

长白山榛仁 (*Corylus heterophylla* Fisch.) 蛋白酶解物对小鼠免疫功能的影响

王明爽^{1, 2}, 闵伟红^{1, 2}, 沈明浩¹, 刘威^{1, 2}, 苗欣宇^{1, 2}, 毛晶^{1, 2}, 刘景圣^{1, 2}

(1. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林长春 130118)

(2. 小麦和玉米深加工国家工程实验室, 吉林长春 130118)

摘要: 本文研究不同水解度的长白山榛仁蛋白酶解物对小鼠免疫功能的影响。按水解时间不同制备六种水解度榛仁蛋白酶解物(DH 分别为 24.16、29.69、33.22、36.33、38.08 和 39.57%), 给受试组小鼠经口按 1.00 g/kg bw 剂量灌胃, 灌胃第 10、20、30 d 后, 以小鼠免疫脏器指数, 脾淋巴细胞增殖能力, 巨噬细胞吞噬活性, 血清细胞因子水平(IFN- γ 和 IL-4), 血清碱性磷酸酶活力为指标, 研究榛仁蛋白酶解物对小鼠的免疫调节功能。结果表明: 水解度 33.22% 的榛仁蛋白酶解物只显著增加了小鼠胸腺指数 ($p < 0.05$); 水解度为 36.33、38.08 和 39.57% 的榛仁蛋白酶解物均能显著或极显著地增加小鼠免疫脏器指数、血清 IFN- γ 和 AKP 水平, 增强脾淋巴细胞增殖活性和巨噬细胞吞噬活性 ($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$)。结论: 水解度为 36.33、38.08 和 39.57% 的榛仁蛋白酶解物具有增强小鼠免疫功能的作用。本研究为榛仁蛋白开发具有免疫活性的肽类产品提供了实验依据。

关键词: 长白山榛仁; 蛋白酶解物; 免疫调节; 细胞因子

文章编号: 1673-9078(2016)2-1-6

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.2.001

Effect of Enzymatic Hydrolysates of Hazelnut (*Corylus heterophylla* Fisch.)

from Changbai Mountain on the Immune Function in Mice

WANG Ming-shuang^{1,2}, MIN Wei-hong^{1,2}, SHEN Ming-hao¹, LIU Wei^{1,2}, MIAO Xin-yu^{1,2}, MAO Jing^{1,2},
LIU Jing-sheng^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

(2. National Engineering Laboratory on Wheat and Corn Further Processing, Changchun 130118, China)

Abstract: The effect of enzymatic protein hydrolysates with different degrees of hydrolysis (DHs) of the hazelnut from Changbai Mountain on the immune function in mice was evaluated in this study. Hazelnut protein hydrolysates with 6 different DHs (24.16%, 29.69%, 33.22%, 36.33%, 38.08%, and 39.57%) were prepared according to their hydrolysis time, and were orally (gavage) administered to the test mice groups at a dose of 1.00 g/kg body weight. Through immune organ index analysis and the spleen lymphocyte proliferation function, phagocytic activity of macrophages, cytokine levels in serum (IFN- γ and IL-4), and the activity of alkaline phosphatase in serum as indicators, the immunomodulatory effects of hazelnut protein hydrolysates in mice were studied on 10, 20, and 30 days after administration. The results demonstrated that the hazelnut protein hydrolysate with a DH of 33.22% significantly increased the thymus index of mice ($p < 0.05$). The hazelnut protein hydrolysates with DHs of 36.33%, 38.08%, and 39.57% also significantly increased the immune organ index, IFN- γ and AKP levels in serum, and enhanced the spleen lymphocyte proliferative activity and macrophage phagocytic activity ($p < 0.05$ or $p < 0.01$). In conclusion, hazelnut protein hydrolysates with DHs of 36.33%, 38.08%, and 39.57% could enhance the immune function in mice. This study provides an experimental basis for the development of peptide products with immune activity from hazelnut proteins.

