

大米蛋白体外消化产物抗氧化活性的研究

佟立涛¹, 陈倩倩^{1,2}, 钱海峰², 钟葵¹, 刘丽娅¹, 周素梅¹

(1. 中国农业科学院农产品加工研究所, 农业部农产品加工综合性重点实验室, 北京 100193)

(2. 江南大学食品学院 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡 214122)

摘要: 为了研究大米清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白体外消化产物的抗氧化活性, 用 Osborne 法从大米粉中提取大米四种蛋白。采用胃-胰蛋白酶分步酶解, 选择 DPPH、ABTS⁺、OH 自由基清除能力和 Fe²⁺金属离子螯合能力四个指标对消化产物的抗氧化活性进行综合评价。与市售的大豆肽比较, 大米四种蛋白经模拟体外消化后具有良好的抗氧化活性。其中醇溶蛋白的消化产物抗氧化活性最好, DPPH、ABTS⁺、OH 自由基清除能力和 Fe²⁺金属离子螯合能力的半抑制浓度分别为 30.88 mg/mL、27.61 mg/mL、5.43 mg/mL、0.18 mg/mL。大米四种蛋白酶解产物的 Fe²⁺螯合能力半抑制浓度均小于 1 mg/mL, 具有良好的 Fe²⁺螯合能力。研究结果表明大米四种蛋白的体外消化酶解物具有不同大小的抗氧化活性, 分子量集中在 181~1000 Da 范围内, 是一种易于被人体吸收的抗氧化肽。

关键词: 大米蛋白; 抗氧化活性; 活性肽; 体外消化

文章编号: 1673-9078(2015)9-92-7

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.9.016

Antioxidant Activity of *in vitro* Rice Protein Digest

TONG Li-tao¹, CHEN Qian-qian^{1,2}, QIAN Hai-feng², ZHONG Kui¹, LIU Li-ya¹, ZHOU Su-mei¹

(1. Institute of Agro-Products Processing Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences; Key Laboratory of Agro-Products Processing, Ministry of Agriculture, Beijing 100193, China) (2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University; State Key Laboratory of Food Science and Technology Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The Osborne method comprising of a 2-step *in vitro* digestion of rice flour was used to extract albumin, globulin, prolamin, and glutelin by using pepsin and trypsin. Subsequently, the antioxidant activity of the resultant rice digest was studied in terms of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS⁺) and OH radical scavenging as well as Fe²⁺-chelating activity. The results revealed that the *in vitro* digests of four rice proteins exhibited better antioxidant activity than commercial soybean peptides. Among these, the digest of prolamin showed the highest antioxidant activity, where the half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) values of DPPH; ABTS⁺; and OH radical-scavenging as well as Fe²⁺-chelating activities were 30.88, 27.61, 5.43, and 0.18 mg/mL, respectively. The enzymatic hydrolysates of albumin, globulin, prolamin, and glutelin showed good Fe²⁺-chelating activities with IC₅₀ values < 1 mg/mL. The results indicated that the *in vitro* digests of the four rice proteins tested in this study showed different antioxidant activities and that the molecular weights of these small peptides were in a range of 181~1000 Da, which is similar to that of antioxidant peptides that can be absorbed easily in humans.

Key words: rice protein; antioxidant activity; bioactive peptide; *in vitro* digestion

自由基是人体进行正常生理和生化过程中产生的副产物, 而产生的自由基过多可能导致生物大分子(例如脂质, 蛋白质, DNA)的氧化损伤, 从而引发动脉粥样硬化性疾病, 糖尿病, 癌症, 心脏和神经退行性疾病等^[1]。近年来, 抗氧化性好的食物得到营养

收稿日期: 2014-11-17

基金项目: 国家自然科学基金(31401505); 公益性行业(农业)科研专项经费资助(201303070)

作者简介: 佟立涛(1982-), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事研究方向粮油深加工与功能食品; 陈倩倩, 为并列第一作者

