刘童, 谢晓妍, 王颖, 等. 超声辅助酶解法制备白芸豆抗炎肽及其活性研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(5): 227−237. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120223

LIU Tong, XIE Xiaoyan, WANG Ying, et al. Preparation and Activity of Anti-inflammatory Peptides from White Kidney Bean by Ultrasonic-assisted Enzymatic Hydrolysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(5): 227−237. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120223

· 工艺技术 ·

超声辅助酶解法制备白芸豆抗炎肽及其活性研究

刘　童[1], 谢晓妍[1], 王　颖[1,2,3,*], 张芸溪[1], 李思楠[4], 佐兆杭[1], 庞惟俏[1], 张　璐[4,*], 管　骁[5], 赵自力[6], 李　冰[6]

（1.黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163000;
2.国家杂粮工程技术中心, 黑龙江大庆 163319;
3.厦门海洋职业技术学院海洋生物学院, 福建厦门 361100;
4.中国食品发酵工业研究院有限公司, 功能主食创制与慢病营养干预北京市重点实验室, 北京 100015;
5.上海理工大学健康科学与工程学院, 上海 200093;
6.安徽省农业科学院皖北研究院, 安徽阜阳 236658）

摘　要: 为探究制备白芸豆多肽（White kidney bean polypeptides，WKBPs）的最佳提取工艺及其体外抗炎活性，本研究以白芸豆蛋白为原料，采用超声辅助酶解法水解白芸豆蛋白，以牛血清蛋白变性抑制率为指标，通过单因素结合响应面法确定最佳提取工艺，采用不同分子量的超滤管对制备的白芸豆粗肽进行分级分离，测定不同组分体外抗炎活性，并对最佳组分进行液相色谱-质谱联用（LC-MS/MS）检测，利用虚拟筛选及分子对接技术探究其抗炎肽段。结果表明：在超声功率 166 W，酶添加量 18000 U/g，酶解时间 128 min，酶解温度 46 ℃ 的条件下，WKBPs 对牛血清蛋白变性的抑制率为 86.57%，超滤后 Mw<1 kDa 的组分具有较好的抗炎活性（牛血清蛋白变性抑制能力、透明质酸酶抑制能力和 NO 抑制能力 IC_{50} 值分别为 1.181、9.244、10.887 mg/mL）。LC-MS/MS 共鉴定出 3306 条肽段，其中肽序列为 3~10 的占比 73%，虚拟筛选得到与诱导型一氧化氮合酶（Inducible nitric oxide synthase，iNOS）结合能最低的肽序列为 4 肽 FFFR，分子对接可视化结果显示 4 肽 FFFR 可以与 iNOS 的活性位点通过氢键和疏水相互作用产生结合，从而发挥抑制作用。本实验为进一步研究 WKBPs 的抗炎活性提供参考。

关键词: 白芸豆多肽, 抗炎活性, 超声辅助, 分子对接

中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)05−0227−11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120223　　本文网刊:

Preparation and Activity of Anti-inflammatory Peptides from White Kidney Bean by Ultrasonic-assisted Enzymatic Hydrolysis

LIU Tong[1], XIE Xiaoyan[1], WANG Ying[1,2,3,*], ZHANG Yunxi[1], LI Sinan[4], ZUO Zhaohang[1], PANG Weiqiao[1], ZHANG Lu[4,*], GUAN Xiao[5], ZHAO Zili[6], LI Bing[6]

（1.College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163000, China;
2.National Coarse Cereals Engineering Center, Daqing 163319, China;
3.College of Marine Biology, Xiamen Ocean Vocational College, Xiamen 361100, China;

收稿日期: 2024−12−17

基金项目: 国家重点研发计划项目“杂粮产业链一体化示范”（2020YFD1001400）; 江淮杂粮产业工程技术研发创新基地项目。

作者简介: 刘童（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 粮食油脂及植物蛋白工程, E-mail: 18931586212@163.com。

*** 通信作者:** 王颖（1979−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏工程及食品质量安全, E-mail: wychen156@163.com。

张璐（1987−）, 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 功能食品开发与精准营养及功效评价, E-mail: zhanglu8078@126.com。

4.China National Research Institute of Food and Fermentation Industries Co., Ltd., Beijing Key Laboratory of the Innovative Development of Functional Staple and the Nutritional Intervention for Chronic Disease, Beijing 100015, China;
5.School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China;
6.North Anhui Research Institute of Anhui Academy of Agricultural Sciences, Fuyang 236658, China）

Abstract: In order to investigate the optimal extraction process and anti-inflammatory activity of white kidney bean polypeptides (WKBPs), this study employed white kidney bean protein as raw material and hydrolyzed white kidney bean protein by ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis, utilizing the inhibition rate of bovine serum protein degeneration as the index. We identified the optimal extraction process with a single-factor combined response surface method and separated the prepared white kidney bean crude peptides with ultrafiltration tubes of different molecular weights. This study determined the anti-inflammatory activity of various components *in vitro*, detected the optimal components by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS), and examined the anti-inflammatory peptide segments by virtual screening and molecular docking techniques. The results indicated that the inhibition rate of WKBPs on bovine serum protein denaturation was 86.57% under the conditions of 166 W ultrasonic power, 18000 U/g enzyme addition, 128 min enzymatic hydrolysis time, and 46 ℃ enzymatic hydrolysis temperature. After ultrafiltration, the components with Mw<1 kDa revealed good anti-inflammatory activity (bovine serum protein denaturation inhibition, hyaluronidase inhibition, and NO inhibition), and the IC_{50} values were 1.181, 9.244 and 10.887 mg/mL, respectively. We detected 3306 peptides by LC-MS/MS, of which 73% were peptide sequences ranging from 3 to 10. Virtual screening Vina score with type and induced nitric oxide synthase (inducible nitric oxide synthase, iNOS) binding energy minimum peptide sequence of 4 peptide FFFR, molecular docking visualization findings demonstrated that 4-peptide FFFR could bind to the active site of iNOS via hydrogen bonding and hydrophobic interaction, thus exerting inhibitory effects. This study serves as a reference for further research on the anti-inflammatory activity of WKBPs.

Key words: white kidney bean polypeptide; anti-inflammatory activity; ultrasonic-assisted; molecular docking

炎症是一种对人体遭受物理创伤、化学暴露或病毒感染等刺激时做出的复杂且高度调节的保护性反应，多发生于机体的细胞、组织和器官内，有助于消灭病原体、组织修复和产生免疫，但过度的反应会引起 2 型糖尿病、结肠炎、心血管疾病等慢性疾病的发生，使人体受到健康威胁[1]。目前炎症的预防以及治疗主要包括抑制细胞免疫反应，减少促炎细胞因子分泌以及干预炎症信号通路[2−3] 等方法，通常使用泼尼松和阿司匹林等药物进行治疗来减轻炎症反应，但长期摄入会带来一定的副作用，如超敏反应、人体代谢紊乱等[4]。因此开发新的安全的抗炎活性物质成为目前亟待解决的问题。

芸豆生物学名多花菜豆（*Phaseolus vulgaris* L.），广泛种植于中国各个省份[5]，富含蛋白质、碳水化合物、脂肪、矿物质（钙、铁等）以及 B 族维生素等营养物质[6]，是优质的植物蛋白来源，具有很高的食用价值和药用价值[7]。近年来关于白芸豆提取物的研究不断深入，李静[8] 通过研究白芸豆提取物对肥胖模型大鼠的影响发现，白芸豆提取物能够通过抑制 α-淀粉酶调节肥胖大鼠的脂质代谢，减少体内脂肪的堆积，从而起到了良好的减肥作用；Ruth 等[9] 研究中发现，在饮食诱导的肥胖小鼠模型中，白芸豆 α-淀粉酶抑制剂降低了甘油三酯、总胆固醇和低密度脂蛋白的浓度，同时降低了血糖、胰岛素和胰岛素抵抗稳态模型评估以及口服葡萄糖耐量试验后曲线下面积；吴恒[10] 以 LPS-RAW264.7 细胞为炎症模型，对白芸豆中分离鉴定的 30 个化合物进行了抗炎活性实验，并利用分子对接技术分析了其可能的作用靶点，结果表明，有 12 个化合物具有显著的 NO 抑制活性，其中 4-甲基吡唑-3-甲酸和豆甾-5,22-二烯-3β-羟基-7-酮抗炎效果最好，且确定其可能作用的关键炎症靶点（EP2）。虽然白芸豆提取物具有良好的生物活性，但关于白芸豆抗炎肽的研究较少。