Key words: hazelnut from Changbai Mountain; protein hydrolysate; immune regulation; cytokine

收稿日期: 2015-04-09

基金项目: 国家“863”计划项目(2013AA102206)

作者简介: 王明爽(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为发酵微生物的选育与代谢调控

通讯作者: 闵伟红(1971-), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事发酵工程、粮油科学与深加工技术研究

榛子(*Corylus heterophylla* Fisch.), 是世界四大坚果之一, 享有“坚果之王”的美称。我国榛属资源丰富, 现有榛林 167 万 hm^2 , 年产榛果 26000 t。目前关于榛仁的开发与利用主要是对榛仁进行直接食用或制成榛子油、榛子粉等粗加工产品。榛仁中油脂含量约为 60%, 蛋白质含量为 20~30%, 对于提取榛子油后

得到的榛仁粕,其蛋白质含量高达40%,而目前榛仁粕大都被用作动物饲料或植物肥料,经济效益低^[1-3],如何高值化利用该部分资源备受关注。

生物活性肽是氨基酸的短片段,通常包含3~20个氨基酸,对人体健康有积极的影响^[4]。利用天然食物源制备的生物活性肽已成为世界范围内的研究热点,目前已发现多种由食物蛋白酶水解制备的生物活性肽,包括抗氧化肽^[5],ACE抑制肽^[6],矿物质结合肽^[7],抗血栓形成肽^[8],抗菌肽^[9]及免疫调节肽^[10-11]。

榛仁蛋白经水解后所获得的肽具有多种生理药理活性,如降血脂、抗疲劳^[12]、抗氧化等^[13],而对于榛仁免疫调节肽的研究则未见报道。本研究以榛仁粕中的分离蛋白为原料,考察了不同水解度的榛仁蛋白酶解物对小鼠免疫功能的影响,以期对榛仁免疫调节肽的开发提供理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

榛仁分离蛋白(蛋白含量74.00%),实验室自制。4周龄昆明雌性小鼠,SPF级,体重(20±2)g,由长春生物制品研究所有限责任公司提供。许可证号:scXK(吉)2011-0003。

Alcalase 2.4L FG,丹麦诺维信公司;Hank's液,Genview公司;RPMI-1640培养基,HyClone;MTT、伴刀豆蛋白A(ConA)、二甲基亚砜(DMSO),美国Sigma公司;胎牛血清(FBS),Gibco;碱性磷酸酶(AKP)试剂盒,南京建成生物工程研究所;小鼠IFN-γ、IL-4 ELISA检测试剂盒,R&D公司;所用其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

SPECTRA MAX 190型酶标仪,美国Molecular Devices公司;CB150型CO₂培养箱,德国BINDER公司;Z36HK型高速冷冻离心机,德国HERMLE公司;CL-32L型高压蒸汽灭菌锅,日本ALP。

1.3 试验方法

1.3.1 榛仁分离蛋白的制备

将去油后的榛仁粕粉碎,调液比1:10,pH值9.5,于50℃条件下水浴90min,5000r/min离心10min,取上清液,调pH值5.0并搅拌,5000r/min离心10min,沉淀层水洗至中性后冷冻干燥即为榛仁分离蛋白。

1.3.2 榛仁蛋白酶解物的制备

取榛仁分离蛋白,加入蒸馏水配成底物浓度为2.0%的溶液,100℃,水浴15min,破坏蛋白结构,冷却后置于54℃恒温水浴锅中,调节pH8.5,加入碱性蛋白酶(加酶量10000.00U/g),在最适温度和pH下搅拌,酶解时间分别为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.5h后,水浴100℃,10min灭酶活,冷却,调至pH中性,5000r/min离心15min,上清液经真空浓缩,冷冻干燥后储存在-20℃备用。

1.3.3 水解度(DH)测定^[14]

水解度的测定采用pH-stat法进行测定,榛子分离蛋白的水解度DH根据消耗的NaOH的量来表示,计算公式:

$$DH\% = (V_{NaOH} \times C_{NaOH}) / (M_p \times H_{tot} \times \alpha) \times 100\%$$

式中 V_{NaOH} 为碱液的体积, mL; C_{NaOH} : 碱液的浓度, mol/L; α : 氨基的解离度; M_p : 底物中蛋白质总质量, g; H_{tot} : 底物中蛋白质中肽键的总数(取8.0), mmol/g。 $\alpha = 10^{(pH - pK)} / (10^{(pH - pK)} + 1)$, 式中 pK: α -氨基的解离常数, 一般取7.0为平均值进行计算。