通讯作者: 周素梅(1971-), 女, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事研究方向粮油深加工与功能食品

学家的广泛关注。稻谷是我国第一大粮食品种, 每年生产约 2 亿 t, 约占全国粮食总产量 42%^[2]。大米蛋白已经得到广泛重视, 主要是因为其具有抗动脉粥样硬化, 抗糖尿病, 抗氧化等活性。Zhang 等^[3]从碱性蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶和风味蛋白酶筛选出中性蛋白酶, 其酶解产物 DPPH[·]自由基清除活性远好于其他蛋白酶水解物。对其进一步分离纯化, 得到高抗氧化活性的八肽 KHNRGDEF。

蛋白质作为人体必需的营养物质, 主要通过小肽的形式被人体吸收发挥作用。然而在体外制备的抗氧化肽, 有可能在体内经过胃中的低酸环境、胃酶、胰酶和其它肽酶等作用, 会发生降解而失活的情况。因

此对大米蛋白直接进行体外模拟消化得到的抗氧化肽可以在体内得到更好的耐受性。模拟体外消化研究因其安全、快速已被广泛采用,已有研究通过模拟体外消化模型酶解玉米醇溶蛋白^[4],荞麦蛋白^[5]等得到高抗氧化活性的抗氧化肽。但是对于大米蛋白抗氧化肽的研究集中在筛选最优的蛋白酶酶解制备抗氧化肽,而且大米蛋白组成复杂,具有清、球、醇溶和谷蛋白四种蛋白,其消化特性相差甚远^[6]。

目前对于抗氧化性的研究缺乏一个标准,不同研究的抗氧化能力的评价难以在一起比较,且与采用的实验体系密切相关,因此单一的体系往往很难全面体现其生物学意义,需要采用多种体系进行综合评价。本研究选用 DPPH 自由基清除能力, ABTS⁺ 自由基清除能力, OH 清除能力以及 Fe²⁺ 螯合能力四种抗氧化指标,同时在不同浓度下与市售的大豆肽比较,对大米清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白的抗氧化活性进行比较研究。采用 Osborne 法提取大米四种蛋白,在模拟胃肠道消化环境的基础上,综合评价四种蛋白模拟体外消化产物的抗氧化活性,探索人体在正常食用大米蛋白时能否产生抗氧化肽,并对清、球、醇溶和谷蛋白的抗氧化性活性进行比较研究。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

原料籼米“浓香 29”,湖南金健米业股份有限公司;胃蛋白酶、胰蛋白酶,北京鸿润宝顺科技有限公司;大豆肽,武汉天天好生物制品有限公司;DPPH、ABTS⁺、菲啰啉,美国 Sigma 公司;其他试剂为分析纯。

1.2 仪器与设备

2300 自动定氮仪,瑞典 FOSS 公司;UB-7 pH 计,美国丹佛仪器公司;LXJ-[]B 大容量离心机,上海安亭科学仪器厂;TU-1900 双光束紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;THZ-82A 水浴恒温振荡器,HJ-4 型多头磁力加热搅拌器,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;LGJ-25C 型冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂有限公司;Chameleon V 酶标仪,

芬兰 Hidex 公司;Agilent 1200 高效液相色谱仪,美国安捷伦公司。

1.3 方 法

1.3.1 Osborne 法提取大米蛋白

1 kg 大米粉碎过筛,加入 4 L 蒸馏水,在室温下搅拌 2 h 后 4000 r/min 离心 20 min,重复提取 2 次,合并上清液,得到大米清蛋白。残渣与 4 L 的 5% 氯化钠溶液混合,在室温下搅拌 2 h 后 4000 r/min 离心 20 min,重复提取 2 次,合并上清液,得到大米球蛋白。残渣与 4 L 的 70% 乙醇溶液混合,在室温下搅拌 2 h 后 4000 r/min 离心 20 min,重复提取 2 次,合并上清液,得到大米醇溶蛋白。以上得到的上清液抽滤后蒸发浓缩,分别在等电点沉淀。残渣与 4 L 的 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液混合,在室温下搅拌 2 h 后 4000 r/min 离心 20 min,上清液调至等电点,得到大米谷蛋白。蒸馏水洗涤沉淀 2 次,冷冻干燥 24 h 后获得大米四种蛋白,备用^[7]。

