王炜芸, 韩泞遥, 高艺芳, 等. 樟树籽仁源 α-葡萄糖苷酶抑制肽的制备工艺优化及其抗氧化活性 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(5): 249−258. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030027
WANG Weiyun, HAN Ningyao, GAO Yifang, et al. Optimizing the Preparation Process and Antioxidant Activity of α-Glucosidase Inhibitory Peptide from *Cinnamomum camphora* Seed Kernel[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(5): 249−258. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030027

· 工艺技术 ·

樟树籽仁源 α-葡萄糖苷酶抑制肽的制备工艺优化及其抗氧化活性

王炜芸[1,2], 韩泞遥[1,2], 高艺芳[1,3], 余　平[1,3], 曾哲灵[1,2,4], 鄢祥辉[1,2,4,*]
（1.南昌大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室, 江西南昌 330047;
2.南昌大学食品学院, 江西南昌 330031;
3.南昌大学化学化工学院, 江西南昌 330031;
4.农产品质量安全江西省重点实验室, 江西南昌 330047）

摘　要: 为高值化开发利用我国资源丰富的樟树籽、筛选樟树籽仁源 α-葡萄糖苷酶抑制肽，本研究以樟树籽仁蛋白为原料，采用水解度（DH）和 α-葡萄糖苷酶抑制率作为评价指标，通过单因素和正交试验优化制备得到樟树籽仁源 α-葡萄糖苷酶抑制肽，并测定分析其氨基酸组成和体外抗氧化活性。结果表明，樟树籽仁源 α-葡萄糖苷酶抑制肽的最优酶解工艺为：以木瓜蛋白酶为水解酶，底物浓度为 2%（w/v）、酶解温度为 55 ℃、酶解 pH 为 6.0、酶解时间为 2.0 h、酶添加量为 16000 U/g，该条件下樟树籽仁蛋白酶解物的 DH 为 26.81%。制得的樟树籽仁源 α-葡萄糖苷酶抑制肽对 α-葡萄糖苷酶、DPPH 自由基和 $ABTS^{+}$自由基的半数抑制率（IC_{50} 值）分别为 11.52、5.42 和 0.64 mg/mL。本研究为樟树籽仁源 α-葡萄糖苷酶抑制肽的挖掘提供了理论依据。

关键词: 樟树籽仁, 酶解, 生物活性肽, 水解度, α-葡萄糖苷酶抑制率, 抗氧化活性, 氨基酸组成
中图分类号: TS201.2　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)05−0249−10
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030027
本文网刊:

Optimizing the Preparation Process and Antioxidant Activity of *α*-Glucosidase Inhibitory Peptide from *Cinnamomum camphora* Seed Kernel

WANG Weiyun[1,2], HAN Ningyao[1,2], GAO Yifang[1,3], YU Ping[1,3], ZENG Zheling[1,2,4], YAN Xianghui[1,2,4,*]
（1.State of Key Laboratory of Food Science and Resources, Nanchang University, Nanchang 330047, China;
2.College of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330031, China;
3.School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, China;
4.Jiangxi Provincial Key Laboratory of Agrofood Safety and Quality, Nanchang 330047, China）

Abstract: To achieve high-value development and use of the abundant *Cinnamomum camphora* seed resources in China and screen the α-glucosidase inhibitor peptides derived from *Cinnamomum camphora* seed kernel (CCSK), the aim of this study was to produce α-glucosidase inhibitory peptides from CCSK by optimizing CCSK protein enzymatic hydrolysis conditions through single-factor experiments and orthogonal tests. Degree of hydrolysis (DH) and α-glucosidase inhibitory activity were used as evaluation indexes. Subsequently, the amino acid composition and *in vitro* antioxidant activity of the obtained α-glucosidase inhibitory peptides were analyzed. The results revealed that the following were the optimal conditions of CCSK protein enzymatic hydrolysis: papain as the hydrolase; substrate concentration of 2% (w/v), hydrolysis

收稿日期: 2025−03−05
基金项目: 国家重点研发计划重大专项课题（2023YFF1103502）。
作者简介: 王炜芸（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食物资源开发利用与生物质转化、生物活性资源开发与利用, E-mail: 2497175570@qq.com。
*** 通信作者:** 鄢祥辉（1995−）, 男, 博士, 研究方向: 食物资源开发利用与生物质转化、生物活性资源开发与利用, E-mail: xianghui_y@163.com。

temperature of 55 ℃, pH of 6.0, hydrolysis duration of 2.0 h, and an enzyme addition of 16000 U/g. At these conditions, the DH of the obtained CCSK α-glucosidase inhibitory peptides was 26.81%, while their median inhibition rates (IC_{50} values) on α-glucosidase, DPPH free radicals, and $ABTS^+$ free radicals were 11.52, 5.42, and 0.64 mg/mL, respectively. This study provides a theoretical basis for production of α-glucosidase inhibitory peptides from CCSK.

Key words: *Cinnamomum camphora* seed kernel; enzymatic hydrolysis; bioactive peptide; degree of hydrolysis; α-glucosidase inhibition rate; antioxidant activity; amino acid composition

糖尿病是由于体内胰岛素相对或绝对不足引起的糖、蛋白质和脂肪代谢紊乱的一种综合性病症,其特征为血糖和尿糖过高[1]。持续的高血糖和长期代谢紊乱等可导致全身组织器官,特别是肾[2]、眼[3]、神经系统及心血管[4]的损害和功能衰竭或障碍。严重者可引起电解质紊乱,失水和酸碱平衡失调等急性并发症,如酮症酸中毒和高渗昏迷。糖尿病发病率日益增多,已成为世界性的多发病、常见病,是仅次于肿瘤和心血管疾病的第三大疾病[5]。而 α-葡萄糖苷酶抑制剂可限制肠道对碳水化合物的转化,从而降低餐后血糖[6]。该活性涉及对小肠内各种 α-葡萄糖苷酶的竞争性抑制,降低淀粉分解为葡萄糖的速率,从而减缓肠道对葡萄糖的吸收[7]。

近年来,以植物蛋白作为 α-葡萄糖苷酶抑制肽的潜在来源得到了广泛关注。例如,邓永蓉等[8]将蚕豆蛋白经蛋白酶酶解后,再通过膜分离技术制备得到分子量为 3~5 kDa 的酶解多肽,当浓度为 32 mg/mL 时其 α-葡萄糖苷酶抑制率可达 86.56%。Yang 等[9]通过蛋白酶酶解花生蛋白,其酶解多肽表现出良好的 α-葡萄糖苷酶抑制效果,其半数抑制率(IC_{50} 值)为 5.63 mg/mL。Hu 等[10]从发酵米糠中分离出新型寡肽,当浓度达到 12 mg/mL 时其 α-葡萄糖苷酶抑制率为 30%。薛森等[11]将 β-伴大豆球蛋白进行胃肠道模拟消化,通过虚拟筛选和药物动力学方法获得了多个 α-葡萄糖苷酶抑制肽,其中四肽 EASY 对 α-葡萄糖苷酶的 IC_{50} 值为 208.6 μg/mL。以上研究均表明植物蛋白来源的多肽具有作为 α-葡萄糖苷酶抑制剂的潜在应用价值。