1.3.4 实验动物及分组

表1 实验动物分组

Table 1 Grouping of mice in the experiments

分组	数量	灌胃内容	灌胃剂量
G ₀	24	蒸馏水	0.01 mL/g bw
G ₁	24	榛仁蛋白酶解物(DH 24.16%)	0.01 mL/g bw
G ₂	24	榛仁蛋白酶解物(DH 29.69%)	0.01 mL/g bw
G ₃	24	榛仁蛋白酶解物(DH 33.22%)	0.01 mL/g bw
G ₄	24	榛仁蛋白酶解物(DH 36.33%)	0.01 mL/g bw
G ₅	24	榛仁蛋白酶解物(DH 38.08%)	0.01 mL/g bw
G ₆	24	榛仁蛋白酶解物(DH 39.57%)	0.01 mL/g bw

冷冻干燥后的酶解物冻干粉配制成浓度0.1g/mL的溶液,将4周龄小鼠适应性喂养3d后随机分为7组,随后按照表1所示分组和灌胃,每天灌胃一次,并在灌胃开始10、20、30d分别在各组随机选取8只小鼠进行各项免疫指标测定。实验期间,各组小鼠自由采食、饮水。

1.3.5 小鼠免疫脏器指数测定^[15]

将小鼠眼球取血后颈椎脱臼处死,取脾脏和胸腺,用滤纸吸干脏器表面血污,称重。按下列公式计算胸腺指数和脾脏指数。

脾脏(胸腺)指数(mg/g) = 脾脏(胸腺)重量/小鼠体重

1.3.6 小鼠T淋巴细胞增殖能力测定^[4,15]

将小鼠处死后,无菌条件取脾并制备脾细胞悬液。台盼蓝染色计数,活细胞数大于95%,调整细胞浓度为 5×10^6 个/mL,无菌条件将脾细胞悬液加入含有ConA(2 μg/mL)的96孔培养板中,每孔200 μL,置5%

CO₂、37℃恒湿培养箱中孵育72h，培养结束后，向每孔中加入10μL MTT溶液(5mg/mL)，继续培养4h后，小心弃掉上清液，向每孔中加入100μL DMSO溶解结晶紫，振荡10min，酶标仪读取OD_{570nm}值。

1.3.7 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能测定

通过中性红吞噬实验测定巨噬细胞吞噬能力^[16]。将小鼠处死后，制备小鼠腹腔巨噬细胞悬液并计数。调整细胞浓度为1×10⁶个/mL，96孔培养板每孔加入100μL该浓度细胞悬液，置于37℃、5% CO₂培养箱中孵育3h，弃掉培养液，每孔加入100μL中性红溶液(0.1%)与细胞共培养30min，取出后除去中性红溶液，用无菌PBS溶液洗3遍。每孔加入100μL细胞溶解液(冰乙酸:乙醇=1:1)，4℃静置过夜。酶标仪读取OD_{540nm}值。OD值越高反映巨噬细胞的吞噬能力越强。

1.3.8 小鼠血清细胞因子水平测定(IFN-γ和IL-4)

小鼠摘眼球取血，将血液室温自然凝固10~20min，3000r/min离心10min。仔细收集上清液，待用。

以受试小鼠血清为测定样本，采用ELISA夹心法对受试小鼠进行细胞因子水平测定。严格按照IFN-γ和IL-4试剂盒说明书操作，测定小鼠血清IFN-γ、IL-4水平。

1.3.9 小鼠血清碱性磷酸酶(AKP)活力测定

以受试小鼠血清为测定样本，严格按照AKP试剂盒说明书操作，测定小鼠血清AKP活力。

1.4 统计分析

所有数据均以平均数±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。用PASW(Version 18.0)软件进行单因素方差分析(ANOVA)。用LSD多重比较法分析各组间的差异显著性， $p < 0.05$ 为差异显著， $p < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 榛仁蛋白酶解物对小鼠免疫脏器指数的影响

免疫器官按作用不同分为中枢免疫器官和外周免疫器官，胸腺和脾脏是机体的重要免疫器官，前者属于中枢免疫器官，后者属于外周免疫器官，两者均与体液免疫和细胞免疫有密切联系。脾脏指数和胸腺指数的大小直接反映机体免疫水平的高低^[17]。榛仁蛋白酶解物对小鼠脾脏指数和胸腺指数的影响见图1。