1.3.2 蛋白质含量的测定

采用 GB5009.5-2010 凯氏定氮法测定大米及清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白的蛋白质含量(N 取 5.95);采用福林酚法测定大米蛋白水解液的多肽含量。

1.3.3 大米蛋白体外模拟胃肠消化酶解

蒸馏水配制一定浓度的四种大米蛋白溶液,用 1 mol/L HCl 调溶液 pH=2.0,加入胃蛋白酶,37 °C 恒温条件下消化酶解 2 h。0.09 mol/L NaHCO₃ 溶液调 pH=5.3,加入胰蛋白酶后,再用 1 mol/L NaOH 溶液调 pH=7.8,37 °C 恒温条件下消化酶解 2 h,分别在消化过程中取样;100 °C,10 min 终止酶解反应。冷却后离心(4500 r/min,20 min),收集上清液冷冻贮藏备用,测定时稀释至适合浓度测定其水解度和抗氧化活性。

1.3.4 水解度(DH)的测定

采用 OPA(邻苯二甲醛)法^[8],取 3.00 mL OPA 溶液于试管中加入 400 μL 稀释至一定倍数的水解上清液,精确反应 2 min 后在 340 nm 处测定吸光值。同时以丝氨酸标准溶液(0.9516 mmol/L)作参考和空白试验。计算公式如下:

$$\text{SerineNH}_2 = \frac{OD_{\text{sample}} - OD_{\text{blank}}}{OD_{\text{stand}} - OD_{\text{blank}}} \times 0.9516 \text{ mmol/L} \times \frac{N \times V}{X \times P} \text{ L/g protein}$$

式中: Serine NH₂: mmol serine NH₂/g 蛋白; X: 样品重量; P: 样品中的蛋白含量; N: 稀释倍数; V: 上清液体积。

$$DH = \frac{(\text{SerineNH}_2 - \beta) / \alpha}{h_{\text{tot}}} \times 100\%$$

式中: β、α 分别以常数 0.4 和 1 表示; h_{tot} 每克原料蛋白的肽键毫摩尔数 (mmol/g), h_{tot}=7.72 mmol/g。

1.3.5 酶解产物的相对分子质量分布

采用高效液相色谱法测定^[9]。取酶解液上清液稀释至一定浓度,微孔过滤膜过滤后上色谱柱。

色谱条件:实验色谱柱:TSK gel 2000SWXL (300 mm×7.8 mm),流动相:乙腈:水:三氟乙酸=45:55:0.1 (V/V/V),检测波长 220 nm,流速 0.5 mL/min,柱温 30 °C,进样量 10 μL。

相对分子质量校正标准品:细胞色素 C(M_w 12500 Da),抑肽酶 (M_w 6500 Da),杆菌肽 (M_w 1450 Da),乙氨酰氨-乙氨酰氨-精氨酸 (M_w 451 Da)和乙氨酰氨-乙氨酰氨 (M_w 189 Da)。

1.3.6 二苯代苦味肼基自由基(DPPH)清除能力的测定

1.0 mL 消化液与 1.0 mL, 0.2 mmol/L DPPH 工作液混合,在室温下反应 30 min 后在 517 nm 读取吸光值。乙醇代替消化液反应为空白^[10]。

$$\text{DPPH 清除能力}(\%) = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100\%$$

式中 A₀ 为空白对照组, A₁ 为样品反应后的吸光值。

1.3.7 2, 2-联氨基-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐自由基 (ABTS⁺) 清除能力的测定