酶解法是利用水解酶来水解特定的某种物质得到提取物的一种提取方法，可以最大程度保护功能性物质的活性，但效率较低[11]。超声提取法是一种利用超声波空化作用等加速胞内有效物质释放、扩散和溶解的提取方法，具有高效的特点[12]。近年来诸多学者选用超声辅助酶法制备活性物质，李芳等[13] 通过超声辅助木瓜蛋白酶法提取鹰嘴豆多肽，结果显示与单一酶解法比较，经超声处理提取的鹰嘴豆多肽具有更强的活性。

基于此，本文以白芸豆蛋白为原料，经单因素实验和响应面试验优化超声辅助酶解的条件，利用牛血清蛋白变性抑制能力、透明质酸酶抑制能力和 NO 抑制能力测定结合分子对接技术研究白芸豆肽的抗炎作用机制，以期为白芸豆抗炎肽的制备及进一步研究其抗炎活性提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

白芸豆　黑龙江省鸡西市；中性蛋白酶（50000 U/g）　北京索莱宝科技有限公司；石油醚、盐酸、氢氧化钠、Gly-Gly-Gly、Gly-Gly-Tyr-Arg、杆菌肽、胰岛素、细胞色素 C、牛血清蛋白、透明质酸

酶、乙酸钠缓冲液(0.1 mol/L, pH3.6)、透明质酸钠、氯化钙、四硼酸钠、对二甲氨基苯甲醛、硝普钠　上海源叶生物科技有限公司; 一氧化氮试剂盒　上海碧云天生物技术股份有限公司。

BS224S 型电子天平　鹤壁市鑫泰高科仪器制造有限公司; HJ-6DS 磁力搅拌水浴锅　常州金坛良友仪器有限公司; PHS-25 型 pH 计　青岛明博环保科技有限公司; 5427R 高速冷冻离心机　德国 Eppendorf 有限公司; LGJ-10C 真空冷冻干燥机　北京四环科学仪器厂有限公司制造; SCIENTZ-IID 超声波细胞粉碎机　宁波新芝生物科技股份有限公司; UV1902PC 紫外可见分光光度计　上海奥析科学仪器有限公司; LA8080 超高速全自动氨基酸分析仪　广州市君翔仪器仪表有限公司; Waters1525 高效液相色谱仪　美国 Waters 公司; Q Exactive Plius 质谱仪　美国赛默飞世尔有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　白芸豆蛋白提取工艺　参照周雅情等[14]的提取方法并作修改: 白芸豆洗净 60 ℃ 烘干后粉碎, 过 80 目筛, 用石油醚按液料比 10 mL/g 脱脂后得到脱脂白芸豆粉, 用蒸馏水将脱脂白芸豆粉以液料比 10 mL/g 的比例混合, 调节 pH 至 8.5 后, 50 ℃ 搅拌 1 h, 离心(4000 r/min, 10 min), 取上清, 调节 pH 至 4.4, 4 ℃ 搅拌 2 h 后离心(4000 r/min, 10 min), 取沉淀, 冻干后得白芸豆蛋白粉。

1.2.2　白芸豆多肽提取工艺　蒸馏水与白芸豆蛋白粉以液料比 20 mL/g 的比例混合, 166 W 超声 20 min, 调节 pH 至 7, 在中性蛋白酶添加量 18000 U/g, 酶解温度 46 ℃, 酶解时间 128 min 的条件下进行酶解, 95 ℃ 灭酶 10 min 后离心(8000 r/min, 10 min), 取上清得到白芸豆多肽粗提液, 冻干后得白芸豆多肽粗提物。

1.2.3　单因素实验　以牛血清蛋白变性抑制率[15]为指标, 固定超声时间 20 min, 超声功率 200 W, pH7, 液料比 20 mL/g, 酶添加量 12000 U/g, 酶解时间 90 min, 酶解温度 50 ℃, 考察不同超声时间(10、15、20、25、30 min)、超声功率(150、175、200、225、250 W)、pH(6、7、8、9、10)、液料比(10、15、20、25、30 mL/g)、酶添加量(4000、8000、12000、16000、20000 U/g)、酶解时间(30、60、90、120、150 min)和酶解温度(40、45、50、55、60 ℃)对 WKBPs 抗炎活性的影响。

1.2.4　响应面试验　在单因素实验结果的基础上, 以酶添加量、酶解时间、酶解温度和超声功率为工艺参数, 以 WKBPs 对牛血清蛋白变性的抑制率为指标, 设计四因素三水平 Box-Behnken 响应面试验, 表 1 为试验因素水平表。

1.2.5　体外抗炎活性测定

1.2.5.1　牛血清蛋白变性抑制率　以牛血清蛋白变性抑制率为抗炎指标, 参照刘文博等[16]的方法, 将 0.9 mL 1%(m/V)牛血清蛋白与 0.1 mL 的白芸豆多肽粗提液混合, 37 ℃ 下孵育 20 min, 然后 82 ℃ 下加热 2 min, 冷却至室温, 660 nm 处测吸光值, 牛血清蛋白变性抑制率计算公式如下。

表 1　响应面试验因素水平

Table 1　Factors and levels of response surface experiment

因素	水平		
	−1	0	1
A酶添加量(U/g)	12000	16000	20000
B酶解时间(min)	90	120	150
C酶解温度(℃)	40	45	50
D超声功率(W)	150	175	200

$$R(\%)=\frac{A_C-A_S}{A_C}\times 100$$

式中: R 表示牛血清蛋白变性抑制率, %; A_S 表示样品组吸光值; A_C 表示空白吸光值。

1.2.5.2　透明质酸酶抑制能力　参照张雅男等[17]和 Sachindra 等[18]的方法测定白芸豆多肽粗提液对透明质酸酶的抑制率, 取 4 个离心管, 标记为 A~D, A、C 和 B、D 管分别加入 0.5 mL 透明质酸酶(500 U/mL)和乙酸钠缓冲液(0.1 mol/mL, pH3.6), 再加入 0.1 mL 氯化钙溶液(12.5 mmol/mL), 37 ℃ 加热 10 min; A、B 和 C、D 管分别加入 0.5 mL 蒸馏水和样品, 37 ℃ 保温 10 min; 再加入 0.5 mL 透明质酸钠溶液(0.6 mg/mL), 37 ℃ 保温 40 min 后加入 0.1 mL 氢氧化钠溶液(0.9 mol/mL)和 0.2 mL 四硼酸钠溶液(0.2 mol/mL), 100 ℃ 加热 5 min, 冷却至室温后加入 3 mL 对二甲氨基苯甲醛(67 mmol/mL), 37 ℃ 加热 10 min, 585 nm 处测吸光值, 透明质酸酶抑制率计算公式如下。

$$D(\%)=\left(1-\frac{A_C-A_D}{A_A-A_B}\right)\times 100$$

式中: D 表示透明质酸酶抑制率, %; A_A 表示 A 管吸光值; A_B 表示 B 管吸光值; A_C 表示 C 管吸光值; A_D 表示 D 管吸光值。A 管为对照管; B 管为空白管; C 管为样品管; D 管为样品空白管。