由图1a可以看出，灌胃第10d，与G₀组相比，

各个试验组的脾脏指数无显著差异；灌胃第20、30d，只有G₄组的脾脏指数表现出极显著增加($p < 0.01$)，其余试验组的脾脏指数均有所增加但差异不显著。由图1b可知，与G₀组相比，灌胃第10d，G₅组的胸腺指数表现出显著增加($p < 0.05$)；灌胃第20d，G₄组表现出显著增加($p < 0.05$)，G₅组表现出极显著增加($p < 0.01$)；灌胃第30d，G₃和G₆组显著增加($p < 0.05$)，而G₄和G₅组极显著增加($p < 0.01$)。总体来说，G₄组榛仁蛋白酶解物对小鼠脾脏和胸腺均有极显著的刺激增生作用，G₅组榛仁蛋白酶解物对小鼠胸腺有极显著的刺激作用，同时，G₃和G₆组在灌胃第30d显著增加小鼠胸腺指数。提示特定水解度的榛仁蛋白酶解物具有提高小鼠免疫脏器指数的作用，这与牡蛎蛋白和玉米胚芽蛋白水解物的作用相似^[15,18]。

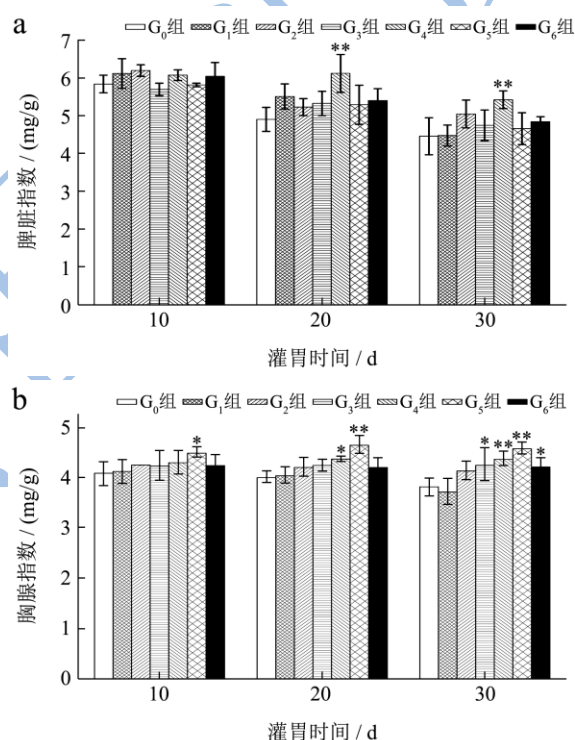


图1 不同水解度的榛仁蛋白酶解物对小鼠脾脏指数及胸腺指数的影响

Fig.1 Effect of hazelnut protein hydrolysates with different DHs on indices of spleen and thymus in mice

注:*表示与对照组相比差异显著($p < 0.05$), **表示与对照组相比差异极显著($p < 0.01$),下同。

2.2 榛仁蛋白酶解物对小鼠 T 淋巴细胞增殖的影响

T 淋巴细胞增殖能力是反映机体细胞免疫的重要指标。榛仁蛋白酶解物对 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖的影响见图 2。

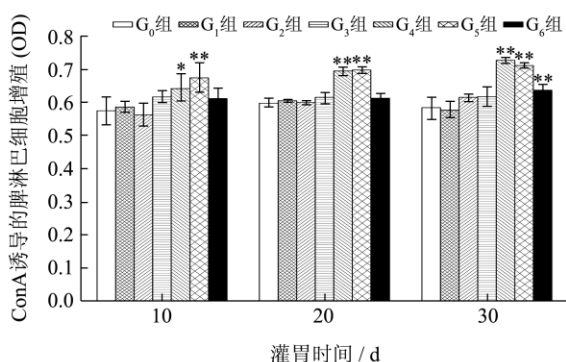


图2 不同水解度的榛仁蛋白酶解物对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响

Fig.2 Effect of hazelnut protein hydrolysates with different DHs on the spleen lymphocyte proliferation in mice