我国樟树(*Cinnamomum camphora*)资源十分丰富,樟树主要生长于我国淮河以南、珠江以北亚热带区域的 15 个省市。据估算,我国现有樟树的樟树籽年产量达 1100 万吨以上、居世界首位[12]。但目前,大部分樟树籽仍处于自熟落果、无人收购状态,既污染环境又造成了严重的资源浪费。樟树籽仁的营养成分丰富,其籽仁含油脂(56%~62% w/w)、蛋白质(18%~25% w/w),是全球唯一、中国独有的天然中链油(中链脂肪酸含量达 95% 以上)资源。樟树籽仁蛋白的必需氨基酸含量丰富(33.33%),与大豆分离蛋白(32.45%)相近。此外,樟树籽仁蛋白还含有丰富的疏水性氨基酸(丙氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸等)[13]。研究表明,多肽中疏水性氨基酸的含量与其 α-葡萄糖苷酶抑制活性呈正相关[14−15]。因此,樟树籽仁蛋白是制备 α-葡萄糖苷酶抑制肽的良好来源,而关于樟树籽仁蛋白的 α-葡萄糖苷酶抑制活性和潜在抗糖尿病作用未见报道。

酶法水解食品蛋白质制备生物活性肽具有绿色安全、过程易控制、条件温和、生产成本低和易规模化生产等特点,在实际生产中应用最广[16]。酶法水解主要是通过生物酶破坏主链中的肽键修饰蛋白质结构,从而达到改善蛋白质功能特性(溶解性、起泡性、凝胶性、乳化性等)和生物活性(抗氧化、抑菌、降血糖、降压等)的目的[17−18]。随着人口的急剧增长,动物资源的短缺直接限制了降血糖相关资源的获取,如动物多糖[19]、动物蛋白肽[20]等。反之,植物蛋白来源丰富且获取成本低,从植物蛋白中获取和利用降血糖肽是当前研究的新趋势[21]。

本研究以樟树籽仁蛋白为原料,以樟树籽仁蛋白酶解液 α-葡萄糖苷酶抑制活性为主要指标、水解度为辅助指标,通过单因素实验和正交优化得到酶解樟树籽仁蛋白的最适蛋白酶及其最佳酶解工艺参数,并对最佳工艺条件下制得的樟树籽仁源 α-葡萄糖苷酶抑制肽的氨基酸组成及体外抗氧化活性进行评价。旨在为高值化开发利用我国资源丰富的樟树籽提供理论依据,为植物源降血糖肽的酶法制备提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

脱壳樟树籽仁　2023 年 12 月从南昌大学青山湖校区(115°58′E/28°40′N)采摘新鲜成熟的樟树果实,洗净后依次经过脱果肉、烘干、脱壳处理,最后储存于 4 ℃ 冰箱中;木瓜蛋白酶(8×10^5 U/g)、中性蛋白酶(9×10^4 U/g)、碱性蛋白酶(2×10^5 U/g)、酸性蛋白酶(3×10^4 U/g)、风味蛋白酶(4×10^4 U/g)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒　北京索莱宝科技有限公司;1,1-二苯基-2-苦基苯肼(DPPH)、2,2-联氮基-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸(Trolox)、四硼酸二钠、L-酪氨酸、丝氨酸　上海麦克林生化科技股份有限公司;α-葡萄糖苷酶(700 U/mL)、阿卡波糖、对硝基苯-α-葡萄糖苷　上海源叶生物科技有限公司。

BS223S 电子天平　德国赛多利斯有限公司;PHS-2F pH 计　上海精密科学仪器科技有限公司;Anke TGL-16G 台式离心机　上海安亭科学仪器厂有限公司;DK-S26 电热恒温水浴锅　上海精宏实验设备有限公司;SCIENTZ-18N 真空冷冻干燥机　宁波新芝生物科技股份有限公司;TU-1950 紫外分光光度计　北京普析通用仪器有限公司;ReadMax

1900 光吸收型全波长酶标仪　上海闪谱生物科技有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　樟树籽仁蛋白的提取　原料预处理：将樟树籽仁用高速粉碎机粉碎后和正己烷以 1∶3(w/v)的比例混合，室温下连续搅拌 12 h，经减压抽滤得到脱脂樟树籽仁。重复操作两次后，合并提取液，并在 40 ℃ 真空旋转蒸发器中将正己烷蒸出，回收樟树籽仁油。脱脂樟树籽仁在通风橱中干燥 12 h，过 200 目筛网，在 4 ℃ 下保存备用。

樟树籽仁多酚去除：将脱脂樟树籽仁以料液比 1∶20(w/v)的比例分散在 80% 乙醇中，室温下搅拌提取 2 h，经负压过滤得到多酚提取液。重复提取 5 次后(提取液接近无色)，将固相置于通风橱中干燥 12 h，用于下一步蛋白质的提取。

樟树籽仁蛋白提取：按彭婷[22] 的工艺提取樟树籽仁蛋白，首先将去除多酚后的固相以料液比 1∶40(m/v)分散在蒸馏水中，调节体系的 pH 至 7.6，在室温下搅拌提取 2 h，离心(4000 r/min，10 min)收集上清液。然后调节上清液的 pH 至 4.0 使蛋白质充分沉淀，离心(4000 r/min，10 min)获得蛋白质沉淀物。将沉淀物重新分散在蒸馏水中，调节 pH 至 7.0，离心(4000 r/min，10 min)去除不溶性杂质，收集上清液经冷冻干燥后获得樟树籽仁蛋白，在−20 ℃ 下保存备用。依据 GB 5009.5-2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》采用凯氏定氮法(折算系数 N=6.25)测定冷冻干燥后樟树籽仁蛋白样品中蛋白质的含量为 90.80%。

1.2.2　樟树籽仁蛋白酶解产物制备工艺的优化　樟树籽仁蛋白酶解产物的制备参考梁荣等[23] 的方法，并稍作修改。称取 1.0 g 冻干后的樟树籽仁蛋白，按比例溶解于超纯水中，分别加入适量蛋白酶并调至最适 pH，置于水浴锅中调至最适温度水解一定时间。水解完成后置于 95 ℃ 水浴中加热 10 min 灭酶，最后使用高速离心机以 4800 r/min 的转速离心 10 min，收集上清液并调节 pH 调至 7.0，经真空冷冻干燥后即可得到樟树籽仁蛋白酶解产物。

1.2.2.1　蛋白酶的筛选　在蛋白酶的最适 pH 与最适温度下，设置底物浓度为 2.0%(w/v)，分别使用碱性蛋白酶、中性蛋白酶、酸性蛋白酶、木瓜蛋白酶和风味蛋白酶对樟树籽仁蛋白进行单酶水解 2.0 h，依次经过高温灭酶、离心、调节 pH、冷冻干燥后得到樟树籽仁蛋白酶解产物。以樟树籽仁蛋白酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率(1.2.3)和水解度(1.2.4)为指标，筛选得到最适蛋白酶用于后续的单因素实验研究。不同蛋白酶的酶解条件如表 1 所示。

1.2.2.2　单因素实验优化酶解工艺参数　基于 1.2.2.1 的结果，选用木瓜蛋白酶用于单因素实验研究。主要考察樟树籽仁蛋白酶解过程中酶解温度、加酶量、底物浓度、酶解 pH 及酶解时间 5 个因素对樟树籽仁蛋白酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率和水解度的影响，并设置重复实验。