1.2.5.3　NO 抑制率　参照刘文博等[16]的方法并略作修改, 样品组和空白组分别加入 250 μL 白芸豆多肽粗提液和蒸馏水, 按照 1∶1(mL∶mL)的比例加入 5 mmol/L 的硝普钠, 混匀室温条件下反应 2.5 h, 然后加入 250 μL Griess1 试剂, 混匀静置 5 min, 再加入 100 μL Griess2 试剂, 反应 30 min。样品溶液组和空白溶液组分别加入白芸豆多肽粗提液和蒸馏水。540 nm 处测吸光值, NO 抑制率计算公式如下。

$$N(\%)=\left(1-\frac{A_t-A_b}{A_c-A_0}\right)\times 100$$

式中: N 表示 NO 抑制率; A_t 表示样品组吸光值; A_b 表示样品溶液组吸光值; A_c 表示空白组吸光值; A_0 表示空白溶液组吸光值。

1.2.6 氨基酸测定 根据 GB 5009.124-2016《食品中氨基酸的测定》，选用茚三酮法测定白芸豆蛋白及 WKBPs 的游离氨基酸含量。以 L-亮氨酸为标准品，绘制标准曲线。

1.2.7 分子量测定 参照李思楠等[19]的方法，色谱条件如下：色谱柱：TSKgelG2000SWXL（300 mm×7.8 mm），流速：0.3 mL/min，柱温为：25 ℃，检测波长：220 nm，流动相：乙腈（20%）+水（80%）+三氟乙酸（0.1%）。样品用 0.22 μm 滤膜过滤，以 Gly-Gly-Gly、Gly-Gly-Tyr-Arg、杆菌肽、胰岛素和细胞色素 C（浓度均为 1 mg/mL）为校正标准品，采用凝胶渗透色谱（Gel permeation chromatography，GPC）软件分析色谱数据，计算 WKBPs 的相对分子质量和分布情况。

1.2.8 超滤 参照杨泽瑶等[20]的方法，采用分子量为 1 kDa 和 3 kDa 的超滤管对提取的 WKBPs 粗肽进行分级分离，得到三种不同分子量组分，分别为 WKBPs1（Mw<1 kDa），WKBPs2（1 kDa<Mw<3 kDa），WKBPs3（Mw>3 kDa），对其进行冷冻干燥，测定其对牛血清蛋白变性、透明质酸酶和 NO 的抑制能力，筛选出抗炎效果最佳的组分。

1.2.9 白芸豆抗炎肽的筛选及分子对接预测作用机制

1.2.9.1 LC-MS/MS 检测 参照黄玉荣等[21]的方法，采用 LC-MS/MS 技术对 WKBPs1 进行肽序列鉴定。液相色谱条件如下：液相色谱柱为 RP-C_{18}（0.15 mm×150 mm，Column Technology luc.）；柱温：室温；流速：0.3 mL/min；样品体积：5 μL；流动相 A 液为甲酸水溶液（0.1%）；B 液为甲酸（0.1%）乙腈（84%）水溶液。B 液相梯度洗脱设置如下：0~50 min，4% 至 50%；50~54 min，50% 至 100%；54~60 min，B 液维持在 100%，均为线性梯度。随后进行质谱分析，条件为毛细管温度：300 ℃；喷雾电压：4.5 kV；波长：220 nm；检测方式为正离子；分析时长：60 min。

1.2.9.2 多肽配体与受体蛋白构建 使用 ChemDraw 构建肽段结构，并使用 Chem3D 软件对肽段进行能量最小化优化，保存为 pdbqt 文件。受体蛋白为 iNOS，pdb 代码为 3nw2，从蛋白质数据库（https://www.rcsb.org/）中获取，使用 Discovery Studio 与 AutoDock Tools 软件删除无关配体与水分子并进行加氢处理，设置原子类型并保存为 pdbqt 文件。

1.2.9.3 分子对接 利用 PyRx（https://pyrx.sourceforge.io）平台制备 iNOS 受体蛋白和配体，选择配体在蛋白质结合口袋中结合能最低的对接模型作为最佳模型，使用 Vina 评分作为预测肽与 iNOS 蛋白结合的亲和力（以 kcal/mol 计算），通过 AutoDock Vina 进行分子对接，并使用 Pymol 2.1 软件对结果进行可视化。

1.3 数据处理

每组实验均为 3 组平行，使用 Design-Expert 13 进行响应面试验设计，采用 IBM SPSS Statistics 26 软件通过单因素方差分析样本间的差异显著性，绘制图表采用 Origin 2021 软件。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

以牛血清蛋白变性抑制率为指标，筛选制备 WKBPs 的最佳工艺，结果如图 1（A）所示，牛血清蛋白变性抑制率随着超声时间的增加先升高后下降，在 20 min 时达到最大，抑制率为 84.82%，这可能由于蛋白质的结构被超声处理改变，暴露了更多位点，使其与蛋白酶更好地结合，提高了酶作用位点的效率[22]，但超声时间过长，会使蛋白结构被过度破坏，不利于酶解反应。因此，选择最佳超声时间为 20 min。

图 1（B）表明，随着超声功率的增加，牛血清蛋白变性抑制率也随之升高，在 175 W 时达到了 85.71%，这可能是由于超声处理改变了蛋白质的结构，使酶与蛋白质更好地结合，但功率过高，空化作用和热作用会使蛋白质遭到破坏或失活[23]，从而使抑制率降低。因此，选择最佳超声功率为 175 W。

图 1（C）表明，pH 在 6~10 范围内，牛血清蛋白变性抑制率先升高后下降，在 pH 为 7 时，抑制率达到最高为 84.85%，推测可能是由于随着 pH 升高且趋近于酶解反应的最适 pH，酶的活性逐渐增强，能更好地与底物蛋白结合，从而提高抑制率，但 pH 过高，可能会影响酶的空间结构，使酶与底物蛋白的结合与催化效率下降[24]。因此，选择最佳 pH 为 7。

图 1（D）表明，牛血清蛋白变性抑制率在 20 mL/g 时达到最大，为 84.57%，可能是因为液料比较小时，蛋白溶液中分子扩散率较低，分散不均匀，使蛋白酶不能很好地与底物结合，不利于酶解反应，继续增大溶剂的体积，抑制率降低，可能是底物浓度过低，降低了底物与酶的接触，导致酶解反应分离出具有抗炎活性的肽段较少[25]。因此，选择最佳液料比为 20 mL/g。

图 1（E）表明，当酶添加量在 4000~16000 U/g 范围内时，牛血清蛋白变性抑制率呈显著升高，这可能是由于随着酶添加量的增加，底物反应越彻底，在酶添加量为 16000 U/g 时，抑制率最高为 85.37%，随着酶添加量的不断增加，抑制率呈下降趋势，这可能是酶添加量过多导致蛋白吸附黏[26]，不利于酶解反应。因此，选择最佳酶添加量为 16000 U/g。

图 1（F）表明，酶解时间在 30~120 min 范围内，牛血清蛋白变性抑制率不断升高，酶解时间在 120 min 时，抑制率达到最大为 85.93%，随着酶解时间的继续增加，抑制率开始降低，这可能是因为酶解时间延长，反应中一些具有抗炎活性的肽链被再次酶解[27]，导致抑制率降低。因此，选择最佳酶解时间为 120 min。