由图2可知,与G₀组相比,灌胃第10 d, G₄组由ConA诱导的脾淋巴细胞增殖显著增加 ($p < 0.05$), G₅组极显著增加 ($p < 0.01$); 灌胃第20 d, G₄、G₅组极显著高于G₀组 ($p < 0.01$); 灌胃第30 d, G₄、G₅和G₆组均极显著高于G₀组 ($p < 0.01$)。本研究中, G₄、G₅组的榛仁蛋白酶解物能极显著地增强小鼠脾淋巴细胞的增殖, G₆组只在灌胃第30 d极显著地增强小鼠脾淋巴细胞的增殖,表明特定水解度的榛仁蛋白酶解物能极显著地增强小鼠ConA诱导的脾淋巴细胞增殖,这与其他蛋白水解物对小鼠免疫功能的影响相似,如核桃仁蛋白和鲤鱼卵蛋白经Alcalase水解产生的水解物也能增强小鼠脾淋巴细胞增殖能力^[19-20]。

2.3 榛仁蛋白酶解物对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活性的影响

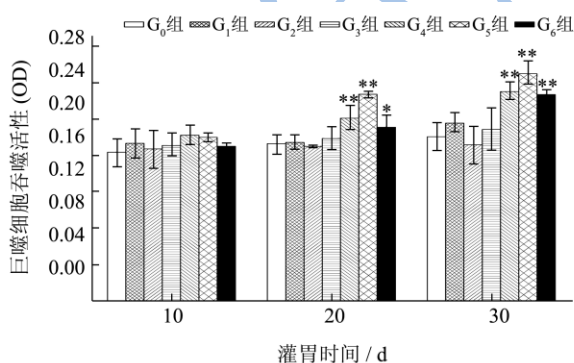


图3 不同水解度的榛仁蛋白酶解物对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

Fig.3 Effect of hazelnut protein hydrolysates with different DHs on the phagocytic activity of mouse peritoneal macrophages

巨噬细胞能够吞噬或杀伤癌细胞及外来异己细胞,在非特异性免疫应答的诱导和调节中起关键作用。单核巨噬细胞的吞噬能力是衡量非特异性免疫功能的

指标之一^[21]。榛仁蛋白酶解物对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活性的影响见图3。

由图3可知,与G₀组相比,灌胃第10 d,所有试验组的巨噬细胞吞噬活性均有所增加,但差异不显著;灌胃第20 d, G₄和G₅组差异极显著 ($p < 0.01$), G₆组差异显著 ($p < 0.05$); 灌胃第30 d, G₄、G₅和G₆组均极显著地高于G₀组 ($p < 0.01$)。研究发现,鳕鱼排蛋白和油茶粕蛋白经Alcalase水解产生的水解物能够显著地增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活性^[22-23],本研究中, G₄、G₅和G₆组榛仁蛋白酶解物能极显著增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活性。

2.4 榛仁蛋白酶解物对小鼠血清细胞因子的影响

Th细胞,特别是Th1和Th2细胞,通过分泌不同的细胞因子,相互调节,相互制约,维持机体免疫系统的正常功能。Th1型细胞以表达TNF- α 、IFN- γ 为主,属于促炎细胞因子,主要功能是促进细胞免疫和抑制体液免疫。Th2型细胞以分泌IL-4、IL-6和IL-10为主,属于抑炎细胞因子,主要功能是促进体液免疫和抑制细胞免疫。目前将IFN- γ 和IL-4分别作为Th1和Th2细胞的代表性细胞因子进行研究^[24]。榛仁蛋白酶解物对小鼠血清IFN- γ 、IL-4浓度的影响见图4、5。

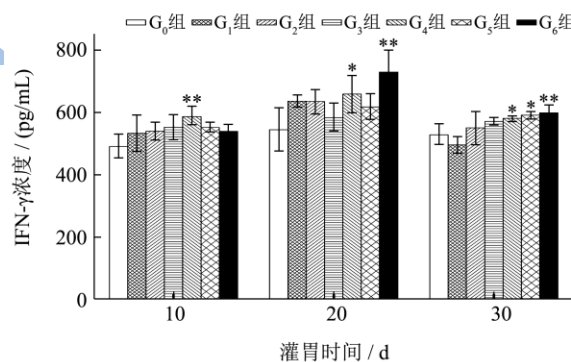


图4 不同水解度的榛仁蛋白酶解物对小鼠血清IFN- γ 的影响
Fig.4 Effect of hazelnut protein hydrolysates with different DHs on the serum IFN- γ

