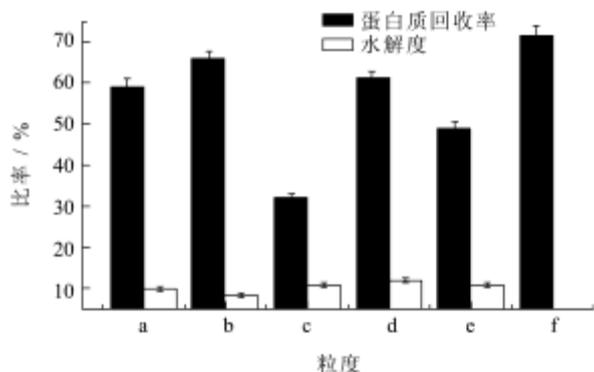


图1 各样品酶解效果比较

Fig.1 Comparison of enzymolysis effects of different walnut proteins

注: a-核桃粕直接酶解物, b-核桃粕蛋白提取物的酶解物, c-核桃仁直接酶解物, d-去皮核桃仁酶解物, e-脱脂核桃仁酶解物, f-脱脂去皮核桃仁酶解物。

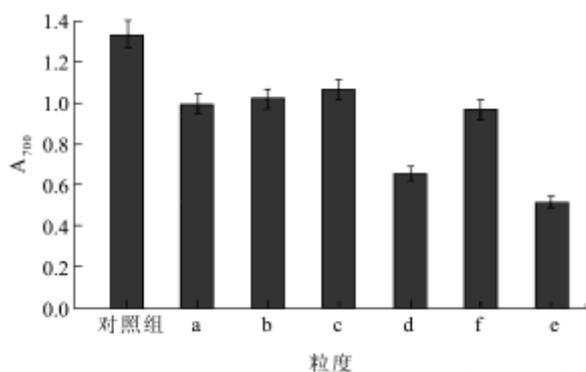


图2 各样品酶解物的还原力

Fig.2 The reducing power of different walnut enzymolysis products

注: 对照组代表谷胱甘肽, a代表核桃粕直接酶解物, b代表核桃粕蛋白提取物的酶解物, c代表核桃仁直接酶解物, d代表去皮核桃仁酶解物, e代表脱脂核桃仁酶解物, f代表脱脂去皮核桃仁酶解物。

如图2所示,核桃仁直接酶解物的还原力值最大,当底物浓度为10 mg/mL时, A₇₀₀为1.06,达到谷胱甘肽的79.74%;核桃粕直接酶解和核桃粕蛋白提取物的酶解物还原能力相差不大,略低于核桃仁直接酶解产物的还原力, A₇₀₀分别为0.99和1.02。这与刘昭明等^[11]对核桃蛋白肽的抗氧化活性研究的结论基本一致。随着核桃蛋白肽底物浓度的增加,还原力增强。当底物浓度为30 mg/mL时,核桃蛋白肽还原能力达到Vc的57.1%。相比而言,本研究所得的核桃粕酶解物的还原能力更强。去皮核桃仁和脱脂去皮核桃仁的还原力值显著低于核桃仁直接酶解物的还原力值,可能是由于去掉内种皮后,核桃仁所含有的具有较好生理活性

的多酚类物质其含量或种类减少,造成核桃仁抗氧化能力降低。

2.4 各样品酶解物ORAC值测定结果

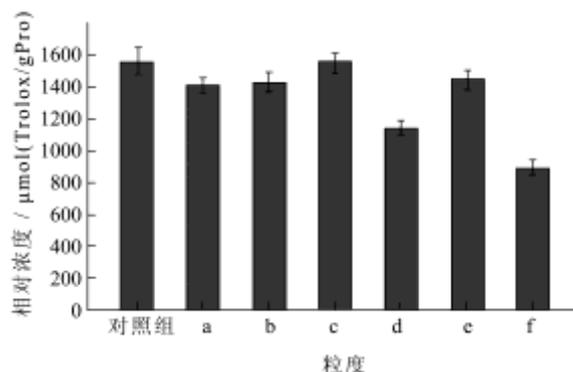


图3 各样品酶解物的ORAC值

Fig.3 The antioxidant activity of different walnut enzymolysis products

注: 对照组-谷胱甘肽, a-核桃粕直接酶解物, b-核桃粕蛋白提取物的酶解物, c-核桃仁直接酶解物, d-去皮核桃仁酶解物, e-脱脂核桃仁酶解物, f-脱脂去皮核桃仁酶解物。