图 1（G）表明，随着酶解温度的升高，牛血清蛋白

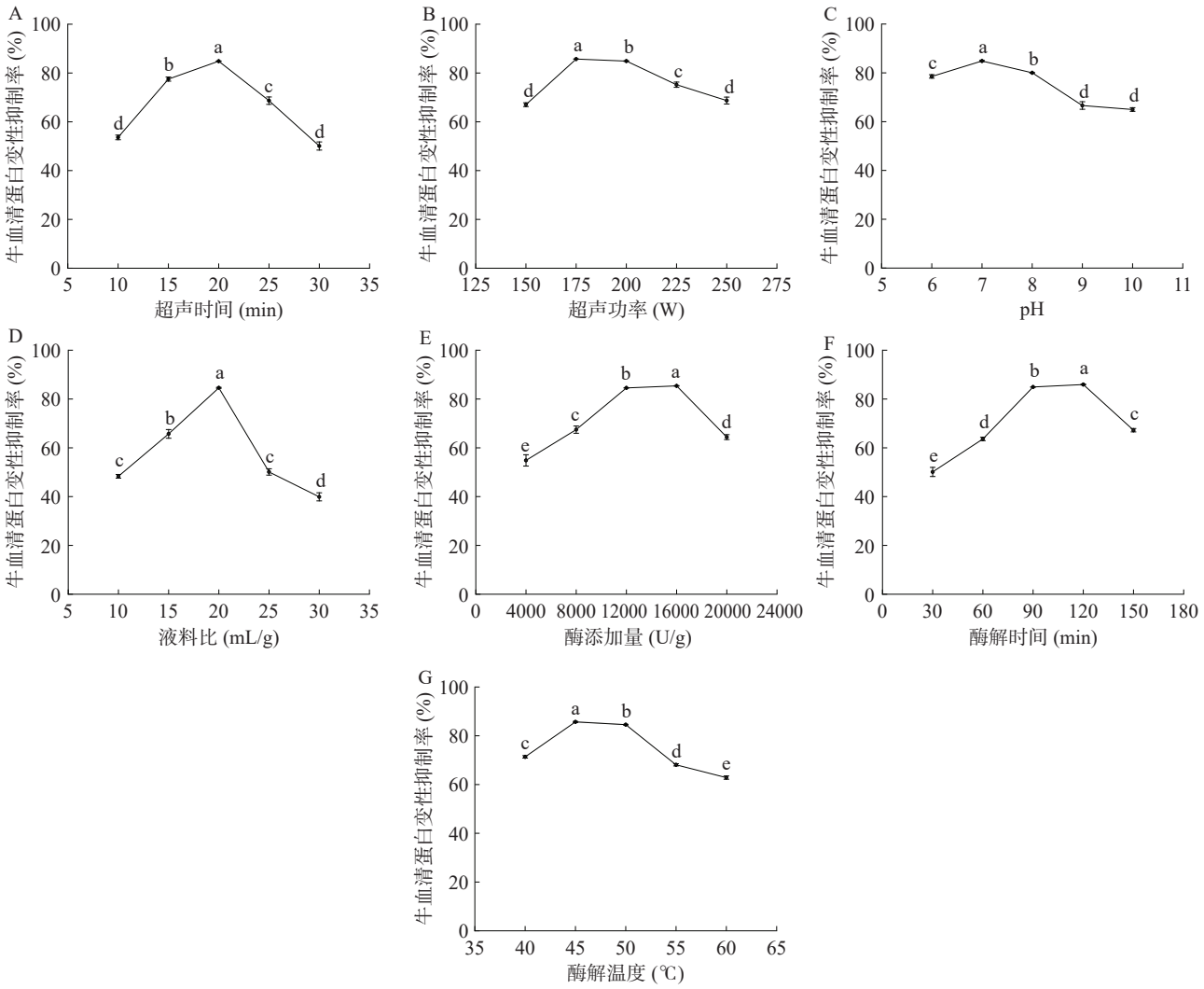


图 1　单因素实验结果

Fig.1　Single factor experiment results

注：图中不同字母表示组间差异显著（P<0.05）；图 4、图 5 同。

变性抑制率呈上升趋势，在酶解温度为 45 ℃ 时，抑制率达到最大为 85.69%，随着温度的不断增加，抑制率呈下降趋势，可能是由于温度过高使蛋白变性，从而导致酶活力降低，不利于酶解反应进行[28]。因此，选择最佳酶解温度为 45℃。

2.2　响应面试验

在单因素实验结果的基础上，选择对牛血清蛋白变性抑制率影响较大的酶添加量、酶解时间、酶解温度和超声功率为自变量，牛血清蛋白变性抑制率为响应值，分析 WKBPs 提取的最优工艺指标，实验设计与实验结果见表 2。各因素经过回归拟合后，得到的二次多项回归方程为：R=84.86+3.03A+2.68B+2.30C−0.6575D+10.36AB−1.0AC−10.09AD−2.66BC−6.35BD+1.68CD−11.21A^2−12.89B^2−8.49C^2−4.62D^2。

回归模型方差分析如表 3 所示，该模型 F=72.46，P<0.001，显示为 WKBPs 提取效果回归模型极显著；决定系数 R^2=0.9864，显示出此模型的拟合程度较好，能够使用该模型对 WKBPs 提取进行预测分析。结合图 2 和表 3 分析可知，该模型 A、B、C、D 四个因素交互作用中，AB、AD、BC、BD 交互作用极显著（P<0.01），酶添加量（A）与酶解温度（C）的交互作用影响最小；由 F 检验可以看出 A、B、C、D 四个因素对牛血清蛋白变形抑制率的影响作用依次为酶添加量（A）>酶解时间（B）>酶解温度（C）>超声功率（D）。

Design-Expert 13 分析结果表明，最佳酶添加量为 17881.732 U/g，酶解时间为 127.944 min，酶解温度为 45.684 ℃，超声功率为 165.829 W。此条件下，WKBPs 对牛血清蛋白变性的抑制率为 86.79%。调整酶添加量为 18000 U/g，酶解时间为 128 min，酶解温度为 46 ℃，超声功率为 166 W 得到 WKBPs 对牛血清蛋白变性的抑制率为 86.57%，与理论值接近，可见该模型能够较好预测 WKBPs 的提取条件。

2.3　氨基酸组成成分分析

必需氨基酸是人体无法自行合成的氨基酸，在合成酶、激素和抗体等重要蛋白质中发挥着重要作用，其组成接近人体必需氨基酸的模型，能有效提高蛋白质的吸收和利用及其应用价值[29]。根据表 4 可

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Response surface experiment design and results

试验号	A	B	C	D	R(%)
1	1	0	0	−1	81.9058
2	−1	1	0	0	50.1349
3	0	0	0	0	85.3582
4	0	0	−1	1	68.0975
5	0	0	0	0	84.1789
6	0	0	1	1	75.0843
7	1	0	1	0	68.5202
8	0	−1	1	0	64.4782
9	0	−1	−1	0	54.5263
10	0	0	1	−1	72.9013
11	0	0	−1	−1	72.6420
12	0	0	0	0	83.9552
13	1	−1	0	0	51.5444
14	−1	0	0	1	75.6630
15	0	−1	0	1	70.8593
16	1	1	0	0	78.8571
17	0	1	0	−1	76.3725
18	1	0	0	1	62.3069
19	0	1	−1	0	67.1464
20	−1	0	0	−1	54.8988
21	0	0	0	0	85.9673
22	−1	0	−1	0	59.6494
23	0	1	0	1	60.3278
24	0	0	0	0	84.8597
25	0	−1	0	−1	61.5079
26	1	0	−1	0	64.9832
27	0	1	1	0	66.4436
28	−1	0	1	0	67.1951
29	−1	−1	0	0	64.2525

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Regression model analysis of variance

来源	平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	显著性
模型	3049.9	14	217.85	72.46	<0.0001	**
A	109.95	1	109.95	36.57	<0.0001	**
B	85.94	1	85.94	28.59	0.0001	**
C	63.38	1	63.38	21.08	0.0004	**
D	5.19	1	5.19	1.73	0.2101	
AB	429.12	1	429.12	142.73	<0.0001	**
AC	4.02	1	4.02	1.34	0.267	
AD	407.29	1	407.29	135.47	<0.0001	**
BC	28.38	1	28.38	9.44	0.0083	**
BD	161.24	1	161.24	53.63	<0.0001	**
CD	11.31	1	11.31	3.76	0.0728	
A^2	814.46	1	814.46	270.9	<0.0001	**
B^2	1077.41	1	1077.41	358.37	< 0.0001	**
C^2	467.1	1	467.1	155.37	<0.0001	**
D^2	138.66	1	138.66	46.12	<0.0001	**
剩余	42.09	14	3.01			
失拟项	39.33	10	3.93	5.71	0.0539	不显著
纯误差	2.76	4	0.6892			
总和	3091.99	28				
R^2=0.9864						