由图4可知,与G₀组相比,灌胃第10 d,所有试验组的IFN- γ 浓度均增加, G₄组差异极显著 ($p < 0.01$); 灌胃第20 d, G₄组差异显著 ($p < 0.05$), G₆组差异极显著 ($p < 0.01$),且达到最大值; 灌胃第30 d, G₄、G₅组的IFN- γ 浓度显著高于G₀组,而G₆组极显著高于G₀组。由图5可知,与G₀组相比,所有试验组的IL-4浓度均无显著变化。在灌胃第10 d, G₄组的IL-4浓度最大; 灌胃第20 d, G₆组的IL-4浓度达最大值; 灌胃第30 d, G₄组和G₅组的IL-4浓度高于其他

试验组。本研究证实特定水解度的榛仁蛋白酶解物可明显增加小鼠血清 IFN- γ 和 IL-4 水平, 其中 G₄、G₅ 和 G₆ 组受试小鼠的血清 IFN- γ 浓度极显著高于对照组, 初步表明榛仁蛋白水解物诱导 Th1/Th2 平衡向 Th1 方向漂移, 可能诱导机体的炎症性反应。

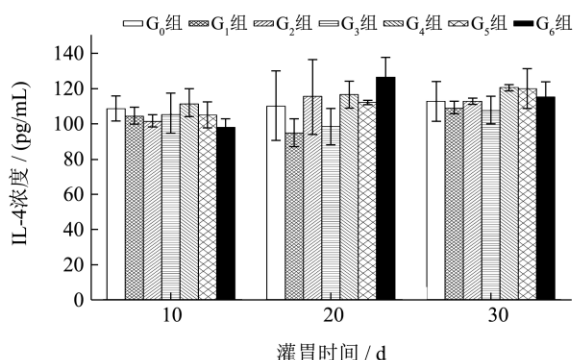


图5 不同水解度的榛仁蛋白酶解物对小鼠血清 IL-4 的影响
Fig.5 Effect of hazelnut protein hydrolysates with different DHs on the serum IL-4

2.5 榛仁蛋白酶解物对小鼠血清碱性磷酸酶 (AKP) 活力的影响

AKP 是一种重要的水解酶, 能催化磷酸单脂的水解及磷酸基团的转移反应, 对细菌等异物在溶酶体内的消化降解具有重要作用, 并在免疫反应中发挥作用, AKP 可以改变病原体表面结构, 从而增强机体对病原体的识别和吞噬能力, 对动物的生存具有重要意义, 是动物免疫学中广泛研究的重要的免疫指标^[25~26]。榛仁蛋白酶解物对小鼠 AKP 的影响见图 6。

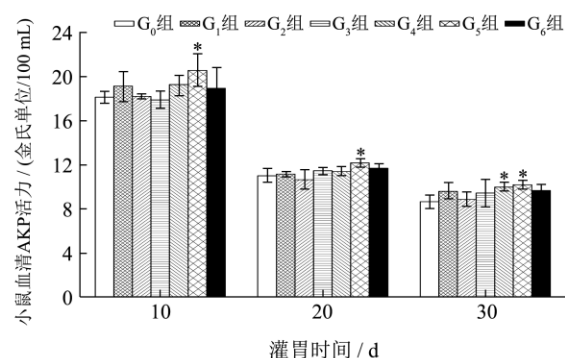


图6 不同水解度的榛仁蛋白酶解物对小鼠血清碱性磷酸酶活力的影响
Fig.6 Effect of hazelnut protein hydrolysates with different DHs on the activity of serum AKP

由图 6 可知, 与 G₀ 组相比, 灌胃第 10、20、30 d, G₄ 组均显著增加 ($p < 0.05$); G₅ 组在灌胃第 30 d 显著增加 ($p < 0.05$), 其他试验组无显著变化。表明在相同的灌胃周期特定水解度的酶解物可提高小鼠血清