ABTS⁺ 自由基母液的配制: 20 mM 醋酸盐缓冲液 (pH 4.5) 配制 7 mM 的 ABTS⁺ 溶液和 2.45 mM 过硫酸钾溶液 1:1 混合。室温下避光保存过夜 (12~16 h) 形成 ABTS⁺ 自由基储备液。

使用前用 20 mM 醋酸盐缓冲液 (pH 4.5) 稀释成工作液,使其在 734 nm 处的吸光值为 0.70±0.02^[11]。100 μL 样品和 3 mL 工作液混合,6 min 后在 734 nm 读取吸光值 (醋酸盐缓冲液代替样品与工作液混合作为空白)。

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除能力}(\%) = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100\%$$

式中 A₀ 为空白对照组, A₁ 为样品反应后的吸光值。

1.3.8 羟基自由基 (OH) 清除能力的测定

采用水杨酸法测定^[10],利用 H₂O₂ 和 Fe²⁺ 混合产生 OH,在体系中加入水杨酸捕捉 OH 显色。0.5 mL 的 9.1 mM 水杨酸乙醇溶液,0.5 mL 样品,0.5 mL 的 9.1 mM FeSO₄,3.5 mL 蒸馏水,最后加入 5 mL 8.8 mM H₂O₂ 启动反应。涡旋震荡,反应 0.5 h 后在 510 nm 处测定吸光值。

$$\text{OH 自由基清除能力}(\%) = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100\%$$

式中 A₀ 为空白对照组, A₁ 为样品反应后的吸光值。

1.3.9 Fe²⁺ 螯合金属离子能力的测定

取 0.45 mL 的样品加入 45 μL 2 mM FeCl₂ 和 1815 μL 去离子水混合均匀,然后加入 90 μL 5 mM 菲啰嗪 (ferrozine) 溶液,剧烈振荡均匀,室温下静置 10 min,在 562 nm 处测定吸光值为 A₁,以等体积纯净水取代样品作为对照所测吸光值为 A₀^[10]。

螯合率按下式计算:

$$\text{Fe}^{2+} \text{ 螯合能力}(\%) = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100\%$$

式中 A₀ 为空白对照组, A₁ 为样品反应后的吸光值。

1.3.10 数据分析

每组实验重复 3 次,采用 Excel 计算不同指标的平均值和标准偏差,所有图中误差值采用 SD 值。

2 结果与分析

2.1 大米四种蛋白的纯度和其体外消化产物的水解度

表 1 大米四种蛋白的纯度和其体外消化产物的水解度

Table 1 Purity and DH of the *in vitro* digests of albumin, globulin, prolamin, and glutelin

| | 清蛋白 | 球蛋白 | 醇溶蛋白 | 谷蛋白 |
|-------------------|------------|------------|------------|------------|
| 纯度/% | 74.57±0.26 | 98.61±0.40 | 90.57±0.67 | 84.72±0.59 |
| 质量(g)/1000g 大米 | 0.62±0.12 | 3.48±0.24 | 1.38±0.17 | 40.02±1.12 |
| 消化产物的 DH/% | 27.77±1.12 | 18.86±0.89 | 18.52±0.75 | 22.35±0.59 |
| 消化产物的蛋白含量/(mg/mL) | 25.01±0.66 | 22.34±0.45 | 24.86±0.59 | 26.93±0.78 |

由表 1 可以看出,大米四种蛋白中清蛋白的纯度最低,可能是因为水溶性杂质的存在,其它蛋白的纯度均达到了 80% 以上。水解度代表四种蛋白模拟体外消化过程中肽键断裂的程度,体现蛋白被水解的程度。不同的蛋白经过同样条件的消化过程,其水解度不一。清蛋白的水解度最大,水解度达到 27.77±1.12%,谷蛋白次之,球蛋白和醇溶蛋白的水解度相对较小,水解度分别为 18.86±0.89% 和 18.52±0.75%。水解度值反