注: **表示*P*<0.01, 差异极显著。

知, WKBPs 的必需氨基酸有 7 种(由于氨基酸检测为酸水解法, 因此色氨酸未检测), 含量为 16.056%, 其组成较为接近人体必需氨基酸模型。研究表明, 疏水性氨基酸会增强肽与细胞膜的相互作用, 调节信号

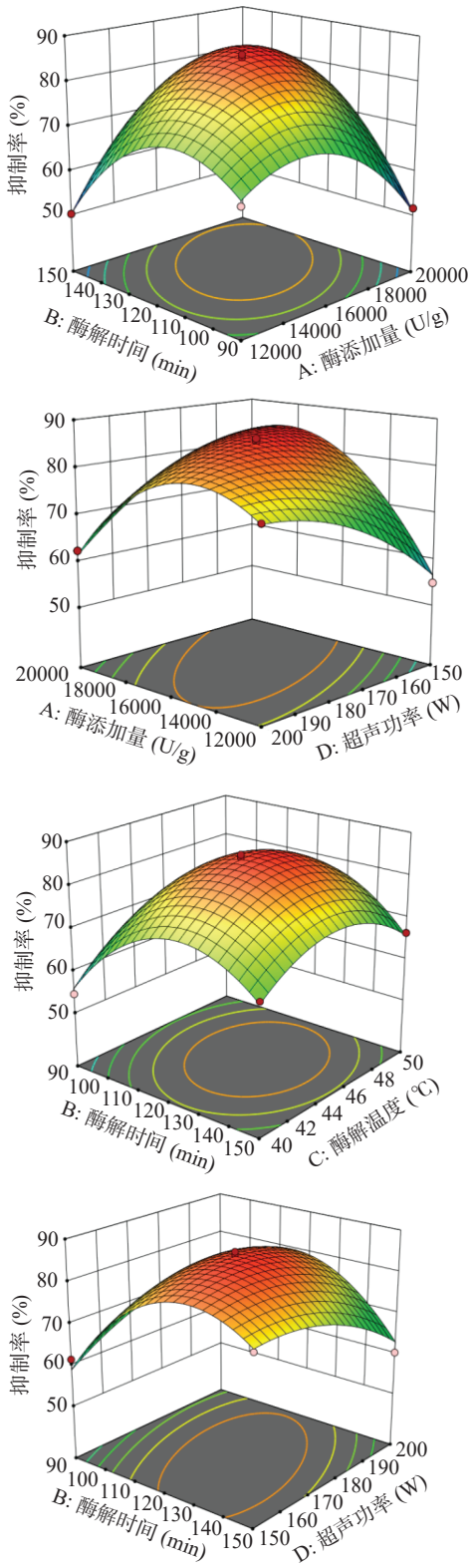


图 2 各因素对抗炎活性影响的响应面图

Fig.2 Response surface map of the effects of various factors on anti-inflammatory activity

通路, 从而增强肽的抗炎效果[30]。在 WKBPs 中, 疏水性氨基酸含量为 16.679%, 表明 WKBPs 具有抗炎潜力。

2.4 相对分子质量分布

研究表明, 小分子肽能加速蛋白质的合成, 提高人体对矿物质的吸收和利用, 增强人体免疫力且分子

表 4　WKBPs 中氨基酸组成成分

Table 4　Amino acid composition of WKBPs

氨基酸种类	含量(%)
天冬氨酸(Asp)	5.145
苏氨酸(Thr)[e]	2.159
丝氨酸(Ser)	2.484
谷氨酸(Glu)	7.821
甘氨酸(Gly)[h]	1.846
丙氨酸(Ala)[h]	1.975
缬氨酸(Val)[eh]	2.416
半胱氨酸(Cys)	0.124
蛋氨酸(Met)[eh]	0.697
异亮氨酸(Ile)[eh]	1.933
亮氨酸(Leu)[eh]	3.578
酪氨酸(Tyr)	1.501
苯丙氨酸(Phe)[eh]	2.095
组氨酸(His)	1.413
赖氨酸(Lys)[e]	3.178
精氨酸(Arg)	2.933
脯氨酸(Pro)[h]	2.139
必需氨基酸	16.056
疏水性氨基酸	16.679

注：[e]为必需氨基酸；[h]为疏水性氨基酸。

量低于 5 kDa 的肽段几乎 90% 都可以被人体消化吸收和利用[31]。WKBPs 的相对分子质量分布结果如表 5 所示，分子量低于 3 kDa 的肽段含量为 94.887%，低于 1 kDa 的肽段含量为 78.024%，且据图 3 可知，其可能存在分子量<180 Da 的游离氨基酸(保留时间范围为 12~15.5 min)。结果表明，WKBPs 的分子量主要集中在 1 kDa 以下，更利于人体吸收和利用。

表 5　相对分子质量分布结果

Table 5　Relative molecular mass distribution results

分子量(kDa)	峰面积(%)
>3	5.113
3~1	16.863
<1	78.024

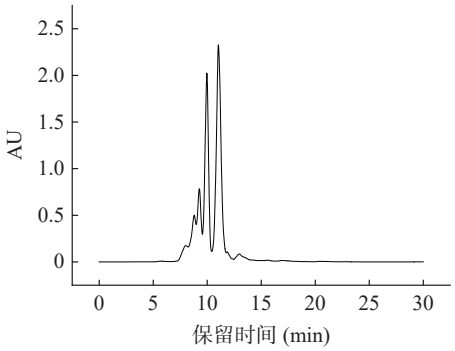


图 3　WKBPs 的分子量分布

Fig.3　Molecular weight distribution of WKBPs

2.5　超滤组分分离及筛选

据报道，低分子量的肽空间结构的折叠会受到限制，使氨基酸充分暴露且不易被肽链内切酶识别，从而具有较高的抗炎活性[32]。本实验按照分子量大小将 WKBPs 分为 3 个组分，测定其抗炎活性(牛血清蛋白变性抑制率、透明质酸酶抑制率和 NO 抑制率)，结果如图 4(A~C)所示，WKBPs1 抗炎活性均显著高于 WKBPs2 和 WKBPs3(P<0.05)，分别为 90.27%、75.00%、60.61%，这可能是由于低分子量的 WKBPs 具有较小的空间系数和锻炼活性中心，使氨基酸更好的暴露，更容易与蛋白结合，从而使 WKBPs1 具有更好的抗炎活性。因此，后续选择 WKBPs1 进行后续研究。

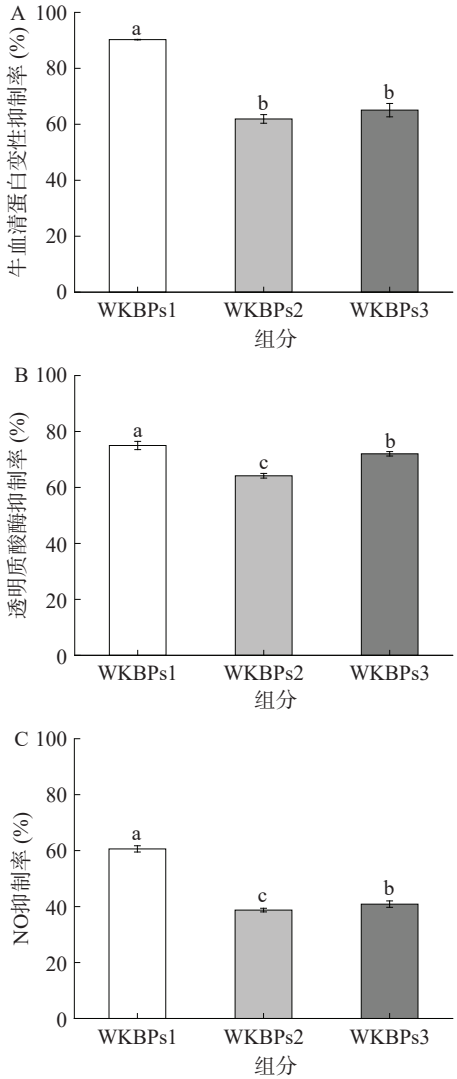


图 4　不同组分的抗炎活性

Fig.4　Anti-inflammatory activity of different components

2.6　体外抗炎活性分析

WKBPs1 对牛血清蛋白变性的抑制能力如图 5(A)和表 6 所示，在 0.25~16 mg/mL 浓度范围内，其抑制能力逐渐升高且呈现一定的剂量依赖性，IC_{50} 值为 1.181 mg/mL，与报道过的鲟鱼肽较为接近[16]。白蛋白具有炎症反应调控的作用，能够通过抗氧化应激、结合和转运致炎物质及炎症介质，调节炎症应答及免疫修复来减轻炎症损伤[14,33]，因此本实验结果表明 WKBPs1 具有较好的抗炎活性。