ORAC法是基于物质供氢能力的一种测定方法,与人类生物学相关性最大,所得到的抗氧化能力更能反映物质在体内的相关作用,并通过改变自由基来源和溶剂可以评价亲水性和亲脂性体系的抗氧化能力,目前已在各种化合物和食品样品中应用^[12]。图3结果表明,核桃仁直接酶解物的ORAC值最大,为1560.75 μmol Trolox equivalent/g Peptide,与等质量的谷胱甘肽的ORAC值相当,说明在该条件下制备的核桃仁多肽具有较好的抗氧化活性。这是核桃仁酶解物中所包含的核桃种皮活性物质以及多肽共同作用的结果。脱脂去皮核桃仁酶解产物的ORAC值最小,为890.98 μmol Trolox equivalent/g Peptide。整体来说,核桃粕酶解产物的ORAC值都较高,而去皮仁、脱脂去皮仁的ORAC值均低于核桃仁、脱脂仁的ORAC值,这与前面还原力测定所得结论一致。还原力测定和ORAC法都是检验物质是否为良好供电子体,能很好地反映其抗氧化活性。由此可见,酶解前保留核桃内种皮,进行核桃仁脱脂处理是获得高活性酶解产物的必要条件。

2.5 各样品保护H₂O₂诱导PC12细胞损伤结果

高度分化的PC12细胞具有神经分泌细胞和神经元细胞的形态和某些性质,并因其具有可传代的特性,故可代替大脑皮层神经元细胞用于脑神经疾病及抗氧化活性的评价。H₂O₂与氧化应激反应密切相关,是6种对生物体具有损害作用的自由基之一。研究发现其参与许多神经系统疾病的发病,并与多种疾病,如自

身免疫病、肿瘤、炎症等有关,而且可诱发细胞凋亡,细胞氧化损伤的诱导剂^[3]。相对其它自由基而言能稳定存在,因此常用作神经细

表 3 各样品酶解物对 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞损伤的保护作用

Table 3 Protective effect of different walnut proteins on PC12 cells damage induced by H₂O₂

剂量 (mg/mL)	细胞存活率/%						
	对照组	a	b	c	d	e	f
0.10	57.61±1.73	70.92±1.35	66.26±2.27	72.64±1.20	62.71±0.83	55.82±1.14	54.81±1.07
0.25	62.74±1.43	80.83±1.29	88.17±0.92	90.43±0.86	70.13±2.16	66.54±1.37	67.35±0.94
0.50	79.58±1.58	71.31±1.25	75.22±1.17	84.98±1.35	72.43±0.95	76.90±2.33	73.91±1.16
1.00	87.35±2.51	69.86±1.33	70.51±1.36	74.52±2.71	47.14±1.27	85.11±1.18	83.45±1.25

注: a-核桃粕直接酶解物, b-核桃粕蛋白提取物的酶解物, c-核桃仁直接酶解物, d-去皮核桃仁酶解物, e-脱脂核桃仁酶解物, f-脱脂去皮核桃仁酶解物。本研究的正常值细胞存活率为100%, H₂O₂损伤组的细胞存活率为41.40%。

表 3 结果表明,各样品酶解物对 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞损伤均有一定的保护效果,其中核桃仁直接酶解物的保护效果最好,当底物浓度为 0.10 mg/mL、0.25 mg/mL 和 0.50 mg/mL 时,细胞存活率均比其它样品酶解物高,分别为 72.64%、90.43% 和 84.98%;当底物浓度为 1.00 mg/mL 时,脱脂核桃仁酶解物的保护效果最好,细胞存活率为 85.11%。对于核桃粕和核桃粕蛋白提取物的酶解物,当底物浓度为 0.25 mg/mL 时,保护效果比其它底物浓度的好;而脱脂仁和脱脂去皮仁的保护效果随着底物浓度的增加而增加。整体来说,核桃仁直接酶解物对 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞损伤保护作用最强,这与前面还原力测定和 ORAC 值测定所得结论一致,说明在本实验中,核桃仁直接酶解物的抗氧化活性最好。而核桃粕酶解物的抗氧化活性比核桃仁酶解物的保护效果稍弱,这可能是因为核桃榨油过程中的外界环境,如高温或者有机溶剂对核桃粕蛋白产生一定影响,导致其抗氧化活性降低。

3 结论

3.1 利用蛋白酶水解核桃蛋白,研究其酶解物的抗氧化活性,可以为核桃蛋白的综合利用提供理论支持。

3.2 各样品酶解物还原力大小顺序为:核桃仁>核桃粕蛋白提取物>核桃粕>脱脂核桃仁>去皮核桃仁>脱脂去皮核桃仁。当底物浓度为 10 mg/mL 时,核桃仁直接酶解物的还原力达到谷胱甘肽的 79.74%。

