

抗氧化肽的构效关系研究进展

张 晖¹, 唐文婷^{1,2}, 王 立¹, 钱海峰¹, 齐希光¹

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡, 214122; 2. 青岛农业大学 食品科学与工程学院, 山东 青岛 266109)

摘要: 综述了不同来源抗氧化肽的氨基酸组成、序列、可能的活性位点和抗氧化机制, 以及目前主要的抗氧化肽构效关系研究方法。

关键词: 抗氧化肽; 氨基酸组成; 序列; 活性位点; 构效关系

中图分类号: TQ 93 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)07—0673—07

Review on Structure–Activity Relationship of Antioxidative Peptides

ZHANG Hui¹, TANG Wen-ting^{1,2}, WANG Li¹, QIAN Hai-feng¹, QI Xi-guang¹

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: The amino acid compositions, sequences, possible active sites and antioxidation mechanisms of antioxidative peptides were summarized in this paper. The research methods of antioxidative peptide structure–activity relationship were also introduced.

Keywords: antioxidative peptides, amino acid composition, sequence, active site, structure–activity relationship

生物活性肽(Bioactive Peptides)是对生命体的生命活动具有积极作用、并最终影响机体健康的特殊蛋白片段。抗氧化肽(Antioxidative Peptides)是目前国内外研究较多的一种生物活性肽, 具有抑制、延缓脂质氧化, 保护人体组织器官免受自由基侵害的作用。生物体内的氧化损伤可改变细胞的结构和功能, 进而影响机体健康。食品、饲料加工中发生的脂质过氧化易破坏食品营养价值, 甚至诱发疾病。食品工业中广泛应用的化学合成抗氧化剂如 BHA、BHT, 抗氧化效果良好, 但长期食用对人体具有一定

的潜在毒性。食源性蛋白质通过水解作用得到的抗氧化肽具有安全性高、抗氧化性强和易被吸收等特点^[1-3], 因此在食品、制药和化妆品行业中具有极大的潜在利用价值。已有研究者从发酵乳^[4]、大豆^[5-6]、乳清^[7]、玉米^[8]、鸡蛋^[9]和鱼^[10]中制备得到抗氧化肽。尽管其体内抗氧化性的研究报道较少, 但目前的体外研究表明这些食源性抗氧化肽在人体和食品中具有极大的抗氧化潜势。

目前抗氧化肽的相关研究主要集中于从蛋白酶解物中分离、纯化得到抗氧化肽, 并分析氨基酸

收稿日期: 2013-03-19

基金项目: 国家 863 计划项目(2013AA102207)。

作者简介: 张 晖(1966—), 女, 上海人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事谷物功能因子及健康食品研究。

E-mail: zhanghui@jiangnan.edu.cn

的组成、肽序等,虽有一些涉及到抗氧化肽活性位点、一级结构与功能方面的研究,但其分子机制、抗氧化机理尚未彻底阐明。而探明抗氧化肽的构效关系,揭示其抗氧化机理,对于抗氧化肽的开发使用具有重要的意义。作者综述了已报道的不同来源的抗氧化肽的氨基酸组成和排列特点、可能的活性位点和抗氧化机制,以及目前主要的研究抗氧化肽构效关系的方法。

1 抗氧化肽构效关系

大部分研究者认为,抗氧化肽通常包含特定类型的氨基酸,氨基酸的种类、序列、构型决定着其抗氧化能力。

1.1 氨基酸组成对抗氧化肽活性的影响

表1中列出了近年来国内外一些研究者通过蛋白质水解法制得的抗氧化肽的来源、评价方法、氨基酸的组成与序列。这些已知序列的抗氧化肽相对分子质量大多在500~1800,氨基酸序列间几乎无同源性。因采用的原料、酶、制备条件不同,抗氧化肽的氨基酸组成、肽序、结构等有差异,最终导致抗氧化肽的活性强弱不同。大部分抗氧化肽在N端包含疏水性氨基酸如Val或Leu,并且序列中含有Pro、His、Tyr、Trp和Cys等氨基酸。疏水性氨基酸的脂肪烃侧链使抗氧化肽与多不饱和脂肪酸的相互作用增强,或易于与自由基结合,从而抑制脂质过氧化反应^[11]。His的抗氧化作用在于其金属螯合能力^[11]。芳香族氨基酸Trp、Tyr可通过供氢^[12]、Cys可通过供电子发挥抗氧化作用^[13]。