WKBPs1 对透明质酸酶的抑制能力如图 5(B)

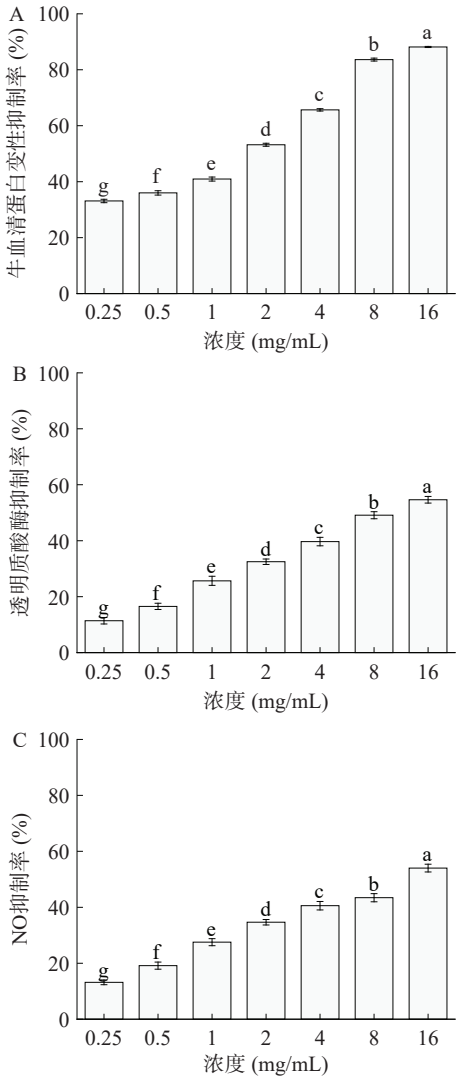


图 5 不同浓度 WKBPs1 的抗炎活性

Fig.5 Anti-inflammatory activity of WKBPs1 at different concentrations

表 6 抗炎活性 IC_{50} 值

Table 6 Anti-inflammatory activity IC_{50} value

类别	IC_{50}值(mg/mL)
牛血清蛋白变性抑制率	1.181
透明质酸酶抑制率	9.244
NO抑制率	10.887

和表 6 所示, 其抑制能力与 WKBPs1 的浓度在 0.25~16 mg/mL 范围内为正相关, IC_{50} 值为 9.244 mg/mL。透明质酸酶是一类糖苷酶, 可以将透明质酸以及部分糖胺聚糖降解成二糖或小分子寡糖, 与血管的通透性及炎症有关, 生物活性成分对其抑制率越大则成分抗敏炎症活性越强[34], WKBPs1 对透明质酸酶的抑制结果表明其具有一定的抗炎效果。

WKBPs1 对 NO 的抑制能力如图 5(C)和表 6 所示, 结果表明, 在 0.25~16 mg/mL 浓度范围内, WKBPs1 对 NO 的抑制率呈现剂量依赖性且正相关, 其 IC_{50} 值为 10.887 mg/mL。NO 是一氧化氮合酶产生的具有活性的信使分子, 能激活炎症通路, 促进多种炎症因子的产生, 活性物质对其的抑制能力通常作为抗炎活性评估标准之一[35−36], WKBPs1 对 NO 具有抑制效果表明其具有一定的抗炎活性。

2.7 白芸豆抗炎肽的筛选及分子对接预测作用机制

2.7.1 LC-MS/MS 氨基酸序列检测 通过 LC-MS/MS 对 WKBPs1 的氨基酸序列进行检测, WKBPs1 的一级质谱图如图 6 所示。共鉴定出 3306 条肽段, 肽序列长度位于 3~10 个氨基酸的有 2424 条, 占比 73%。其中, 肽段含有大量脯氨酸、苯丙氨酸等疏水性氨基酸, 使其具有良好的抗炎活性。

2.7.2 虚拟筛选与分子对接 分子对接是研究配体和受体分子之间的相互作用, 并预测其结合模式和亲合力的一种理论模拟方法, 可为设计新配体、揭示分子间的互作机制提供理论依据[37]。据研究, 配体与目标蛋白的结合能小于−5.0 kcal/mol, 则两者的结合是稳定的[38]。大量的研究表明, 抑制 iNOS 可以控制各种病理状态下的炎症反应[39]。因此, 本实验将鉴定出的肽段与 iNOS 进行结合, 通过 PyRx 评估其结合能力并排序, 筛选了 10 条结合能力最强的肽段。结果如表 7 所示, 其中, 肽 FFFR 与蛋白结合能力最低, 为−8.2 kcal/mol, 表明其与蛋白亲和力最强。肽 FFFR 的串联质谱图及化学结构如图 7 所示, 图中 y1, y2 和 y3 分别表示从肽链 C 端开始依次产生的碎片离子, 结合其化学结构分析可得 y1 离子结构为 NH_2-CH(R)(H^+)-COOH[40]。

将肽 FFFR 与 iNOS 进行分子对接模拟, 三维和二维分子相互作用如图 8 所示, 肽 FFFR 与 iNOS 活性位点的 ARG-260, SER-256 氨基酸形成氢键相互作用, 与 VAL-346、ALA-345、ALA-347、HEM-901

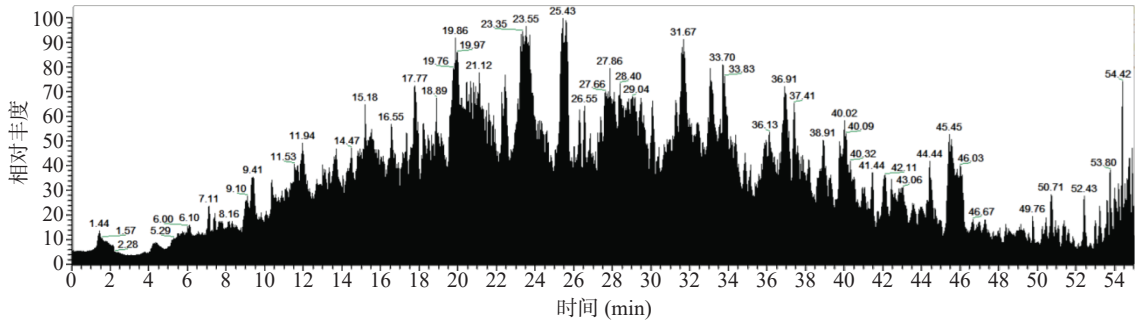


图 6 WKBPs1 一级质谱图

Fig.6 Primary mass spectrum of WKBPs1

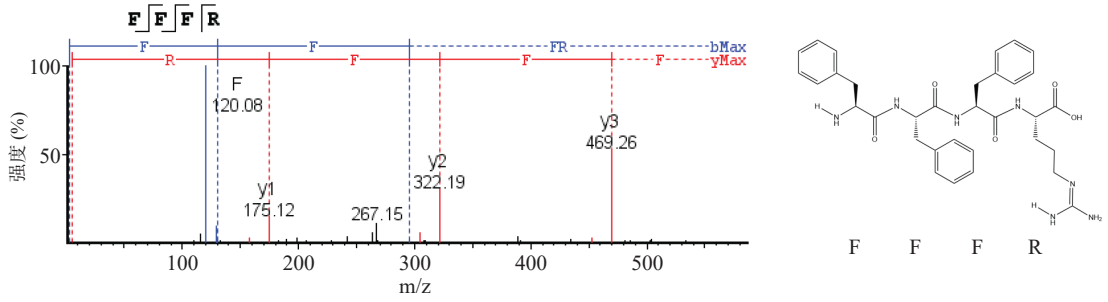


图 7　肽 FFFR 化学结构和 LC-MS/MS 质谱图

Fig.7　Chemical structure and LC-MS/MS mass spectrum of peptide FFFR

表 7　WKBPs1 与 iNOS 结合能最低的十条肽段

Table 7　Ten peptides with the lowest binding energy between WKBPs1 and iNOS

肽序列	分子量(Da)	结合能(kcal/mol)
FFFR	615	−8.2
ADIPAETY	878	−8.1
AEPEWK	758	−8.0
EPLPHG	648	−7.9
EVKVPFQS	932	−7.9
GWTGGE	605	−7.9
FPFPSPHT	928	−7.8
GEGPVVL	669	−7.8
EAKPHT	681	−7.7
IFAP	446	−7.6