应了蛋白在人体内的消化难易程度,醇溶蛋白最难消化,其次是球蛋白,清蛋白和谷蛋白相对容易被消化。Xia 等^[12]采用 SDS-PAGE 电泳对大米蛋白体外消化过程中的蛋白消化情况进行研究,得到类似结果。

2.2 大米蛋白体外消化产物的分子量分布

现代消化理论认为分子量集中在 3000 u 以下的小肽是具有生理活性且能够吸收的小肽^[13]。如表 2 所

示,大米四种蛋白经过消化后,分子量分布都集中在181~1000 u。清蛋白肽的分子量99%以上都在3000 u以下。球蛋白肽的分子量最大,仍有12.22%的肽大于5000 u,呈现出其相对不易消化的特性。值得注意的是,与2.1的水解度结果相比,醇溶蛋白虽然最难消

化,但是其分子量较小,这可能与本身的分子质量最小有关。Lang等^[14]通过对大米蛋白模拟胃肠道消化的消化率研究中发现,大米蛋白在肠道消化阶段快速消化,10 min内产生大量小肽。

表2 大米蛋白体外消化产物的分子量分布

Table 2 Molecular weight distribution of the *in vitro* digests of albumin, globulin, prolamin, and glutelin

| 单位/% | >5000 u | 3000~5000 u | 1000~3000 u | 181~1000 u | <181 u |
|-------|---------|-------------|-------------|------------|--------|
| 清蛋白肽 | 0.25 | 0.37 | 5.10 | 87.03 | 7.25 |
| 球蛋白肽 | 12.22 | 1.29 | 8.82 | 71.70 | 5.97 |
| 醇溶蛋白肽 | 1.49 | 0.23 | 3.07 | 85.37 | 9.84 |
| 谷蛋白肽 | 0.46 | 1.05 | 11.51 | 81.23 | 5.75 |

2.3 大米四种蛋白体外模拟消化产物的 DPPH 清除能力比较

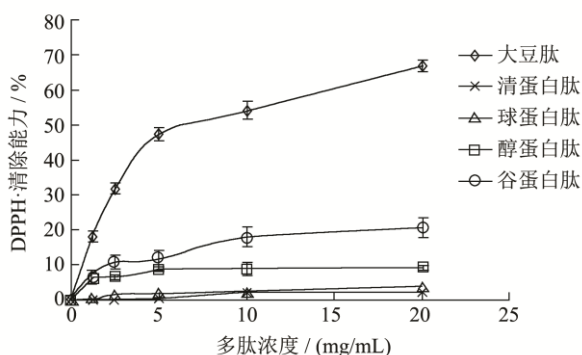


图1 大米四种蛋白消化产物的DPPH清除率

Fig.1 DPPH·scavenging activities of the *in vitro* digests of albumin, globulin, prolamin, and glutelin

DPPH 自由基是一种脂溶性自由基,在有机溶剂中非常稳定,呈紫色。在517 nm处有一个特征吸收峰,当其遇到自由基清除剂时,DPPH的孤对电子被配对,使其吸光度变小。图1为大米四种蛋白消化产物的DPPH清除能力,四种蛋白消化产物的DPPH清除能力弱于市售大豆肽。DPPH清除能力随着多肽浓度的增加而增加,DPPH清除能力和蛋白的溶解特性成反比,清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白的溶解性由好到差,其水解产物的DPPH清除能力越来越好。谷蛋白的溶解度最差,其水解产物的DPPH清除能力相对最好,达到20.76%。DPPH自由基是脂溶性自由基,可能是因为谷蛋白疏水性氨基酸含量更多,更容易和脂溶性的DPPH自由基结合。