表 1　5 种蛋白酶酶解条件

Table 1　Enzymatic hydrolysis conditions of five proteases

蛋白酶种类	最适温度(℃)	pH	时间(h)	酶添加量(U/g)
风味蛋白酶	37	5.0	2.0	10000
酸性蛋白酶	38	3.0	2.0	10000
碱性蛋白酶	38	9.0	2.0	10000
木瓜蛋白酶	40	5.0	2.0	10000
中性蛋白酶	38	7.0	2.0	10000

设置酶添加量为 10000 U/g、pH 为 5.0、底物浓度为 2%(w/v)和酶解时间为 2.0 h，考察酶解温度变化(35、45、55、65、75 ℃)对酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率和水解度的影响。

设置酶解温度为 55 ℃、pH 为 5.0、底物浓度为 2%(w/v)和酶解时间为 2.0 h，考察酶添加量变化(10000、12000、14000、16000、18000 U/g)对酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率和水解度的影响。

设置酶解温度为 55 ℃，酶添加量为 16000 U/g、pH 为 5.0 和酶解时间为 2.0 h，考察底物浓度(w/v)变化(1%、2%、3%、4%、5%)对酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率和水解度的影响。

设置酶解温度为 55 ℃，酶添加量为 16000 U/g、底物浓度为 2%(w/v)和酶解时间为 2.0 h，考察酶解 pH 变化(4.0、4.5、5.0、5.5、6.0)对酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率和水解度的影响。

设置酶添加量为 16000 U/g、酶解温度为 55 ℃、pH 为 5.5 和底物浓度为 2%(w/v)，考察时间变化(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h)时，对酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率和水解度的影响。

1.2.2.3　正交试验确定最佳酶解工艺参数　基于单因素实验的结果，按照 $L_9(3^4)$正交设计表进行樟树籽仁蛋白酶解的工艺条件优化。以 α-葡萄糖苷酶抑制率为考察指标，控制底物浓度为 2% 时选择酶解温度、酶添加量、酶解 pH、酶解时间作为影响因素考察最优酶解条件，因素水平见表 2。

表 2　正交试验设计

Table 2　Orthogonal experimental design

水平	因素			
	酶解温度(℃) A	酶添加量(U/g) B	酶解pH C	酶解时间(h) D
1	45	14000	5.0	1.5
2	55	16000	5.5	2.0
3	65	18000	6.0	2.5

1.2.3　樟树籽仁蛋白酶解产物 α-葡萄糖苷酶抑制率的测定　参考陶强等[24] 的方法稍作修改。向 96 孔板中分别加入 70 μL 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH6.8)稀释的样品溶液(浓度分别为 0.25、0.5、1、2.5、

5 mg/mL)和 20 μL α-葡萄糖苷酶(700 U/mL)后,置于 37 ℃ 恒温箱中孵育 30 min。之后加入 20 μL 对硝基苯-α-葡萄糖苷(PNPG, 10 mmol/L),混匀后置于 37 ℃ 恒温箱中孵育 20 min。结束后加入 90 μL Na_2CO_3 溶液(0.2 mol/L)终止反应,放置在酶标仪 405 nm 下检测吸光度值。以不加酶和样品的反应体系为空白,以阿卡波糖作为阳性对照。按公式(1)计算样品的 α-葡萄糖苷酶抑制率,结果用 IC_{50} 值表示。

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}(\%)=\left(1-\frac{C-D}{A-B}\right)\times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中:A 表示不加样品组的吸光度值,B 表示空白对照组的吸光度值,C 表示样品组的吸光度值,D 表示样品不加酶组的吸光度值。

1.2.4 樟树籽仁蛋白酶解产物水解度(DH)的测定 参考 Nielsen 等[25] 所述方法,采用邻苯二甲醛(OPA)法测定樟树籽仁蛋白水解物的水解度(DH)。首先,准确称量 50 mg 丝氨酸标准品溶解于蒸馏水中并定容至 500 mL,配制得到丝氨酸标准液(0.9516 meqv/g,表示每 g 丝氨酸标准品所含肽键的毫摩尔数);然后,取 400 μL 丝氨酸标准液与 3 mL OPA 试剂(现配)混合,准确反应 2 min 后在波长 340 nm 波长下测定吸光度值(OD_{340})(去离子水做参比)。将樟树籽仁蛋白酶解物溶解于蒸馏水中并适当稀释后,取 400 μL 樟树籽仁蛋白酶解物溶液与 3 mL OPA 试剂(现配)混合,重复以上操作,测定吸光度值(OD_{340})。根据樟树籽仁蛋白的氨基酸组成和不同氨基酸相对分子质量[26] 按公式(2 和 3)计算肽键总数(h_{tot}),获得值为 7.47 mmol/g,然后按公式(4、5 和 6)计算 DH。所有样品在同一条件下重复测定 3 次。

$$\text{肽键毫摩尔数}(\text{mmol})=\frac{\text{氨基酸含量}(\text{g})}{\text{氨基酸相对分子质量}} \quad \text{式(2)}$$

$$h_{tot}(\text{mmol/g})=\frac{\text{肽键毫摩尔数}(\text{mmol})}{\text{蛋白质含量}(\text{g})} \quad \text{式(3)}$$

$$\text{Serine-NH}_2(\text{meqv/g})=\frac{OD_{sample}-OD_{blank}}{OD_{standard}-OD_{blank}}\times\frac{0.9516\ \text{meqv}}{L}\times\frac{0.1\times 100}{X\times P} \quad \text{式(4)}$$

$$h=\frac{\text{Serine-NH}_2-\beta}{\alpha} \quad \text{式(5)}$$

$$DH(\%)=\frac{h}{h_{tot}}\times 100 \quad \text{式(6)}$$

式中:肽键毫摩尔数表示每 100 g 樟树籽仁蛋白样品中不同氨基酸的含量除以其相对分子质量的总和,mmol;氨基酸含量表示每 100 g 樟树籽仁蛋白样品中所含不同氨基酸的质量,g;h_{tot} 表示每 g 樟树籽仁蛋白样品所含肽键的毫摩尔数,mmol/g;蛋白质含量为每 100 g 樟树籽仁蛋白样品中所含蛋白质的质量,g;$Serine\text{-}NH_2$ 表示每 g 樟树籽仁蛋白酶解物中以丝氨酸标准品计算得到的肽键毫摩尔数当量,meqv/g;OD_{sample} 表示 400 μL 樟树籽仁蛋白酶解物溶液+3 mL OPA 试剂的吸光度值(OD_{340});$OD_{standard}$ 表示 400 μL 丝氨酸标准液+3 mL OPA 试剂的吸光度值(OD_{340});OD_{blank} 表示 400 μL 去离子水+3 mL OPA 试剂的吸光度值(OD_{340});X 表示樟树籽仁蛋白酶解物的质量,g;P 表示樟树籽仁蛋白酶解物中蛋白的含量,%;L 表示光径长度,cm;h 表示换算后每 g 樟树籽仁蛋白酶解物所含肽键的毫摩尔数,mmol/g;系数 α、β 分别取数值 1.00 和 0.40;DH 表示樟树籽仁蛋白酶解物的水解度,%。使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒,按照使用说明书操作测定樟树籽仁蛋白酶解液中蛋白的含量。