1.2 一级结构对抗氧化肽活性的影响

研究者普遍认为抗氧化肽的N端为疏水性氨基酸。但表1中也有例外,如有的抗氧化肽N端为Asn、Tyr和His。此外,也有研究者认为抗氧化肽的C端须为亲水性氨基酸,氨基酸排列顺序的变化也会影响肽的活性。

Chen等人^[34]通过研究28种合成肽的抗氧化活性发现肽中C端缺失His则会降低抗氧化活性,N端缺失Leu却对抗氧化活性无影响,同时他们认为合成肽与非肽抗氧化剂具有协同作用,但与肽本身的抗氧化性无关。Tsuge等人^[14]研究鸡蛋清蛋白水解物AHK时,发现C端Lys的缺失对活性无影响。Mendis等^[35]通过水解鳕鱼皮胶原蛋白得到抗氧化肽HGPLGPL,并推断N端His、C端Leu对肽的高抗氧

化活性具有重要贡献。Guo等人^[27]采用protease N水解蜂王浆蛋白得到29种抗氧化肽,研究了其中12种含2~4个氨基酸的小肽,发现这些肽具有很强的羟基自由基清除能力,但金属螯合能力和超氧阴离子自由基清除能力却有很大不同。Suetsuna等人^[17]等以酪蛋白肽为基础,以谷胱甘肽和肌肽作为对照物,研究了EL、YFYPEL、FYPEL、YPEL、PEL等5种肽的抗氧化活性,其中EL活性最强,而5种构成氨基酸的混合物却不具备抗氧化活性。Saito等人^[36]根据一种大豆蛋白水解物分离出来的抗氧化肽,构建了2个系列三肽文库,其一为含His或Tyr的108个肽,其二是与PHH相关的114个肽的文库,发现含2个Tyr的三肽比含2个His的三肽对亚油酸的过氧化抑制作用更强,YHY与酚类抗氧化剂表现了很强的协同作用,PHH的C端和N端改变并未明显改变其抗氧化活性,在C端含有Trp和Tyr的三肽具有很强的自由基清除能力。

1.3 空间结构对抗氧化肽活性的影响

活性肽的生物活性大多与其空间结构有关。如孙颖等人^[37]指出乳源性抗菌肽的二级结构与其活性密切相关。各种不同来源的抗菌肽二级结构上有许多共同的特性,N-端和C-端具有亲水或两亲性 β -片层或 α -螺旋结构上的正电荷与细菌细胞质膜磷脂分子上的负电荷发生静电相互作用而被吸附在细胞质膜上,可以提高抗菌活性。抗菌肽从 α -螺旋转化为 β -片层能提高对G⁺和G⁻细菌的抑制效果。抗氧化肽在不同体系中发挥抗氧化作用时,空间结构是否有变化,值得深入研究。

2 抗氧化肽活性位点

某些特定氨基酸有可能成为抗氧化肽的活性位点,包括亲核性的含硫氨基酸Cys和Met,芳香族氨基酸Trp、Tyr和Phe,以及含咪唑基的氨基酸His^[12-13]等。芳香族氨基酸可供氢,减慢或终止自由基链式反应,而自身可以通过共振维持稳定。若Tyr与Asp、Glu相邻,因Asp、Glu的羧酸根能吸电子,能减弱Tyr酚羟基上氧电子云密度,使质子更易释放,提高了Tyr供氢能力^[12]。含巯基的半胱氨酸可与自由基反应^[13],甲硫氨酸也可作为体内抗氧化剂^[38]。

2.1 疏水性氨基酸

研究发现含疏水性氨基酸(如Ala、Val、Leu)的抗氧化肽活性与这些分子中特定的疏水性氨基酸

表 1 食源性蛋白质抗氧化肽的来源、评价及氨基酸序列

Table 1 Sources, evaluations and amino acid sequences of food derived antioxidative peptide