AKP 活力, 从而增强其免疫能力。

3 结论

水解度是影响蛋白水解物免疫应答能力的重要因素, 水解度不同, 水解物的生物活性表现出显著差异。但免疫应答能力与水解度之间没有线性关系, 只有特定水解度的水解产物才具有高免疫活性^[22]。本试验以榛仁分离蛋白为原料, 制备了六种水解度的榛仁蛋白酶解物并从免疫器官、免疫细胞和免疫分子三个方面研究了其对小鼠免疫功能的影响。试验结果表明, 水解度为 36.33%、38.08% 和 39.57% 的三种榛仁蛋白酶解物对小鼠免疫功能起到明显增强作用, 提示此三种水解度的酶解物经水解产生了具有免疫活性的小分子肽, 初步筛选出具有免疫调节作用的榛仁肽粗提物, 这有利于榛仁粕的充分利用, 减少优质蛋白的浪费, 同时也为榛仁蛋白开发具有免疫活性的功能性食品和保健食品提供了数据依据。

参考文献

- [1] 李宁, 苏淑钗, 景淼, 等. 榛子的国内外研究概况[J]. 山东林业科技, 2011, 01: 96-98
LI Ning, SU Shu-chai, JING Miao, et al. Research survey at home and abroad of hazel [J]. Shan Dong Forestry Science and Technology, 2011, 1: 96-98
- [2] 杜艳萍, 刘春雷, 闵伟红, 等. 长白山榛仁分离蛋白及其主要组分的功能性质研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(5): 109-115
DU Yan-ping, LIU Chun-lei, MIN Wei-hong, et al. Functional properties of the protein isolate and major fractions of hazelnut proteins prepared from the Changbai mountain in China [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(5): 109-115
- [3] 全梦卓, 赵文恩. 榛子的综合利用[J]. 广州化工, 2013, 41(21): 28-30
TONG Meng-zhuo, ZHAO Wen-en. On Exploitation of Hazelnut [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2013, 41(21): 28-30
- [4] Chalamaiah M, Hemalatha R, Jyothirmayi T, et al. Immunomodulatory effects of protein hydrolysates from rohu (*Labeo rohita*) egg (roe) in BALB/c mice [J]. Food Research International, 2014, 62: 1054-1061
- [5] Lee W S, Jeon J K, Byun H G. Characterization of a novel antioxidative peptide from the sand eel *Hypoptychus dybowskii* [J]. Process Biochemistry, 2011, 46(5): 1207-1211