1.2.5 樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的氨基酸组成测定 依据 GB 5009.124-2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》的方法采用氨基酸全自动分析仪对样品进行氨基酸组成分析。样品前处理:准确称量 20 mg 樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽(蛋白含量 84.09%, N=6.25)于 20 mL 安培管中,依次加入 10 mL 6 mol/L HCl 和 1 g 苯酚,充氮气 10 min 以排除空气,然后将安培管置于 110 ℃ 烘箱中反应 24 h 使样品完全水解。水解完成后,将安培管取出、冷却、过滤,使用超纯水定容至 50 mL,取适量样品置于干净培养皿中,60 ℃ 水浴蒸干后加入超纯水溶解,重复蒸干 2 次,然后加入 2 mL 样品稀释液(pH2.2)复溶,振荡混匀,过 0.22 μm 滤膜后用于进样分析。

1.2.6 樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的抗氧化活性测定

1.2.6.1 DPPH 自由基清除能力测定 依据 GB/T 39100-2020《多肽抗氧化性测定 DPPH 和 ABTS 法》的方法测定樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的 DPPH 自由基清除能力。精确称取 DPPH 粉末溶于无水乙醇中,配制得到浓度为 0.004%(m/v)的 DPPH 溶液。精确称取樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽,使用超纯水依次配制浓度为 2、4、6、8、10 mg/mL 的样品溶液。吸取 1 mL 样品溶液与 3 mL DPPH 溶液混合,摇匀后避光反应 30 min,然后在 517 nm 波长处测定吸光度值(OD_{517})。按公式(7)计算 DPPH 自由基清除能力。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%)=\left(1-\frac{A-B}{C-D}\right)\times 100 \quad \text{式(7)}$$

式中:A 表示 1 mL 样品溶液+3 mL DPPH 溶液的吸光度值(OD_{517}),B 表示 1 mL 样品溶液+3 mL 无水乙醇的吸光度值(OD_{517}),C 表示 1 mL 超纯水+3 mL DPPH 溶液的吸光度值(OD_{517}),D 表示 1 mL 超纯水+3 mL 无水乙醇的吸光度值(OD_{517})。

1.2.6.2　ABTS$^+$自由基清除能力测定　依据 GB/T 39100-2020《多肽抗氧化性测定 DPPH 和 ABTS 法》的方法测定樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的 ABTS$^+$自由基清除能力。分别配制 10 mL 3.84 mg/mL ABTS 溶液和 10 mL 0.66 mg/mL $K_2S_2O_8$ 溶液，混合后避光反应过夜（12~16 h）；取 4 mL 反应后的溶液于 200 mL 容量瓶中并使用超纯水定容，使其在 734 nm 下吸光度值为 0.70±0.02，制得 ABTS$^+$工作液。精确称取樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽，使用超纯水依次配制浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL 的样品溶液。取 1 mL 样品溶液与 3 mL ABTS$^+$工作液混合，摇匀后避光反应 30 min，然后在 734 nm 波长处测定吸光度值（OD_{734}）。按公式（8）计算 ABTS$^+$自由基清除能力。

$$\text{ABTS}^+\text{自由基清除率}(\%)=\left(1-\frac{A-B}{C-D}\right)\times 100 \quad \text{式（8）}$$

式中：A 表示 1 mL 样品溶液+3 mL ABTS$^+$工作液的吸光度值（OD_{734}），B 表示 1 mL 样品溶液+3 mL 超纯水的吸光度值（OD_{734}），C 表示 1 mL 超纯水+3 mL ABTS$^+$工作液的吸光度值，D 表示 4 mL 超纯水的吸光度值（OD_{734}）。

1.3　数据处理

所有实验均做三次重复，结果以平均值±标准差表示。采用 SPSS22.0 对实验数据进行统计学分析（P<0.05 为具有显著性差异和统计学意义），利用 Origin 2021 软件对实验数据进行作图。

2　结果与分析

2.1　蛋白酶的筛选

研究表明，小分子肽更容易以完整的形式被吸收进入人体代谢循环中，从而保持其生物活性[27]。蛋白的酶解效果与生成产物中肽链的长短直接相关，因而，要制备大量的小分子活性肽，就必须达到一定的酶解程度。本实验的目的是制备樟树籽仁源 α-葡萄糖苷酶抑制肽，因此采用 α-葡萄糖苷酶抑制率和水解度为评价指标，考察 5 种商业蛋白酶对樟树籽仁蛋白的酶解效果。如图 1 所示，对樟树籽仁蛋白酶解效果最佳的是木瓜蛋白酶，其酶解产物的水解度为 12.99%，当样品浓度为 10 mg/mL 时，其 α-葡萄糖苷酶抑制率为 27.84%；对樟树籽仁蛋白酶解效果最差的是碱性蛋白酶，当碱性蛋白酶酶解产物的浓度为 10 mg/mL 时，其 α-葡萄糖苷酶抑制率仅为 6.68%。不同樟树籽仁蛋白酶解液的 α-葡萄糖苷酶抑制活性不同，可能是由于不同蛋白酶对樟树籽仁蛋白的酶切位点不同，其中木瓜蛋白酶能更广泛地将蛋白质水解为 C 端带有芳香族或疏水性氨基酸的短肽链[28]。并且，C 端含有芳香族氨基酸或疏水性氨基酸的肽链通常表现出较强的 α-葡萄糖苷酶抑制活性[29]。因此，选定木瓜蛋白酶为最适蛋白酶进行后续实验。

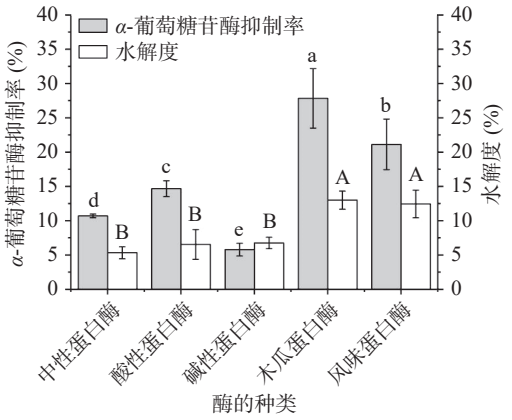


图 1　不同蛋白酶对酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率与水解度的影响

Fig.1　Effect of different proteases on α-glucosidase inhibition rate and degree of hydrolysis of enzymatic products

注：不同字母代表同一指标不同样品间存在显著性差异（P<0.05），图 2~图 8 同。

2.2　单因素实验结果分析

2.2.1　酶解温度对樟树籽仁蛋白酶解产物水解度及 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响　如图 2 所示，随着酶解温度的升高，樟树籽仁蛋白酶解产物（10 mg/mL）的水解度与 α-葡萄糖苷酶抑制率呈现先上升后下降的趋势。在 35 ℃ 至 55 ℃ 区间内，水解度与抑制率呈上升趋势。酶解温度到达 55 ℃ 时，水解度和 α-葡萄糖苷酶抑制率均达到最大值，分别为 18.93% 和 35.02%。在酶解温度低于 55 ℃ 时，樟树籽仁蛋白分子结构随着温度的升高而逐渐展开，使其暴露出更多的酶切割位点，因此更有利于被木瓜蛋白酶水解[30]。当酶解温度为 55 ℃ 至 75 ℃ 区间时，酶解产物的水解度随着酶解温度的升高先下降后上升，但均显著低于 55 ℃ 时的水解度（P<0.05）；此外，酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率随着酶解温度的升高而显著下降（P<0.05），从 35.02% 降低至 18.92%。温度影响酶对底物的催化反应，在最适温度以前，随着温度的升高，酶活力逐渐增大，因此水解度与 α-葡萄糖苷酶抑制率也随之增大；超过最适温度后，木瓜蛋白酶的空