	原料	抗氧化性的体外评价方法	抗氧化肽的氨基酸序列	作者	文献
动物源蛋白质	鸡蛋清蛋白	亚油酸过氧化体系(LAPS, 下同)	AHK,VHH,VHHANEN	Tsuge et al.	14
	干鲑鱼	亚油酸甲酯体系	VKL,VVKL VKV,PKAV,IKL,VPSGK,EAK,FVAGK,KVI,KD	Suetsuna	15
	沙丁鱼肉	O ₂ ⁻ ·清除能力,·OH 清除能力	LQPGQGQQ	Suetsuna et al.	16
	酪蛋白	O ₂ ⁻ ·,·OH 和 DPPH 清除能力	YFYPEL	Suetsuna et al.	17
	阿拉斯加狭鳕鱼皮胶原蛋白	LAPS	GEHypGPHypGPHypGPHypGPHypG GPHypGPHypGPHypGPHypG	Kim et al.	18
	酪蛋白	亚油酸的脂氧合酶和 AAPH 催化氧化,亚油酸氢过氧化物的血红蛋白催化氧化,DPPH 清除能力,铁离子螯合能力	VKEAMAPK,AVPYPQR,KVLPVPQK,VLPVPQK	Rival et al.	19
	无卵磷脂的蛋黄	LAPS,人体肝细胞的脂质氧化	LMSYMWSTSM LELHKLRSSSHWSRR	Park et al.	20
	金枪鱼蒸煮汁	DPPH 清除能力	PSHDAHPE,SHDAHPE,VDHDHPE,PKAVHE,PAGY,PHHADS,VDYP	Jao et al.	21
	猪肌原纤维蛋白	LAPS,DPPH 清除能力,金属离子螯合能力	DSGVT,IEAEGE,DAQEKLE,EELDNALN,VPSIDDQEELM	Saiga et al.	22
	鸡蛋白	ORAC,铜离子诱导的低浓度脂蛋白氧化	YAEERYPIL	Davalos et al.	3
	牛α-乳清蛋白和β乳球蛋白	氧自由基吸附能力	WYSLAMAASDI	Hernández-Ledesma et al.	23
	发酵乳	Trolox 等价抗氧化能力	VAPFPGVFGK,HLPLPL,PPQ,GPVRGPFPII,NQE,AKYIPIQYVLSRPSY,IPIQYVL,PPK	Hernández-Ledesma et al.	4
	康吉鳗鱼肉	LAPS,·OH 和 C 为中心的自由基清除能力	LGLNGDDVN	Ranathunga et al.	24
	金枪鱼主骨	·OH、DPPH、O ₂ ⁻ ·清除能力(ESR),LAPS	VKAGFAWTANQQLS	Je et al.	25
	草鱼肉	·OH 清除能力,LAPS	PSKYEFPV	Ren et al.	26
植物源蛋白质	蜂王浆蛋白	·OH、O ₂ ⁻ ·、H ₂ O ₂ 清除能力、金属螯合能力	AL,FK,FR,IR,KF,KL,KY,RY,YD,YY,LDR,KNYP	Guo	27
	金枪鱼红肉副产物	DPPH 清除能力,LAPS	LPTSEAAKY,PMDYMT	Hsu	28
	泥鳅	·OH,DPPH 清除能力,铜离子螯合能力,LAPS	PSYV	You et al.	29
	大豆β-伴球蛋白	LAPS	VNPHDHQN,LVNPHDHQNLLPHH,LLPHHADADY,VIPAGYP LOSGDALRVPSGTTY	Chen et al.	30
	小麦面筋蛋白	LAPS	LQPGQGQQG,AQIPQQ	Suetsuna,et al.	11
	鹰嘴豆蛋白	O ₂ ⁻ ·清除能力	NRYHE	李艳红	31
	玉米醇溶蛋白	·OH,DPPH,ABTS 自由基清除能力	YA,LMCH	Tang et al.	8
	大米蛋白	·OH,DPPH、O ₂ ⁻ ·清除能力,LAPS	FRDEHKK,KHNRGDEF	Zhang et al.	32
	棉籽蛋白	DPPH 清除能力	HDDAPRF	高丹丹	33

残基与脂或脂肪酸的亲性和性相关^[11,39]。Mendis 等人^[35]以鱼皮为原料制得的抗氧化肽 HGPLGP 含有较多疏水性氨基酸。Uchida 等人^[40]研究发现 β-伴球蛋白

源抗氧化肽序列上都含有 Pro 残基, 脯氨酰多肽因易于氧化而发挥抗氧化活性。Rajapakse 等人^[41]从乌贼肉中制备出富含 Gly 和 Leu 的抗氧化肽。