2.4 大米四种蛋白体外模拟消化产物的 ABTS⁺清除能力比较

ABTS⁺是一种水溶性自由基,从图2中可以看出,与DPPH清除能力相比,四种蛋白体外消化产物的ABTS⁺清除能力较好,有报道表明玉米醇溶蛋白体外消化产物的ABTS⁺清除能力高达DPPH清除能力的50倍^[4]。这可能与自由基的水溶性有关,水溶性好的肽更容易与ABTS⁺自由基作用。醇溶蛋白肽的清除能力最好,在最大浓度下达到42.98%,其他蛋白的清除能力均弱于大豆肽。

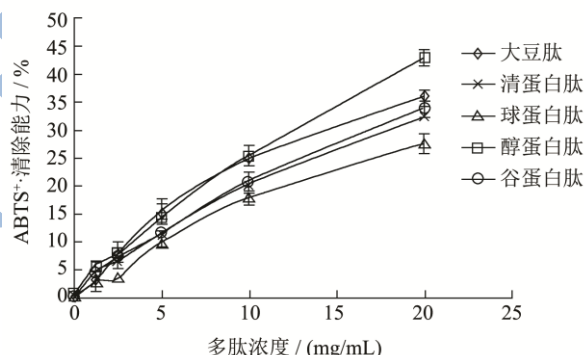


图2 大米四种蛋白消化产物的ABTS⁺清除率

Fig.2 ABTS⁺·scavenging activities of the *in vitro* digests of albumin, globulin, prolamin, and glutelin

2.5 大米四种蛋白体外模拟消化产物的·OH清除能力比较

羟自由基(OH)是体内最活泼的活性氧,氧化性最强,几乎可以和所以生物大分子发生不同类型的反应,具有非常高的速率常数,危害性最强。利用Fenton反应来引发产生羟自由基,羟自由基氧化水杨酸得到2,3-二羟基苯甲酸,用其在510 nm处的吸光值表示OH的多少。由图3中可见,在0~5 mg/mL的多肽浓度范围内,醇溶蛋白肽的清除能力快速上升,但是在5~10 mg/mL的多肽浓度范围内,其他三种蛋白,包括大豆肽的上升趋势远大于醇溶蛋白肽。所以在

0~5 mg/mL 的多肽浓度范围内, 醇溶蛋白肽的 OH 清除能力最好, 随着浓度的继续增加, 清蛋白肽, 谷蛋白肽和球蛋白肽的 OH 清除能力逐渐大于醇溶蛋白肽。

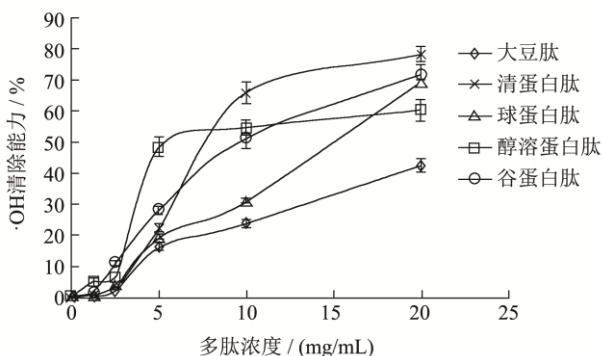


图3 大米四种蛋白消化产物的 OH 清除率

Fig.3 OH scavenging activities of the *in vitro* digests of albumin, globulin, prolamin, and glutelin

2.6 大米四种蛋白体外模拟消化产物的 Fe²⁺

螯合能力比较

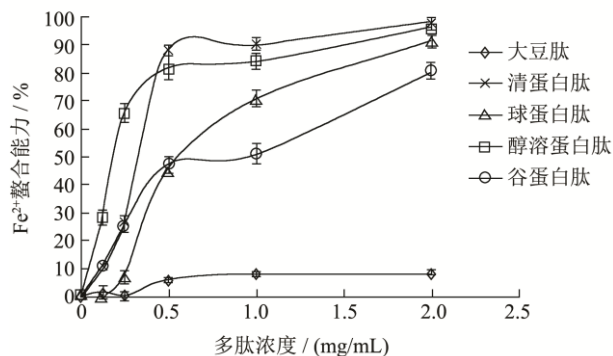


图4 大米四种蛋白消化产物的 Fe²⁺ 螯合能力

Fig.4 Fe²⁺-chelating activities of the *in vitro* digests of albumin, globulin, prolamin, and glutelin