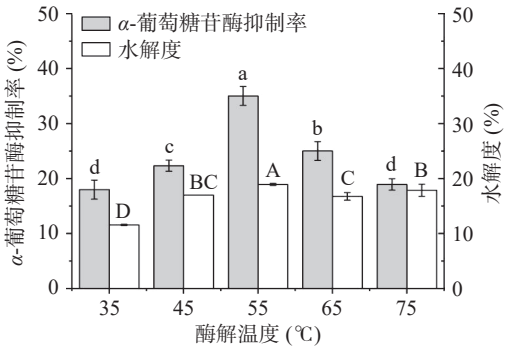


图 2　酶解温度对酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率与水解度的影响

Fig.2　Effect of enzymatic hydrolysis temperature on α-glucosidase inhibition rate and degree of hydrolysis of enzymatic products

间结构发生变化, 使酶的催化作用减弱甚至丧失; 继续升温会导致酶失活, 导致底物蛋白的水解度和 α-葡萄糖苷酶抑制率都降低[31]。因此, 选定 55 ℃ 作为最佳酶解温度进行后续实验。

2.2.2 酶添加量对樟树籽仁蛋白酶解产物水解度及 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响 如图 3 所示, 樟树籽仁蛋白酶解产物(10 mg/mL)的水解度与 α-葡萄糖苷酶抑制率随着酶添加量的增大而呈现先上升后下降趋势, 在木瓜蛋白酶添加量 16000 U/g 时, 酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制活性最好, 其抑制率为 42.23%, 水解度为 21.91%。超过此添加量后, α-葡萄糖苷酶抑制率显著下降(P<0.05)。这是因为在酶添加量较少时, 随着酶添加量的增加, 酶与底物蛋白的接触更加充分, 从而有利于水解反应的进行, 底物蛋白可被持续酶解产生更多具有抑制 α-葡萄糖苷酶的肽段, 因此酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率在不断升高。随着酶添加量从 16000 U/g 增加至 18000 U/g, 蛋白酶可能会微量水解先前已生成并具备 α-葡萄糖苷酶抑制活性的氨基酸肽段, 使肽段继续裂解(表现为水解度继续升高), 丧失已有的 α-葡萄糖苷酶抑制活性, 降低酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率[29]。因此, 选定 16000 U/g 作为最适酶添加量进行后续实验。

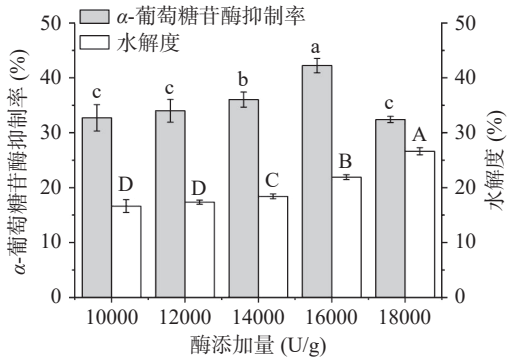


图 3 酶添加量对水解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率与水解度的影响

Fig.3 Effect of enzyme addition amount on α-glucosidase inhibition rate and degree of hydrolysis of enzymatic products

2.2.3 底物浓度对樟树籽仁蛋白酶解产物水解度及 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响 由图 4 可知, 随着底物浓度增大, 樟树籽仁蛋白酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率呈现先升高后下降的趋势。底物浓度达到 2%, 樟树籽仁蛋白酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率达到最大值 43.23%, 底物浓度继续增大导致 α-葡萄糖苷酶抑制率下降。这可能是由于底物蛋白浓度的增加影响了酶水解系统的流动性以及蛋白酶与底物之间接触表面的大小[32], 在相同的酶解时间内, 肽键断裂的速度下降, 不能使酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率继续升高。对于水解度而言, 樟树籽仁蛋白酶解产物的水解度随着底物浓度增大而不断降低。这一现象可能是由底物浓度过高, 酶解不完全导致的。基

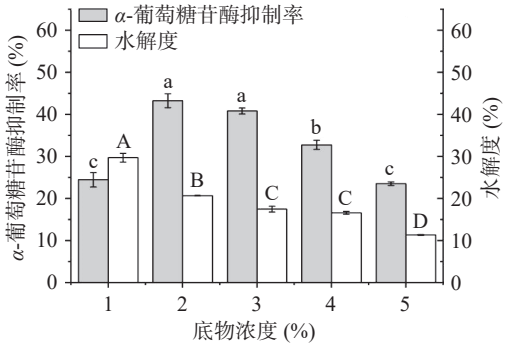


图 4 底物浓度对酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率与水解度的影响

Fig.4 Effect of substrate concentration on α-glucosidase inhibition rate and degree of hydrolysis of enzymatic products

于 α-葡萄糖苷酶抑制活性为本研究的主要评价指标, 因此选定 2% 作为最佳底物浓度进行后续实验。

2.2.4 酶解 pH 对樟树籽仁蛋白酶解产物水解度及 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响 如图 5 所示, pH 在 4.0~6.0 范围内时, 樟树籽仁蛋白酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率和水解度总体表现出先升高后降低的趋势。其中, 在 pH 为 4.0~5.5 时, 樟树籽仁蛋白酶解产物的整体抑制效果随酸性的减弱而逐步增强; 在 pH 为 5.5 时, 樟树籽仁蛋白酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率和水解度达到最大值分别为 46.34% 和 25.08%。继续增大酶解 pH 从 5.5 至 6.0, 樟树籽仁蛋白酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率和水解度分别降低至 42.81% 和 20.73%。这种现象的原因可能是偏酸或偏碱环境会在一定程度上破坏蛋白酶的结构稳定性, 抑制蛋白酶的催化活性, 从而导致酶解产物的水解度和抑制率降低[33]。因此, 选定 pH5.5 为最佳酶解 pH 进行后续实验。

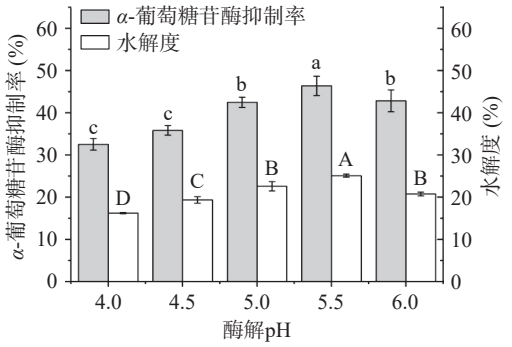


图 5 酶解 pH 对酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率与水解度的影响

Fig.5 Effect of enzymatic hydrolysis pH on α-glucosidase inhibition rate and degree of hydrolysis of enzymatic products

2.2.5 酶解时间对樟树籽仁蛋白酶解产物水解度及 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响 如图 6 所示, 在酶解 2.0 h 时, 樟树籽仁蛋白酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率达到最大值为 47.81%, 此时水解度为 24.26%。

当继续延长酶解时间至 3.0 h，樟树籽仁蛋白酶解产物的水解度略有增加，α-葡萄糖苷酶抑制率略有下降，但无显著性变化（$P>0.05$）。这一现象的原因可能是随着酶解时间的延长，可被酶解的樟树籽仁蛋白的酶解位点数量减少，前期部分已被水解的蛋白肽可能被进一步水解成无 α-葡萄糖苷酶抑制率的氨基酸片段，导致酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率下降[34]。因此，选择 2.0 h 为最佳酶解时间进行后续实验。