形成很好的疏水相互作用，这些相互作用可以有效促使该肽与蛋白形成稳定的构象，从而导致肽 FFFR 序列具有更好地抑制 iNOS 的能力，发挥更好的抗炎活性。

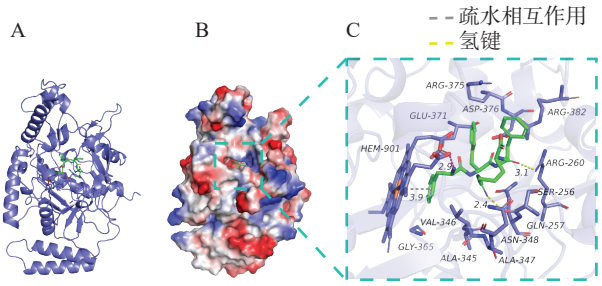


图 8　分子对接结果

Fig.8　Molecular docking result

注：图(A)表示肽 FFFR 与 iNOS 结合的稳定结合结构；图(B)表示肽 FFFR-iNOS 配合物的预测结合模型；图(C)表示肽 FFFR 与 iNOS 结合位点残基之间的相互作用。

3　结论

本研究以白芸豆为研究对象，通过单因素和响应面实验得到了 WKBPs 的最佳提取工艺参数为：超声功率 166 W，酶添加量为 18000 U/g，酶解时间为 128 min，酶解温度为 46 ℃，此条件下 WKBPs 对牛血清蛋白变性的抑制率为 86.57%。GPC 结果显示 WKBPs 的分子量集中在 1 kDa 以下，超滤后的组分中 WKBPs1 的抗炎活性最好，对牛血清蛋白变性、透明质酸酶和 NO 释放的抑制率在 0.25~16 mg/mL 浓度范围内呈正相关且有剂量依赖，其 IC_{50} 值分别为 1.181、9.244、10.887 mg/mL。通过质谱鉴定出 3306 条肽序列，长度主要集中在 3~10 个氨基酸之间，占鉴定总肽的 73%。虚拟筛选得到与 iNOS 结合能最低的肽序列为 4 肽 FFFR，4 肽 FFFR 通过氢键和疏水相互作用与 iNOS 的主要活性位点产生结合，导致酶的结构发生变化，从而影响酶的活性。本研究丰富了白芸豆多肽的研究，为进一步研究 WKBPs 的抗炎生物活性提供数据参考和理论支撑。目前本文仅局限于 WKBPs 的提取、肽段的鉴定与筛选和体外活性研究，未来可以基于细胞和动物实验，进一步探究其体内抗炎活性作用，对白芸豆的加工利用及作为功能性食品改善人体健康具有重要意义。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] LIN L, HUANG C X, LIU D Q, et al. WNT2B activates macrophages via NF-κB signaling pathway in inflammatory bowel disease[J]. FASEB Journal, 2024, 38(6): 23551.

[2] SAMSON S C, KHAN A M, MENDOZA M C. ERK signaling for cell migration and invasion[J]. Frontiers in Molecular Biosciences, 2022, 9: 998475.

[3] KELLEY N, JELTEMA D, DUAN Y, et al. The NLRP3 inflammasome: An overview of mechanisms of activation and regulation[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(13): 3328.

[4] 汪雄, 赵燕, 徐明生, 等. 食源性抗炎肽的制备、分离、鉴定及其抗炎机制研究进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(15): 335−341. [WANG X, ZHAO Y, XU M S, et al. Research progress in the preparation, isolation, identification and anti-inflammatory mechanism of anti-inflammatory peptides derived from food[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(15): 335−341.]

[5] 程敏, 田童童, 李甜, 等. 白芸豆中 α-淀粉酶抑制剂的提取工艺研究[J]. 中国酿造, 2015, 34(6): 89−93. [CHENG M, TIAN T T, LI T, et al. Extraction technology of α-amylase inhibitor from white kidney bean[J]. Chinese Brewing, 2015, 34(6): 89−93.]

[6] 吴叶. 云南白芸豆几种活性物质的分离提取及部分性质的研究[D]. 昆明: 云南师范大学, 2008. [WU Y. Separation and extraction of some functional substances from Yunnan white kidney bean and research of its partial properties[D]. Kunming: Yunnan Normal University, 2008.]