表3 大米蛋白消化产物抗氧化活性的半抑制浓度

Table 3 IC₅₀ values for the antioxidant activities of the *in vitro* digests of albumin, globulin, prolamin, and glutelin

| IC ₅₀ (mg/mL) | 大豆肽 | 清蛋白肽 | 球蛋白肽 | 醇溶蛋白肽 | 谷蛋白肽 |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DPPH 清除能力 | 6.23 | - | 54.00 | 30.88 | 29.46 |
| ABTS ⁺ 清除能力 | 37.36 | 53.43 | - | 27.61 | 50.55 |
| OH 清除能力 | 22.75 | 7.71 | 15.28 | 5.43 | 9.78 |
| Fe ²⁺ 螯合能力 | 11.18 | 0.33 | 0.56 | 0.18 | 0.93 |

3 结论

大米四种蛋白经过模拟体外消化, 水解度在 18.52~27.77%之间, 分子量集中在 181~1000 Da, 是现代消化理论认为可以被吸收的生物活性肽。与市售的大豆肽相比, 大米蛋白肽具有良好的抗氧化活性。

体内的许多氧化过程都是在过渡金属离子的参与下进行的。在油脂的自动氧化过程中, 过渡金属离子也起着非常重要的作用, 微量的金属离子可使油脂氧化的诱导速率提高 10³⁶ 倍^[3]。铁离子是非常强的自由基发生剂, 能够催化各种活性氧比如羟自由基和超氧阴离子的产生。Fe²⁺螯合能力的上升可能是因为游离的组氨酸增加从而使得更多的组氨酸中咪唑基中氨基与铁离子配位, 从而减少了游离铁离子的含量。从图 4 可以看出, 与自由基清除能力相比, 大米四种蛋白的 Fe²⁺螯合能力较好, 远远高于大豆肽, 在 0.5 mg/mL 的浓度下均能够达到 45.99% 以上的 Fe²⁺螯合能力。在 0~0.5 mg/mL 多肽浓度范围内, 醇溶蛋白肽的浓度最好, 其次是清蛋白肽, 谷蛋白肽和球蛋白肽。在 0.5~20 mg/mL 多肽范围内, 最好的是清蛋白肽, 醇溶蛋白肽次之, 最后是球蛋白肽和谷蛋白肽。

从图 1~4 进行线性回归得到了大豆肽和四种蛋白消化产物抗氧化活性的半抑制浓度, 如表 3 所示。四种蛋白的 OH 清除能力和 Fe²⁺螯合能力均远远优于 DPPH, ABTS⁺ 清除能力。大米醇溶蛋白肽的抗氧化能力最好, 其 DPPH、ABTS⁺、OH 清除能力和 Fe²⁺螯合能力的 IC₅₀ 值分别为 30.88、27.61、5.43 和 0.18 mg/mL, 为进一步分离纯化制备高效抗氧化活性肽提供了理论上的可能。四种蛋白 Fe²⁺螯合能力的半抑制浓度都小于 1 mg/mL, 醇溶蛋白的半抑制浓度最低, 为 0.18 mg/mL。其次是清蛋白和球蛋白, 分别为 0.33 mg/mL 和 0.56 mg/mL。谷蛋白要达到 50% 的 Fe²⁺螯合能力所需要的多肽浓度最高, 为 0.93 mg/mL, 这些结果表明大米蛋白体外消化产物是制备 Fe²⁺螯合肽的良好来源。此外, 其中清蛋白肽的 DPPH 清除能力和球蛋白肽的 ABTS⁺ 清除能力较弱, 几乎无抗氧化能力, 故未推算其 IC₅₀ 值。