Ranathunga 等人^[25]研究发现疏水性的 Val 或 Leu 可以增加水-油界面肽的存在量,使其更易接近并清除脂相所产生的自由基。Bernardini 等人^[42]从牛肝肌浆蛋白中制备得到的 9 个抗氧化肽中都含有 Val。Hernández 等人^[4]将发酵乳中水溶性部分通过 RP-HPLC 进行分离得到抗氧化肽,研究其抗氧化活性和降压活性,发现 His、Pro (疏水性氨基酸)对抗氧化的影响最大;Trp (疏水性氨基酸)、Tyr 对 ABTS+ 自由基清除的贡献最大,因为这类氨基酸的吡咯基和苯环可供氢。

Hyp 的抗氧化活性对肽的活性也有影响。Kim 等人^[18]在研究抗氧化肽 G-E-Hyp-G-P-Hyp-G-A-Hyp, G-P-Hyp-G-P-Hyp-G-P-Hyp-G 和 G-P-Hyp-G-P-Hyp-G-P-Hyp 时发现,所有的肽都含 3 个 Hyp,并且后者含 3 个 P, 作者认为 Hyp 和 Pro 的存在对抗氧化肽的活性有重要贡献。

Murase 等人^[43]研究了 N-长链酰基组氨酸和 N-长链酰基肌肽的抗氧化活性和乳化性。在含自由基引发剂甲基亚油酸酯的均相溶液中, N-长链酰基组氨酸和 N-长链酰基肌肽均能抑制甲基亚油酸酯氢过氧化物的生成。N-长链酰基组氨酸和 N-长链酰基肌肽对磷脂酰胆碱脂质体在铁离子和抗坏血酸诱导下的氧化抑制作用比组氨酸和肌肽的作用强,原因在于其疏水性的增强。

2.2 极性氨基酸

极性氨基酸通过螯合金属离子来发挥其抗氧化能力^[44-45]。Kato 等人^[44]研究发现丝胶能抑制脂肪的过氧化和多酚氧化酶的活性,其可能的作用机理是丝胶中高比例的羟基氨基酸与铜和铁的络合。吴金鸿^[45]以丝绸废水中的丝胶为原料,水解得到 IILLAAKFG、KVIHKPLI 和 QPVIAHM3 个抗氧化肽,发现特征肽段氨基酸组成中都含有的 Lys 和/或 Pro。

2.3 酸性氨基酸

Saiga 等人^[22]发现猪肌原纤维蛋白的木瓜蛋白酶和蕲蛇酶 E 水解产物具有 DPPH 清除自由基作用和金属螯合能力,其中木瓜蛋白酶水解得到酸性肽表现出比中性和碱性肽更强的抗氧化作用;酸性肽包括 DSGVT, IEAEGE, DAQEKLE, EELDNLN, 和 VPSIDDQEELM,所有的肽都含 Asp 或 Glu,其中 DAQEKLE 的抗氧化活性最强;作者认为在高 pH

值条件下,酸性氨基酸带电变为阴离子,这些残基与金属离子形成复合物,抑制了脂的氧化。Rajapakse^[46]和 Dávalos^[47]等研究了含酸性氨基酸的抗氧化肽,发现酸性氨基酸侧链的羧基具有螯合金属离子的活性。

2.4 碱性氨基酸

Saiga^[22]和 Yong^[48]都认为碱性氨基酸 His 的自由基清除能力源于其咪唑基的降解;肌肽的强抗氧化性是由其组氨酸的自由基清除能力和的淬灭单线态氧的能力所决定的。Suetsuna^[49]采用胃蛋白酶水解对虾肉,得到 3 个抗氧化肽 IKK, FKK 和 FIKK,并测定了合成肽的抗氧化性强弱为 IKK>FKK>FIKK。而当其构成氨基酸以等浓度混合时却未发现任何活性。作者认为含碱性氨基酸(Lys)的肽可以作为电子受体,接受不饱和脂肪酸氧化过程中产生的自由基的电子。Chen^[50]在研究含 His 的肽的抗氧化活性时发现,含 His 的肽能够淬灭单线态氧和羟基自由基,螯合金属离子,而不具备对 2,2'-偶氮双(2,4-二甲基戊腈)诱导的氧化系统的抑制能力和 DPPH 的清除能力。Kohen^[51]提出肌肽及其衍生物具有抗氧化活性主要是因 His 中咪唑基的存在。当咪唑环的 2 个氮中的 1 个被甲基化后,抗氧化活性减少,1-甲基咪唑几乎无活性,表明氮环上的质子对抗氧化活性是必要的,氨基氮旁的氢无法起到供氢作用,而氮环上的氢和咪唑环旁亚甲基碳上的氢可以起到供氢作用。咪唑的氧化产物是咪唑啉酮,咪唑啉酮也具有抗氧化活性。作者还指出 pH 的变化影响肌肽的抗氧化活性,pH 降低,H₂O₂ 清除能力也降低。