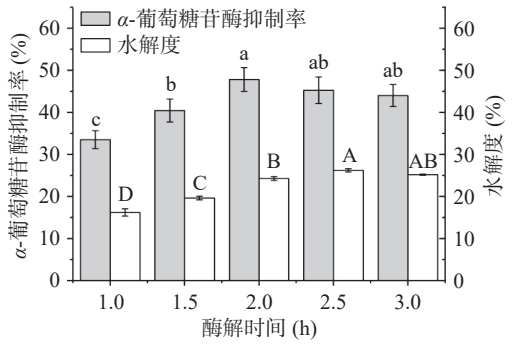


图 6　酶解时间对酶解产物的 α-葡萄糖苷酶抑制率与水解度的影响

Fig.6　Effect of enzymatic hydrolysis time on α-glucosidase inhibition rate and degree of hydrolysis of enzymatic products

2.3　正交试验结果分析

根据单因素实验结果，对酶解温度、酶解 pH、酶解时间、酶添加量进行 $L_9(3^4)$ 正交试验。由表 3 极差 R 大小可见，四种因素对樟树籽仁蛋白酶解产物 α-葡萄糖苷酶抑制率的效果影响依次为：酶解温度>酶解时间>酶添加量>酶解 pH。结果表明，樟树籽仁蛋白最佳酶解工艺条件的组合为 $A_2B_2C_3D_2$，即酶解温度为 55 ℃、酶添加量为 16000 U/g、酶解 pH 为 6.0、酶解时间为 2.0 h。在最佳工艺条件下，进行 3 次平行实验，得到樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽（10 mg/mL）的 α-葡萄糖苷酶抑制率为 48.81%，高于正交试验组的最大值；在樟树籽仁蛋白酶解产物浓度为 0~20 mg/mL 时，验证其 IC_{50} 值为 11.52 mg/mL。

表 3　正交试验结果

Table 3　Orthogonal test results

试验号	因素				α-葡萄糖苷酶抑制率(%)
	A(℃)	B(U/g)	C	D(h)	
1	45	14000	5.0	1.5	40.22
2	45	16000	5.5	2.0	41.75
3	45	18000	6.0	2.5	43.44
4	55	14000	5.5	2.5	46.38
5	55	16000	6.0	1.5	47.66
6	55	18000	5.0	2.0	41.75
7	65	14000	6.0	2.0	36.48
8	65	16000	5.0	2.5	38.00
9	65	18000	5.5	1.5	32.79
K_1	41.803	40.223	39.990	41.027	
K_2	45.263	42.607	40.307	42.470	
K_3	35.757	39.993	42.527	39.327	
R	9.506	2.614	2.537	3.143	

2.4　樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的氨基酸组成

多肽的生物活性与氨基酸组成直接相关。如表 4 所示，从樟树籽仁蛋白及其 α-葡萄糖苷酶抑制肽中共检测出 17 种氨基酸，包括 8 种必需氨基酸和 9 种非必需氨基酸。樟树籽仁蛋白及其 α-葡萄糖苷酶抑制肽的总氨基酸含量分别为 80.82 g/100 g 和 71.49 g/100 g，与蛋白质含量（分别为 90.80% 和 84.09%）的结果一致，表明樟树籽仁蛋白及其 α-葡萄糖苷酶抑制肽中不仅含有蛋白质，还可能含有糖类。樟树籽仁蛋白酶解产物中疏水性氨基酸（丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸）[35] 含量占总氨基酸含量的 30.06%，显著高于樟树籽仁蛋白的疏水性氨基酸含量 26.89%（$P<0.05$）。研究表明，多肽中疏水性氨基酸的含量与其 α-葡萄糖苷酶抑制活性呈正相关[14−15]。因此，可通过进一步从樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽中富集纯化含有疏水性氨基酸的多肽，提高其 α-葡萄糖苷酶抑制能力。

表 4　樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的氨基酸组成

Table 4　Amino acid composition of α-glucosidase inhibitory peptides derived from *Cinnamomum camphora* seed kernel protein

氨基酸	樟树籽仁蛋白 (g/100 g)	樟树籽仁蛋白α-葡萄糖苷酶抑制肽(g/100 g)
天冬氨酸(Asp)	7.63±0.47^a	7.44±0.33^a
丝氨酸(Ser)	4.43±0.22^a	4.72±0.21^a
苏氨酸(Thr)	2.25±0.17^a	2.11±0.11^a
谷氨酸(Glu)	17.15±0.90^a	16.54±0.77^a
甘氨酸(Gly)	3.27±0.17^b	4.79±0.19^a
丙氨酸(Ala)	3.39±0.07^a	2.95±0.13^b
半胱氨酸(Cys)	0.90±0.25^a	0.86±0.07^a
缬氨酸(Val)	3.59±0.20^b	4.75±0.28^a
蛋氨酸(Met)	1.18±0.00^a	1.19±0.04^a
异亮氨酸(Ile)	2.77±0.19^a	1.48±0.34^b
亮氨酸(Leu)	5.65±0.36^a	4.31±0.03^b
酪氨酸(Tyr)	4.79±0.30^a	3.68±0.16^b
苯丙氨酸(Phe)	4.07±0.30^a	2.67±0.10^b
组氨酸(His)	3.12±0.24^b	4.61±0.23^a
赖氨酸(Lys)	4.31±0.22^a	3.08±0.13^b
精氨酸(Arg)	10.44±0.51^a	7.77±0.25^b
脯氨酸(Pro)	1.88±0.04^b	2.14±0.10^a
总氨基酸	80.82±4.59^a	71.49±2.72^b
疏水性氨基酸/总氨基酸(%)	26.89±0.30^b	30.06±0.38^a

注：同行不同字母代表组间存在显著性差异（$P<0.05$）。

2.5　DPPH 自由基清除能力

研究表明，氧化应激是 2 型糖尿病的重要诱因之一[36]。在糖尿病的发生发展过程中，慢性高血糖持续促进活性氧（ROS）的产生并引发氧化应激，从而加剧了胰岛素抵抗，导致糖尿病持续进展和恶化。因此，有必要对樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的抗氧化能力进行评价。DPPH 自由基清除能力可以反映食品来源生物活性物质的抗氧化特性[37]。如

图 7 所示，樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的 DPPH 自由基清除能力随着样品浓度的增加而增加。在测定浓度范围内（2~10 mg/mL），樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的 DPPH 自由基清除率由 15.93% 增加至 78.56%。当样品浓度达到 10 mg/mL 时，其 DPPH 自由基清除率达到最大值为 78.56%，其 IC_{50} 值为 5.42 mg/mL。

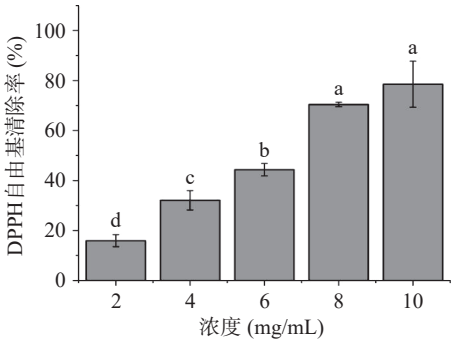


图 7 樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的 DPPH 自由基清除能力

Fig.7 DPPH radical scavenging ability of α-glucosidase inhibitory peptides derived from *Cinnamomum camphora* seed kernel protein