其中醇溶蛋白肽的抗氧化活性最好, DPPH, ABTS⁺, OH 自由基清除能力以及 Fe²⁺螯合能力都比其它种类的蛋白好。Fe²⁺螯合能力较自由基清除能力明显较好, 大米四种蛋白肽 Fe²⁺螯合能力的 IC₅₀ 值均小于 1 mg/mL。表明大米蛋白尤其醇溶蛋白体外消化产物是良好的抗氧化肽来源, 人体食用大米蛋白具有

一定的抗氧化功效。

参考文献

- [1] Gul M Z, Bhakshu L M, Ahmad F, et al. Evaluation of *Abelmoschus moschatus* extracts for antioxidant, free radical scavenging, antimicrobial and antiproliferative activities using in vitro assays [J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 11(1): 64-86
- [2] 郑玉娟,夏宇,周文化.大米抗氧化肽研究进展[J].*粮食与油脂*,2014,27(1): 5-7
ZHENG Yu-juan, XIA Yu, ZHOU Wen-hua. Research Progress of Rice Antioxidant Peptides [J]. *Cereals and Oils*, 2014, 27(1): 5-7
- [3] Zhang J, Zhang H, Wang L, et al. Antioxidant activities of the rice endosperm protein hydrolysate: identification of the active peptide [J]. *European Food Research and Technology*, 2009, 229(4): 709-719
- [4] Zhu L, Chen J, Tang X, et al. Reducing, radical scavenging, and chelation properties of in vitro digests of alcalase-treated zein hydrolysate [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(8): 2714-2721
- [5] Ma Y, Xiong Y L, Zhai J, et al. Fractionation and evaluation of radical scavenging peptides from in vitro digests of buckwheat protein [J]. *Food Chemistry*, 2010, 118(3): 582-588
- [6] 栾慧.大米蛋白抗氧化效果比较及作用机制的研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2011
Luan Hui. Studies on Antioxidant Effects of Different Rice Protein and its Mechanism [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2011
- [7] Ju Z Y, Hettiarachchy N S, Rath N. Extraction, denaturation and hydrophobic properties of rice flour proteins [J]. *Journal of Food Science*, 2001, 66(2): 229-232
- [8] Nielsen P M, Petersen D, Dambmann C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis [J]. *Journal of Food Science*, 2001, 66(5): 642-646
- [9] Su G, Ren J, Zhao M, et al. Comparison of Superdex Peptide HR 10/30 Column and TSK Gel G2000 SWXL Column for Molecular Weight Distribution Analysis of Protein Hydrolysates [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2013, 6(12): 3620-3626
- [10] 张君慧.大米蛋白抗氧化肽的制备,分离纯化和结构鉴定[D].无锡:江南大学,2009
ZHANG Jun-hui. Study on the Preparation, Purification, and Identification of Antioxidant Peptides from Rice Endosperm Protein [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009
- [11] Ozgen M, Reese R N, Tulio A Z, et al. Modified 2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(4): 1151-1157
- [12] Xia N, Wang J M, Gong Q, et al. Characterization and In Vitro digestibility of rice protein prepared by enzyme-assisted microfluidization: Comparison to alkaline extraction [J]. *Journal of Cereal Science*, 2012, 56(2): 482-489
- [13] 黄薇,宋永康,林虬,等.不同蛋白酶酶解大豆蛋白的过程变化规律研究[J].*粮食与饲料工业*,2012,10:22-25
WANG Wei, SONG Yong-kang, LIN Qiu, et al. Enzymatic Hydrolysis of Soybean Meal by Different Kinds of Protease [J]. *Cereal and Feed Industry*, 2012, 10: 22-25
- [14] Lang G, Kagiya Y, Kitta K. Multiplex comparison of the digestibility of allergenic and non-allergenic proteins in rice grains by in vitro digestion [J]. *Food Chemistry*, 2015, 168: 606-614