3.3 各样品酶解物 ORAC 值大小顺序为:核桃仁>脱脂核桃仁>核桃粕蛋白提取物>核桃粕>去皮核桃仁>脱脂去皮核桃仁。核桃仁直接酶解物的 ORAC 值最大,为 1560.75 μmol Trolox equivalent/g Peptide,与等质量的谷胱甘肽的 ORAC 值相当。

3.4 各样品酶解物对 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞损伤均有一定的保护效果,其中核桃仁直接酶解物的保护效果最好,当底物浓度为 0.10 mg/mL、0.25 mg/mL 和 0.50

mg/mL 时,细胞存活率均比其它样品酶解物高,分别为 72.64%、90.43% 和 84.98%;当底物浓度为 1.00 mg/mL 时,脱脂核桃仁酶解物的保护效果最好,细胞存活率为 85.11%。

3.5 核桃仁酶解物的抗氧化活性比核桃粕的好,而核桃粕酶解物与实验室脱脂核桃仁的抗氧化活性差别不大,说明核桃油制取的外界条件对核桃粕蛋白产生一定影响,核桃粕蛋白和核桃仁蛋白存在一定差异。去皮核桃仁和脱脂去皮核桃仁酶解物的抗氧化活性均比核桃仁和脱脂核桃仁低很多,表明核桃内种皮对核桃蛋白抗氧化活性影响较大,在酶解前保留核桃内种皮,对核桃进行脱脂处理,是获得较好抗氧化活性的核桃酶解物的必要条件。

参考文献

- [1] Szetao KWC, Sathe SK. Walnut (*Juglans regia*) proximate composition, protein solubility, protein amino acid composition and protein in vitro digestibility [J]. *Sci Food Agric*, 2000, 80: 1393-1401
- [2] Vali Akbari, Rashid Jamei, Reza Heidari. Antiradical activity of different parts of Walnut (*Juglans regia* L.) fruit as a function of genotype [J]. *Food Chem.*, 2007, 105: 57-64
- [3] 林燕,陈计峦,胡小松,等.酶解核桃蛋白制备抗氧化肽的研究[J].食品工业科技,2011,4(32):204-207
LIN Y, CHEN J L, HU X S, et al. Preparation of antioxidant peptide from walnut protein by enzymatic hydrolysis [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2011, 4(32): 204-207
- [4] 荣瑞芬,历重先,刘雪峥,等.核桃内种皮营养与功能成分初步分析研究[J].食品科学,2008,29(11):541-543
RONG R F, LI C X, LIU X Z, et al. Primary Determination Study on Contents of Nutritional and Functional Components of Walnut Kernel Pellicle [J]. *Food Science*, 2008, 29(11):

- 541-543
- [5] 毛晓英,华欲飞.不同提取工艺制备的核桃蛋白的组成与结构特征[J].江苏大学学报(自然科学版),2011,32(6):631-632
Mao X Y, Hua Y F. Composition and structure characteristics of walnut proteins extracted by different techniques [J]. JOURNAL OF JIANGSU UNIVERSITY(Natural Science Edition), 2011, 32(6): 631-632
- [6] 大连轻工业学院,华南理工大学等合编食品分析[M].北京轻工业出版社,1994
Dalian Institute of Light Industry, South China University of Technology et al. Food Analysis [M]. Beijing Light Industry Press, 1994
- [7] Ahmadi F, Kadivar M, Shahedi M. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems [J]. Food Chem. 2007, 105: 57-64
- [8] Davalos A, Gomez C C, Bartolome B. Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance capacity (ORACFL) Assay [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(1): 48-54
- [9] Hang SL, Yen GC. Neuroprotective effects of the citrus flavanones against H₂O₂-induced cytotoxicity in PC12 cells [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(3): 859-864
- [10] Ahmadi F, Kadivar M, Shahedi M. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems [J]. Food Chem, 2007, 105: 57-64
- [11] 刘昭明,黄翠姬,孟陆丽,等.核桃蛋白肽的抗氧化活性研究[J].食品与发酵工业,2009,35(1):58-60
Liu Z M, Huang C J, Meng L L et al. Study on the Antioxidative Activity of Walnut Peptide [J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 35(1): 58-60
- [12] Wu X, Gu L, Holden J, et al. Factors in the development of a database of food total antioxidant capacity using lipophilic and hydrophilic oxygen radical absorbance capacity (ORACFL): a preliminary study of 28 foods [J]. J Food Compos Anal, 2004, 17: 407-422
- [13] Juana Bened, Rocio Arroyo, Carmen Romero, et al. Antioxidant properties and protective effects of a standardized extract of *Hypericum perforatum* on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in PC12 cells [J]. Life Sciences, 2004, 75: 1263-1276