2.6 $ABTS^+$自由基清除能力

$ABTS^+$自由基清除率可以反映体系内包括亲水性和疏水性肽在内的总抗氧化活性[38]。如图 8 所示，樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的 $ABTS^+$清除能力随着样品浓度的增加而增加。在测定浓度范围内（0.2~1.0 mg/mL），樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的 $ABTS^+$自由基清除率由 28.37% 增加至 59.31%，其 IC_{50} 值为 0.64 mg/mL。综上，樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽具有良好的体外抗氧化活性。

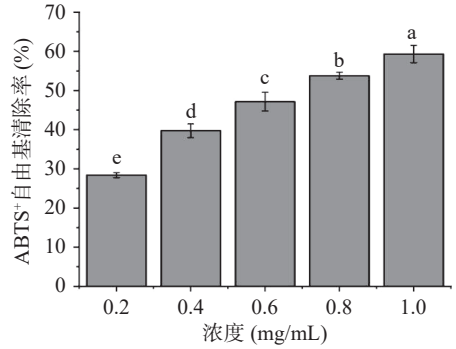


图 8 樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的 $ABTS^+$自由基清除能力

Fig.8 $ABTS^+$ radical scavenging ability of α-glucosidase inhibitory peptide derived from *Cinnamomum camphora* seed kernel protein

3 结论

本实验以樟树籽仁蛋白为原料，以水解度及 α-葡萄糖苷酶抑制率为指标，筛选得到木瓜蛋白酶为酶解樟树籽仁蛋白的最适蛋白酶，通过单因素、正交优化试验得到木瓜蛋白酶酶解樟树籽仁蛋白的最佳条件为：底物浓度为 2%（w/v）、酶解温度为 55 ℃、酶解 pH 为 6.0、酶解时间为 2.0 h、加酶量为 16000 U/g；在此条件下樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽（10 mg/mL）对 α-葡萄糖苷酶的抑制率为 48.81%，IC_{50} 值为 11.52 mg/mL。氨基酸组成分析结果显示樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽的疏水性氨基酸含量占总氨基酸含量的 30.06%。并且，樟树籽仁蛋白 α-葡萄糖苷酶抑制肽表现出良好的体外自由基清除活性。本研究丰富了植物源降血糖肽的来源，为实现樟树籽的高值化利用奠定了理论基础。

© 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] 母义明, 纪立农. 二甲双胍临床应用专家共识[J]. 中华内科杂志, 2023, 62(6): 619−630. [MU Yiming, JI Linong. Chinese expert consensus on metformin in clinical practice[J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2023, 62(6): 619−630.]

[2] 徐欢, 王伟铭. 延缓糖尿病肾病进展的措施[J]. 上海医学, 2020, 43(9): 575−580. [XU Huan, WANG Weiming. Measures to delay the progress of diabetic nephropathy[J]. Shanghai Medical Journal, 2020, 43(9): 575−580.]

[3] 李秋玉, 彭佳欣, 邵毅. 糖尿病对眼前节微环境平衡的影响研究[J]. 国际眼科杂志, 2021, 21(4): 628−631. [LI Qiuyu, PENG Jiaxin, SHAO Yi. Effect of diabetes on microenvironment balance in anterior segment[J]. International Eye Science, 2021, 21(4): 628−631.]

[4] 施雯, 张晓良. 糖尿病肾脏疾病治疗现状及进展[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2020, 29(4): 375−380. [SHI Wen, ZHANG Xiaoliang. Current status and research updates on treatment of diabetic kidney disease[J]. Chinese Journal of Nephrology, Dialysis & Transplantation, 2020, 29(4): 375−380.]

[5] 黄春跃, 马梦洁, 牛莉鑫, 等. 红果参果化学成分及其 α-葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(16): 65−73. [HUANG Chunyue, MA Mengjie, NIU Lixin, et al. Phytochemical composition and α-glucosidase inhibitory activity of *Campanumoea lancifolia* (Roxb.) Merr fruit[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(16): 65−73.]

[6] 阎成烜, 郭崇真, 林建阳. 新型 α-葡萄糖苷酶抑制剂筛选及药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2021, 44(2): 440−445. [YAN Chengda, GUO Chongzhen, LIN Jianyang. Research progress of screen and pharmacological effect for novel α-glucosidase[J]. Drug Evaluation Research, 2021, 44(2): 440−445.]

[7] 郅丽超, 张琳依, 梁馨元, 等. 天然活性成分对 α-葡萄糖苷酶抑制作用的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(6): 2276−2282. [ZHI Lichao, ZHANG Linyi, LIANG Xinyuan, et al. Research progress on the inhibitory effect of natural active ingredients on α-glucosidase[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(6): 2276−2282.]

[8] 邓永蓉, 韩丽娟, 杨希娟, 等. 膜分离蚕豆蛋白酶解产物的理化性质及生物活性[J]. 中国油脂, 2022, 47(6): 92−99. [DENG Yongrong, HAN Lijuan, YANG Xijuan, et al. Physicochemical