- [6] Wang J, Hu J, Cui J, et al. Purification and identification of a ACE inhibitory peptide from oyster proteins hydrolysate and the antihypertensive effect of hydrolysate in spontaneously hypertensive rats [J]. Food chemistry, 2008, 111(2): 302-308
- [7] Torres-Fuentes C, Alaiz M, Vioque J. Affinity purification and characterisation of chelating peptides from chickpea protein hydrolysates [J]. Food Chemistry, 2011, 129(2): 485-490
- [8] Shimizu M, Sawashita N, Morimatsu F, et al. Antithrombotic papain-hydrolyzed peptides isolated from pork meat[J]. Thrombosis research, 2009, 123(5): 753-757
- [9] Di Bernardini R, Hamedy P, Bolton D, et al. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products [J]. Food Chemistry, 2011, 124(4): 1296-1307
- [10] Yang R, Zhang Z, Pei X, et al. Immunomodulatory effects of marine oligopeptide preparation from Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) in mice [J]. Food Chemistry, 2009, 113(2): 464-470
- [11] Hua Y, LIU Y, KONG B. Hydrolyzing condition and immunocompetence of sheep bone protein enzymatic lysates [J]. Agricultural Sciences in China, 2009, 8(11): 1332-1338
- [12] 王晶.榛仁肽的制备及特性研究[D].吉林农业大学,2006
WANG Jing. The preparation of hazelnut peptide and the study on its speciality [D]. Jilin Agricultural University, 2006
- [13] 郭庆启,张娜,姜元松,等.榛子仁蛋白酶解工艺的优化及酶解物抗氧化能力的研究[J].食品科学,2013,34(9):189-193
GUO Qing-qi, ZHANG Na, JIANG Yuan-song, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of hazelnut kernel protein and antioxidant capacity of its hydrolysate [J]. Food Science, 2013, 34(9):189-193
- [14] 周慧江,朱振宝,易建华.核桃蛋白水解物水解度测定方法比较[J].粮食与油脂,2012,2:28-30
ZHOU Hui-jiang, ZHU Zhen-bao, YI Jian-hua. Various methods available for determination of hydrolyzed degree of walnut protein [J]. Cereals Oils, 2012, 2: 28-30
- [15] Wang Y K, He H L, Wang G F, et al. Oyster (*Crassostrea gigas*) hydrolysates produced on a plant scale have antitumor activity and immunostimulating effects in BALB/c mice [J]. Marine Drugs, 2010, 8(2): 255-268
- [16] 刘文辉,高占玲,王金凤,等.参梨活力饮对小鼠免疫功能影响的实验研究[J].时珍国医国药,2014,25(3):579-580
LIU Wen-hui, GAO Zhan-ling, WANG Jin-feng, et al. Experimental study on effect of pear energy drink on immune function in mice [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2014, 25(3): 579-580
- [17] 张勇,朱宇旌,刘勇,等.红三叶寡肽对小鼠免疫功能的影响[J].安徽农业科学,2007,35(35):11338-11339+11342
ZHANG Yong, ZHU Yu-jing, LIU Yong, et al. Effect of *Trifolium pratense* Oligopeptide on immune function of mouse [J]. Journal of Anhui Agri. Sci., 2007, 35(35): 11338-11339+11342
- [18] 张鸣镝,管晓,姚惠源.玉米胚芽蛋白酶解物对小鼠免疫功能的影响[J].食品科学,2007,28(2):302-305
ZHANG Ming-di, GUAN Xiao, YAO Hui-yuan. Effects of corn germ protein hydrolysates on mouse immunity [J]. Food Science, 2007, 28(2): 302-305
- [19] 崔犁,郭森,翟梦新,等.核桃仁蛋白中性蛋白酶水解物提高脾淋巴细胞和巨噬细胞功能[J].食品科技,2013, 38(9): 15-19
CUI Li, GUO Miao, ZHAI Meng-xin, et al. Promotion of spleen lymphocyte and macrophage functions induced by neutral protease hydrolyzate of walnut protein [J]. Food Science and Technology, 2013, 38(9): 15-19
- [20] Chalamaiah M, Hemalatha R, Jyothirmayi T, et al. Chemical composition and immunomodulatory effects of enzymatic protein hydrolysates from common carp (*Cyprinus carpio*) egg (roe) [J]. Nutrition (2014), doi:10.1016/j.nut.2014.08.006
- [21] 国明明.大豆肽的制备及其免疫调节作用的研究[D].江南大学,2007
GUO Ming-ming. Study on Preparation and Immunological Regulation of Soy Peptides[D].Jiangnan University,2007
- [22] Hou H, Fan Y, Li B, et al. Preparation of immunomodulatory hydrolysates from *Alaska pollock* frame [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012, 92(15): 3029-3038
- [23] 龚吉军,黄卫文,钟海雁,等.油茶籽多肽对小鼠免疫调节功能的影响[J].中国食品学报,2013,13(12):21-27
GONG Ji-jun, HUANG Wei-wen, ZHONG Hai-yan, et al. Immunomodulatory effects of oil-tea seed meal peptide in mice [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(12): 21-27
- [24] 杨瑞丽,唐晓恩,周杨,等.荔枝果肉乙酸乙酯粗提物对Th1/Th2 细胞平衡的影响[J].现代食品科技,2013,29(7): 1467- 1470
YANG Rui-li, TANG Xiao-en, ZHOU Yang, et al. Effect of ethyl acetate extracts from litchi fruit on the Th1/Th2 cell balance in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(7): 1467-1470
- [25] 明建华,谢骏,徐跑,等.大黄素、维生素 C 及其配伍对团头鲂感染嗜水气单胞菌后生理生化指标的影响[J].中国水产科

- 学,2011,18(3):588-601
- MING Jian-hua, XIE Jun, XU Pao, et al. Effects of emodin, vitamin C and their combination on biochemical parameters and two HSP70s mRNA expression of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*) infected with *Aeromonas hydrophila* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(3): 588-601
- [26] 李赫,宋文华,于翔,等.几种免疫增强剂对草鱼 SOD、CAT 及 AKP 活性的影响[J].水产学杂志,2010,23(4):6-9
- LI He, SONG Wen-hua, YU Xiang, et al. Effects of different immunopotentiators on serum SOD, CAT and AKP activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. Chinese Journal Fisheries, 2010, 23(4): 6-9

现代食品科技