3 抗氧化肽构效关系研究方法

目前关于抗氧化肽构效关系的研究报道,主要集中于 2 种方法。一种是基于蛋白水解、肽的分离纯化、活性测定的氨基酸组成序列分析,从而建立抗氧化肽结构与活性之间的关系。一种是不依赖水解、纯化等实验操作的基于计算机辅助分子建模的方法,通过模型的建立分析出构效关系并进行验证。

传统的活性鉴定下的反复分离纯化,涉及大量的人力、物力和时间。定量构效关系(quantitative structure-activity relationship, QSAR)是在一系列化合物的结构及其活性之间建立数量依赖关系的数

学模型。近年来,国内外已经开展了一些关于降压肽、苦味肽和抗氧化肽的定量构效关系的研究。通过 QSAR 的研究,建立活性预测模型来预测肽的抗氧化活性是目前研究者关注的一个焦点^[52]。但值得注意的是,降压肽、苦味肽的因变量指标较少,如降压肽一般采用 $\lg IC_{50}$ 、苦味肽一般采用 $\lg(1/T)$,而抗氧化肽的评价指标如前所述较多,数值模拟分析较为复杂,故抗氧化肽 QSAR 的研究报道相对较少。

Udenigwe 等人^[53]通过化学计量学分析,采用偏最小二乘法回归得到模型方程,认为含硫氨基酸、酸性氨基酸和疏水性氨基酸对蛋白水解物的 DPPH 和 H_2O_2 自由基清除能力和铁离子还原能力具有重要作用。对于超氧阴离子自由基清除能力,只有 Lys 和 Leu 与其具有正相关性,而含硫氨基酸与之具有负相关性。带正电荷的氨基酸、铁离子还原能力与 DPPH、 H_2O_2 清除能力呈负相关性。Li 等人^[54]通过 QSAR 模型的构建发现靠近 C 端的氢键和亲水性、C 端的电荷性质、N 端的疏水性和电荷性质对抗氧化活性的影响较大。吴慧^[55]对乳清蛋白抗氧化肽 VF、LF、RVY、YSL、WYSL 和 GSTV 6 条肽段的化学结构进行了分子模拟,得到各自的稳定的优势构

象,研究了肽分子的电荷分布、前线轨道能量等,从原子净电荷分布角度推测 WYSL 分子中自由基反应的活性位点为吡啶环上的 N9-H49。分子对接模型和虚拟筛选也被用于降压肽等生物活性肽的分子结构研究^[56]。

4 展望

尽管在过去几十年中,抗氧化肽的研究被普遍关注。但到目前为止,因缺乏其实际应用的相关临床验证资料(生物活性、有效性、致敏性和安全性)以及生产成本、口味、色泽等方面的问题^[57-58],仅有很少的商业化产品出现。而在理论上,抗氧化肽构效关系尚未阐明。不同来源的抗氧化肽是否存在相同的氨基酸序列,活性位点的分布特点及作用机理,抗氧化肽活性与构成氨基酸的关系,抗氧化肽与非肽抗氧化剂的协同增效或拮抗关系及其机理值得深入探讨。将生化实验与量子化学的数值模拟相结合,并将其应用于抗氧化肽的构效关系研究中,以期从化学和分子动力学的角度阐明活性肽的构效关系,是一条后续研究思路。

参考文献:

- [1] Meisel H. Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk proteins[J]. *Biopolymers*, 1997, 43(2): 119-128.
- [2] Nagai T, Nagashima T, Abe A, et al. Antioxidative activities and angiotensin-I-converting enzyme inhibition of extracts prepared from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) cartilage and skin [J]. *International Journal of Food Properties*, 2006, 9 (4): 813-822.
- [3] Davalos A, Miguel M, Bartolome B, et al. Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis [J]. *Journal of Food Protection*, 2004, 67(9): 1939-1944.
- [4] Hernández-Ledesma B, Miralles B, Amigo L. Identification of antioxidant and ACE-inhibitory peptides in fermented milk [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2005, 85(6): 1041-1048.
- [5] Pená-Ramos E A, Xiong Y L. Antioxidant activity of soy protein hydrolyzates in a liposomal system [J]. *Journal of Food Science*, 2002, 67(8): 2952-2956.
- [6] Pená-Ramos E A, Xiong Y L. Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties [J]. *Meat Science*, 2003, 64(3): 259-263.
- [7] Pená-Ramos E A, Xiong Y L, Arteaga G. E. Fractionation and characterization for antioxidant activity of hydrolysed whey protein [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2004, 84(14): 1908-1918.
- [8] Tang X Y, He Z Y, Xiong Y L. Peptide Fractionation and Free Radical Scavenging Activity of Zein Hydrolysate [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(1): 587-593.
- [9] Sakanaka S, Tachibana Y. Active oxygen scavenging activity of egg-yolk protein hydrolysates and their effects on lipid oxidation in beef and tuna homogenates [J]. *Food Chemistry*, 2006, 95(2): 243-249.
- [10] Hagen H, Sandnes K. Process for improvement of meat quality in fish, protein hydrolysate and method of producing a protein hydrolysate [P]. International Patent, WO 2004/071202, 2004.
- [11] 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(3): 227-230.

- [12] 徐力,李相鲁,吴晓霞,等. 一种新的玉米抗氧化肽的制备与结构表征[J]. 高等学校化学学报, 2004, 25(3): 466-469.
XU Li, Li Xiang-lu, WU Xiao-xia, et al. Preparation and structural characterization of a new corn anti-oxidative Peptide[J]. **Chemical Research in Chinese Universities**, 2004, 25(3): 466-469. (in Chinese)
- [13] 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(6): 1690-1698.
- [14] Tsugè 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.
- [15] Suetsuna K. Separation and identification of antioxidant peptides from proteolytic digest of dried bonito [J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1999, 65: 92-96.
- [16] Suetsuna K, Ukeda H. Isolation of an octapeptide which possesses active oxygen scavenging activity from peptic digest of sardine muscle[J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1999, 65: 1096-1099.
- [17] 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(3): 128-131.
- [18] Kim S K, Kim Y T, Byun H G, et al. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Alaska pollack skin[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2001, 49(4): 1984-1989.
- [19] Rival S G., Boeriu C G., Wichers H J. Caseins and casein hydrolysates. II. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2001, 49(1): 295-302.
- [20] 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(6): 651-656.
- [21] Jao C L, Ko W C. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging by protein hydrolyzates from tuna cooking juice[J]. **Fisheries Science**, 2002, 68(2): 430-435.
- [22] 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(12): 3661-3667.
- [23] Hernández-Ledesma B, Davalos A, Bartolome B, et al. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2005, 53(3): 588-593.
- [24] 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 and Technology**, 2006, 222(3): 310-315.
- [25] Je J Y, Qian Z J, Byun H G, et al. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis[J]. **Process Biochemistry**, 2007, 42(5): 840-846.
- [26] 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(2): 727-736.
- [27] Guo H, Kouzuma Y, Yonekura M. Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein [J]. **Food Chemistry**, 2009, 113(1): 238-245.
- [28] Hsu, K C. Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product [J]. **Food Chemistry**, 2010, 122(1): 42-48.
- [29] You L, Zhao M, Regenstein J M, et al. Purification and identification of antioxidative peptides from loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry [J]. **Food Research International**, 2010, 43(4): 1167-1173.
- [30] 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.
- [31] 李艳红. 鹰嘴豆蛋白酶解物的制备及其抗氧化肽的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- [32] Zhang J, 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(1): 226-234.
- [33] 高丹丹. 棉籽抗氧化多肽和 ACE 抑制多肽的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2010.
- [34] Chen H M, Muramoto K, Yamauchi F, et al. Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soy bean protein[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1996, 44(9): 2619-2623.
- [35] Mendis E, Rajapakse N, Kim S. Antioxidant Properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2005, 53(3): 581-587.
- [36] Saito K, Jin D H, Ogawa T, et al. Antioxidative properties of tripeptide libraries prepared by the combinatorial chemistry[J].

- Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2003, 51(12): 3668–3674.
- [37] 孙颖, 徐红华, 张艳杰. 乳源生物活性肽构效关系的研究进展[J]. **中国乳品工业**, 2008, 36(9): 42–46.
SUN Ying, XU Hong-hua, ZHANG Yan-jie. Structure and function of milk-derived bioactive peptides [J]. **China Dairy Industry**, 2008, 36(9): 42–46. (in Chinese)
- [38] Blanca H L, Alberto A, Alberto D, et al. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin identification of active peptides by HPLC-MS/MS [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2005, 53(3): 589–593.
- [39] Elias R J, Kellerby S S, Decker E A. Antioxidant activity of proteins and peptides [J]. **Critical Reviews of Food Science and Nutrition**, 2008, 48(5): 430–441.
- [40] Uchida, K, Kawakishi S. Sequence-dependent reactivity of histidine-containing peptides with copper(II)/ascorbate[J]. **Journal of Food Biochemistry**, 1992, 40(1): 13–16.
- [41] Rajapakse N, Mendis E, Byun H G, et al. Purification and in vitro antioxidative effects of giant squid muscle peptides on free radical mediated oxidative systems[J]. **Journal of Nutrition Biochemistry**, 2005, 16(9): 562–569.
- [42] Bernardini R D, Raie D K, Bolton D, et al. Isolation, purification and characterization of antioxidant peptidic fractions from a bovine liver sarcoplasmic protein thermolysin hydrolyzate[J]. **Peptides**, 2011, 32(2): 388–400.
- [43] Murase H, Nagao A, Terao J. Antioxidant and emulsifying activity of N-(Long-chain-acyl) histidine and N-(Long-chain-acyl) carnosine[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1993, 41(10): 1601–1604.
- [44] Kato N, Sato S, Yamanaka A, et al. Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity [J]. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, 1998, 62(1): 145–147.
- [45] 吴金鸿. 丝胶肽的制备及其生物活性功能和结构的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- [46] Rajapakse N, Mendis E, Jung W, et al. Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties[J]. **Food Research International**, 2005, 38(2): 175–182.
- [47] Dávalos A, Miguel M, Bartolomé B, et al. Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis [J]. **Journal of Food Protection**, 2004, 67(9): 1939–1944.
- [48] Samuel H Y, Marcus K. Reaction of histidine with methyl linoleate: characterization of the histidine degradation products[J]. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 1978, 55(3): 352–357.
- [49] Suetsuna K. Antioxidant peptides from the protease digest of prawn (*Penaeus japonicus*) muscle [J]. **Marine Biotechnology**, 2000, 2(1): 5–10.
- [50] Chen H M, Muramoto K, Yamauchi F. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1998, 46(1): 49–53.
- [51] Kohen R, Yamamoto Y, Cundy K C. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain [J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 1988, 85: 3175–3179.
- [52] 梁桂兆, 梅虎, 周原, 等. 氨基酸描述子 SZOTT 用于多肽定量序效建模研究[J]. **高等学校化学学报**, 2006, 27(10): 1900–1902.
LIANG Gui-Zhao, MEI Hu, ZHOU Yuan, et al. Using SZOTT Descriptors for the Development of QSAMs of Peptides [J]. **Chemical Journal of Chinese Universities**, 2006, 27(10): 1900–1902. (in Chinese)
- [53] Udenigwe C C, Aluko R E. Chemometric analysis of the amino Acid requirements of antioxidant food protein hydrolysates[J]. **International Journal of Molecular Sciences**, 2011, 12(5): 3148–3161.
- [54] Li Y W, Li B, He J G, et al. Structure-activity relationship study of antioxidative peptides by QSAR modeling: the amino acid next to C-terminus affects the activity[J]. **Journal of Peptide Science**, 2011, 17(6): 454–462.
- [55] 吴慧. 乳清蛋白抗氧化肽构效关系的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2011.
- [56] Pripp A H. Docking and virtual screening of ACE inhibitory dipeptides [J]. **European Food Research and Technology**, 2007, 225(3): 589–592.
- [57] 程云辉, 曾知音, 郭建伟, 等. 抗氧化肽的酶法制备及其构效关系的研究进展[J]. **食品与机械**, 2009, 25(11): 174–180.
CHENG Yun-hui, ZENG Zhi-yin, GUO Jian-wei, et al. Preparation and structure-activity relationship of antioxidant peptides[J]. **Food and Machinery**, 2009, 25(11): 174–180. (In Chinese)
- [58] 陈洁, 胡晓赞. 蛋白水解物的抗氧化性研究与展望[J]. **中国食品学报**, 2011, 11(9): 111–119.
CHEN Jie, HU Xiao-yun. Review on the antioxidant properties of protein hydrolysates [J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2011, 11(9): 111–119. (In Chinese)