[7] JLEE S C. The structure of naturally-occuring α-amylase in-

hibitorszhors[C]. Food of 21st Century-Food and Resource, technology, environment(Ⅱ), 2000: 8−27.
[8] 李静. 白芸豆提取物的减肥作用实验研究及其机理初探[J]. 现代食品, 2022, 28(9): 185−188. [LI J. Experimental study on the weight loss effect and its mechanism of white kidney bean extract [J]. Modern Food, 2022, 28(9): 185−188.]
[9] RUTH N, OLIVER M, SHANNON C, et al. It's no has bean: A review of the effects of white kidney bean extract on body composition and metabolic health[J]. Nutrients, 2020, 12(5): 56−72.
[10] 吴恒. 藏药大白芸豆药效物质基础及质量标准研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2022. [WU H. Research on pharmacodynamic material basis and quality standard of tibetan medicine "Dabaiyundou"[D]. Chengdu: Chengdu University of TCM, 2022.]
[11] 张静静, 李天歌, 王田林, 等. 豌豆肽的酶解法制备及生物活性研究进展[J]. 现代食品科技, 2025, 41(9): 1−10. [ZHANG J J, LI T G, WANG T L, et al. Research progress on enzymatic preparation and biological activity of Pea peptides[J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(9): 1−10.]
[12] KUMARI B, TIWARI B K, HOSSAIN M B, et al. Recent advances on application of ultrasound and pulsed electric field technologies in the extraction of bioactives from agro-industrial by-products[J]. Food and Bioprocess Technology, 2018, 11: 223−241.
[13] 李芳, 侯伟伟, 任海波, 等. 超声辅助酶解鹰嘴豆蛋白制备抗氧化肽的研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(13): 35−38. [LI F, HOU W W, REN H B, et al. Study on ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis of chickpea protein to prepare anti-oxidative peptide[J]. Food Research and Development, 2015, 36(13): 35−38.]
[14] 周雅情, 王莹, 王昱沣. 牛排菇多肽的酶解工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(14): 169−174. [ZHOU Y Q, WANG Y, WANG Y F. Optimization of enzymatic hydrolysis of *Fistulln hepatica* polypeptides[J]. Food Research and Development, 2023, 44(14): 169−174.]
[15] 张舒茜, 谢雯. 有效白蛋白概念、检测及其临床应用前景[J]. 实用肝脏病杂志, 2024, 27(2): 165−168. [ZHANG S Q, XIE W. Definition, detection and clinical application of effective albumin[J]. Journal of Practical Hepatology, 2024, 27(2): 165−168.]
[16] 刘文博, 赵青, 李海蓝, 等. 史氏鲟鱼精肽的制备、体外抗炎活性评价和结构表征[J]. 食品科学, 2024, 45(21): 1−20. [LIU W B, ZHAO Q, LI H L, et al. Preparation, *in vitro* anti-inflammatory activity evaluation and structural characterization of *Acipenser schrenckii* milt peptide[J]. Food Science, 2024, 45(21): 1−20.]
[17] 张雅男, 包怡红, 王金玲. 东北 9 种浆果生物活性物质及抗氧化、抗炎活性比较[J]. 现代食品科技, 2024, 41(3): 1−11. [ZHANG T N, BAO Y H, WANG J L. Bioactive substances, antioxidant activities and anti-inflammatory activities of 9 kinds of berries in northeast China[J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 41(3): 1−11.]
[18] SACHINDRA P, SHIROMA H, JAGATHPRIYA W, et al. *In vitro* anti-inflammatory and anti-oxidant activities of Sri Lankan medicinal plants[J]. Industrial Crops Products, 2016, 94: 610−620.
[19] 李思楠, 王萌, 安宇, 等. 复合菌种发酵制备白芸豆多肽工艺优化及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(3): 1−13. [LI S N, WANG M, AN Y, et al. Process optimization and antioxidant activity analysis of white kidney bean polypeptides prepared by composite strain fermentation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(3): 1−13.]
[20] 杨泽瑶, 许静, 王江雪, 等. 牛骨源血管紧张素转换酶抑制肽的鉴定与表征[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(13): 234−242. [YANG Z Y, XU J, WANG J X, et al. Identification and characterization of angiotensin-converting enzyme inhibitory peptide from bovine bone[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(13): 234−242.]
[21] 黄玉荣, 于家乐, 张子瑶, 等. 牦牛皮肽与 EGCG 的相互作用及其消化特性[J]. 现代食品科技, 2025, 41(4): 1−12. [HUANG Y R, YU J L, ZHANG Z Y, et al. Interaction and digestive characteristics of yak skin peptide with EGCG[J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(4): 1−12.]
[22] 张嫚, 张国治, 张康逸, 等. 超声辅助酶解法制备小麦 ACE 抑制肽及其稳定性研究[J]. 轻工学报, 2024, 39(5): 1−18. [ZHANG M, ZHANG G Z, ZHANG K Y, et al. Preparation and stability of ACE-inhibiting peptides from wheat by ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis[J]. Journal of Light Industry, 2024, 39(5): 1−18.]
[23] 冯飞, 葛永杰, 代容, 等. 超声波辅助提取技术研究进展[J]. 食品工业, 2022, 43(4): 239−243. [FENG F, GE Y J, DAI R, et al. Research progress of ultrasonic assisted extraction technology[J]. The Food Industry, 2022, 43(4): 239−243.]
[24] 顾林, 孙婧. 酶水解鲫鱼蛋白质及产物抗氧化活性初探[J]. 食品科学, 2007(10): 184−188. [GU L, SUN J. Preliminary study on enzymatic hydrolysis of crucian carp protein and its antioxidant activities[J]. Food Science, 2007(10): 184−188.]
[25] 张薇, 李爱琳, 李书国. 超声辅助酶解制备大米蛋白黄嘌呤氧化酶活性抑制肽的工艺条件优化[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(6): 51−58. [ZHANG W, LI A L, LI S G. Optimization of process conditions for xanthine oxidase activity inhibitory peptide of rice protein by ultrasound-assisted protease enzymolysis[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2024, 39(6): 51−58.]
[26] 褚明娟, 赵蕙新, 尚鹤婷, 等. 藜麦水溶蛋白的提取工艺优化及其酶解多肽抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(11): 301−309. [CHU M X, ZHAO H X, SHANG H T, et al. Optimization of *Chenopodium quinoa* Willd water-soluble protein extraction process and antioxidant activity of the enzymatic peptides[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(11): 301−309.]
[27] 贾韶千, 李艳霞. 黄鳝鱼骨多肽制备及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2016, 37(1): 133−138. [JIA S Q, LI Y X. Preparation and antioxidant activity of *Monopterus albus* bone peptide[J]. Food Science, 2016, 37(1): 133−138.]
[28] 麻成金, 黄伟, 黄群, 等. 复合酶法提取仿栗籽蛋白的工艺优化[J]. 食品科学, 2012, 33(20): 27−32. [MA C J, HUANG W, HUANG Q, et al. Optimization of dual-enzymatic hydrolysis for protein extraction from *Sloanea hemsleyana* seeds[J]. Food Science, 2012, 33(20): 27−32.]
[29] 沈金鹏, 王珂雯, 黄潘钿, 等. 珍珠贝水解肽的制备、氨基酸组成及抗炎活性[J]. 食品与机械, 2023, 39(2): 132−139,206. [SHEN J P, WANG K W, HUANG P D, et al. Preparation, amino acid composition and anti-inflammatory activity of hydrolyzed peptides from *Pinctada martensii*[J]. Food & Machinery, 2023, 39(2): 132−139,206.]
[30] GUHA S, MAJUMDER K. Structural-features of food-derived bioactive peptides with anti-inflammatory activity: A brief review[J]. Journal of Food Biochemistry, 2019, 43(1): 12531.
[31] 卢忠魁, 张璐璐, 张雷. 油莎豆粕小分子肽的制备、鉴定及功能分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(22): 305−312.

［LU Z K, ZHANG L L, ZHANG L. Preparation, identification and functional analysis of small molecular peptides from *Cyperus esculentus* meal［J］. Journal of Food Safety and Quality, 2023, 14(22): 305−312.］

［32］ LIU W, CHEN X, LI H, et al. Anti-inflammatory function of plant-derived bioactive peptides: A review［J］. Foods, 2022, 11(15): 11152361.

［33］ LIU Z, SHI H, CHEN L. Prognostic role of Pre-treatment creactive protein/albumin ratio in esophageal cancer: A meta-analysis［J］. BMC Cancer, 2019, 19(1): 1161.

［34］ 马馨桐, 邵帅, 张荣榕, 等. 桔梗美白活性部位的提取分离及活性初步研究［J］. 时珍国医国药, 2021, 32(10): 2388−2392.［MA X T, SHAO S, ZHANG R R, et al. Extraction, separation and whitening activity of *Platycodon grandiflorum*［J］. Lishizhen Medicine and Materia Medica, 2021, 32(10): 2388−2392.］

［35］ CHEN H, WANG K, XIAO H, et al. Structural characterization and pro-inflammatory activity of a thaumatin-like protein from pulp tissues of *Litchi chinensis*［J］. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(23): 6439−6447.

［36］ KUMAR S, SINGH R K, BHARDWAJ T R. Therapeutic role of nitric oxide as emerging molecule［J］. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 85: 182−201.

［37］ 毕新健, 文诗雨, 屈婷敏, 等. 分子模拟技术在食品领域中的应用研究进展［J］. 食品与机械, 2024, 40(5): 1−10,95.［BI X J, WEN S Y, QU T M. et al. Research and application status of molecular simulation technology in food field［J］. Food & Machinery, 2024, 40(5): 1−10,95.］

［38］ LIAO F, YOUSIF M, HUANG R Y, et al. Network pharmacology- and molecular docking-based analyses of the antihypertensive mechanism of *Ilex kudingcha*［J］. Frontiers in Endocrinology, 2023, 14: 1216086.

［39］ 彭钰迪. 鸭胚蛋酶解物中抗炎肽的筛选及其作用机制［D］. 重庆：重庆大学, 2022.［PENG Y D. Screening and underlying mechanism of anti-inflammatory peptides from enzymatic digest of duck embryo eggs［D］. Chongqing: Chongqing University, 2022.］

［40］ 李响, 高向东, 陶磊, 等. LC-MS/MS 法对融合蛋白 FP3 的氨基酸全序列测定［J］. 药学学报, 2012, 47(2): 216−222.［LI X, GAO X D, TAO L, et al. Measurement of the amino acid sequence for the fusion protein FP3 with LC-MS/MS［J］. Acta Pharmaceutica Sinica, 2012, 47(2): 216−222.］