properties and biological activity of broad bean protein hydrolysate obtained by membrane separation technology[J]. China Oils and Fats, 2022, 47(6): 92−99.]
[9] YANG Xinyu, WANG Dan, DAI Yangyong, et al. Identification and molecular binding mechanism of novel α-glucosidase inhibitory peptides from hot-pressed peanut meal protein hydrolysates[J]. Foods, 2023, 12(3): 663.
[10] HU Jingfei, LAI Xiaohua, WU Xudong, et al. Isolation of a novel anti-diabetic α-glucosidase oligo-peptide inhibitor from fermented rice bran[J]. Foods, 2023, 12(1): 183.
[11] 薛森, 吴敬凡, 曹淑芳, 等. 大豆多肽中 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶抑制剂的虚拟筛选及体外活性验证[J]. 中国食品学报, 2024, 24(6): 44−56. [XUE Sen, WU Jingfan, CAO Shufang, et al. Virtual screening of α-glucosidase and α-amylase inhibitors from soybean peptides and its activity validation *in vitro*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(6): 44−56.]
[12] 厉秋岳. 解决我国食用油资源严重短缺难题的一条创新之路：论樟树籽的开发利用[J]. 中国油脂, 2021, 46(2): 1−4. [LI Qiuyue. An innovative way to solve the problem of severe shortage of edible oil resources in China: Exploitation of camphor seeds[J]. China Oils and Fats, 2021, 46(2): 1−4.]
[13] YAN Xianghui, LIANG Shibo, PENG Ting, et al. Influence of phenolic compounds on physicochemical and functional properties of protein isolate from *Cinnamomum camphora* seed kernel[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 102: 105612.
[14] ZHANG Yuanhong, ZHOU Feibai, ZHAO Mouming, et al. Soy peptide aggregates formed during hydrolysis reduced protein extraction without decreasing their nutritional value[J]. Food & Function, 2017, 8(12): 4384−4395.
[15] ZHANG Ruixue, WEI Ying, LI Mingliang, et al. Melanogenesis effects of rice protein hydrolysate and its characteristic peptides Leu-Leu-Lys, Leu-Pro-Lys, and pyroGlu-Lys on UVB-induced human epidermal melanocyte cells[J]. Food & Function, 2020, 11(10): 8757−8767.
[16] 张作达, 吴若娜, 王琴飞, 等. 植物源功能活性多肽研究进展[J]. 中国农学通报, 2022, 38(12): 88−94. [ZHANG Zuoda, WU Ruona, WANG Qinfei, et al. Bioactive peptides based on plants: A review[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(12): 88−94.]
[17] 赵原, 金艳, 张民. 酶解麦胚制备风味活性肽的研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(14): 42−51. [ZHAO Yuan, JIN Yan, ZHANG Min. Enzymatic production of wheat germ peptides with flavor and activity[J]. Food Research and Development, 2022, 43(14): 42−51.]
[18] 常畅, 闫巧娟, 江正强. 酶解豆类蛋白制备活性肽研究进展[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(11): 10−17. [CHANG Chang, YAN Qiaojuan, JIANG Zhengqiang. Enzymatic preparation of legume proteins-derived bioactive peptides[J]. Food Research and Development, 2022, 43(11): 10−17.]
[19] 顾龙玥, 孙晓晶, 初侨, 等. 动物多糖降血糖作用及机制研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(21): 7674−7683. [GU Longyue, SUN Xiaojing, CHU Qiao, et al. Research progress in hypoglycemic effect and mechanism of animal polysaccharides[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(21): 7674−7683.]
[20] 杜晓静. 山羊奶蛋白肽的制备、鉴定及降血糖机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2023. [DU Xiaojing. Preparation, identification of goat milk protein peptide and its mechanism of hypoglycemic[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023.]
[21] XU Yue, YANG Yang, MA Chunmin, et al. Characterization of the structure, antioxidant activity and hypoglycemic activity of soy (*Glycine max* L.) protein hydrolysates[J]. Food Research International, 2023, 173: 113473.
[22] 彭婷. 樟树籽仁蛋白的分离和鉴定及多酚共价结合对其结构和性能的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2024. [PENG Ting. Isolation and identification of protein from *Cinnamomum camphora* seed kernel and the effect of polyphenol covalent binding on its structure and properties[D]. Nanchang: Nanchang University, 2024.]
[23] 梁荣, 徐乐, 樊琛, 等. 酶解法制备阿胶蛋白肽工艺条件优化及抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(10): 217−224. [LIANG Rong, XU Le, FAN Chen, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis process for preparing peptides from *Asini Corii Colla* and its antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(10): 217−224.]
[24] 陶强, 李姣, 曹皖雪, 等. 肽 Tyr-Pro-Ile-Trp(YPIW)对 α-葡萄糖苷酶的抑制机理及其稳定性[J]. 食品科学, 2025, 46(7): 43−50. [TAO Qiang, LI Jiao, CAO Wanxue, et al. Mechanism for the inhibition of α-glucosidase by peptide Tyr-pro-ile-trp (YPIW) and its stability[J]. Food Science, 2025, 46(7): 43−50.]
[25] 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.
[26] 谢丽蒙, 程凡升, 袁瑾, 等. 食源性蛋白质水解度常数 h_{tot} 值的测定[J]. 氨基酸和生物资源, 2013, 35(1): 15−18. [XIE Limeng, CHENG Fansheng, YUAN Jin, et al. Study on the h_{tot} value of foodborne protein[J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2013, 35(1): 15−18.]
[27] 顾欣, 崔洁, 李迪, 等. 山杏仁蛋白源 α-葡萄糖苷酶抑制肽的分离、纯化及鉴定[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(8): 116−121. [GU Xin, CUI Jie, LI Di, et al. Separation, purification, and identification of α-glucosidase inhibitory peptides from apricot kernel proteins[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2016, 31(8): 116−121.]
[28] WANG Yingying, WANG Chenying, WANG Shuangtong, et al. Physicochemical properties and antioxidant activities of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) seed protein hydrolysates obtained with different proteases[J]. Food Chemistry, 2021, 345: 128765.
[29] 武安琪. 基于苦杏仁醇溶蛋白的降血糖肽饮料制备工艺研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2021. [WU Anqi. Preparation of a bitter almond kernel prolamin based hypoglycemic peptide drink[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2021.]
[30] 黄雪艳, 魏冰, 杨敏, 等. 酶解条件对酶法制备风味型菜籽油的影响研究[J]. 粮食与食品工业, 2025, 32(1): 1−5. [HUANG Xueyan, WEI Bing, YANG Min, et al. Study on the effect of enzymatic hydrolysis conditions on the preparation of flavored rapeseed oil by enzymatic method[J]. Cereal & Food Industry, 2025, 32(1): 1−5.]
[31] 范尧珠, 张璐, 曹加彪, 等. 乳清蛋白源降糖肽的酶法制备及工艺优化[J]. 食品工业, 2022, 43(2): 66−70. [FAN Yaozhu, ZHANG Lu, CAO Jiabiao, et al. Enzymatic preparation and process optimization of glycopeptides from whey protein[J]. The Food In-

dustry, 2022, 43(2): 66−70.]
[32] ZHANG Yuanping, WU Fenghua, HE Zhiping, et al. Optimization and molecular mechanism of novel α-glucosidase inhibitory peptides derived from *Camellia* seed cake through enzymatic hydrolysis[J]. Foods, 2023, 12(2): 393.
[33] 王海东, 张涵, 周泓妍, 等. 响应面法优化五味子蛋白肽的制备工艺及其体外抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2024, 45(19): 166−176. [WANG Haidong, ZHANG Han, ZHOU Hongyan, et al. Optimization of preparation technology and antioxidant activity of schisandrae chinensis protein peptides *in vitro* by response surface methodology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(19): 166−176.]
[34] 吴月. 枸杞籽粕 ACE 抑制肽的筛选鉴定及作用机理研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2022. [WU Yue. Isolation, identification and mechanism of ACE inhibitory peptides from wolfberry seed meal[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2022.]
[35] 卫萍, 刘国明, 韦珍, 等. 火麻蛋白肽体内降血压功效研究[J]. 中国油脂, 2025, 50(4): 40−45. [WEI Ping, LIU Guoming, WEI Zhen, et al. Hypotensive effect *in vivo* of hemp protein peptides[J]. China Oils and Fats, 2025, 50(4): 40−45.]
[36] 吴雪, 李毅诺, 董永惠, 等. 沙棘原花青素的抗氧化和 α-葡萄糖苷酶抑制活性[J]. 食品科学, 2025, 46(6): 63−72. [WU Xue, LI Yinuo, DONG Yonghui, et al. Antioxidant and α-glucosidase inhibitory activities of procyanidins from sea buckthorn[J]. Food Science, 2025, 46(6): 63−72.]
[37] 李肇联, 赵家禾, 尹程程, 等. 西洋参多肽制备及其抗氧化活性研究[J]. 中国现代中药, 2025, 27(1): 80−87. [LI Zhaolian, ZHAO Jiahe, YIN Chengcheng, et al. Preparation of American ginseng polypeptide and its antioxidant activity[J]. Modern Chinese Medicine, 2025, 27(1): 80−87.]
[38] 江敏, 胡小军, 王标诗, 等. 发酵法制备马氏珠母贝抗氧化多肽工艺及清除自由基的研究[J]. 食品与发酵科技, 2017, 53(4): 32−38. [JIANG Min, HU Xiaojun, WANG Biaoshi, et al. Fermentation technology and free radical scavenging of *Pinctada martensii* antioxidant polypeptides[J]. Food and Fermentation Sciences & Technology, 2017, 53(4): 32−38.]