李文珠, 陈鸿彬, 周芮冰, 等. 带鱼下脚料降血糖肽酶法制备及其稳定性研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(18): 202−210. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070394

LI Wenzhu, CHEN Hongbin, ZHOU Ruibing, et al. Enzymatic Preparation and Stability of Hypoglycemic Peptides from Hairtail Waste[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(18): 202−210. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070394

· 工艺创新与智能制造 ·

带鱼下脚料降血糖肽酶法制备及其稳定性研究

李文珠[1,2], 陈鸿彬[2], 周芮冰[2], 邹　骞[2], 李　澄[3], 周小敏[3], 刘　宇[2], 余中节[2], 孙　迪[2], 严小军[2], 马庆保[1,2,*], 姜　维[2,*]

（1.福建省-印尼海洋食品联合研发中心（福建技术师范学院）, 福建福清 350300;
2.浙江海洋大学国家海洋设施养殖工程技术研究中心（创新应用研究院）, 浙江舟山 316022;
3.浙江兴业集团有限公司, 浙江舟山 316022）

摘　要: 本研究以带鱼下脚料为原料，通过单因素和响应面试验优化了风味蛋白酶酶解制备 α-葡萄糖苷酶（α-glucosidase，α-GLU）抑制肽的工艺条件，并对其稳定性进行了评价。结果表明：最佳酶解条件为酶解温度 55 ℃，pH8.0，酶解时间 5.3 h，酶添加量 9620 U/g，在此条件下制备的带鱼活性肽（Inhibitory Peptide from Hairtail Waste，IPHW）的 α-GLU 抑制率为 64.8%±0.6%。分子量结果表明 IPHW 主要由小于 1000 Da 的寡肽组成，占比为 89.5%。体外稳定性研究表明，IPHW 在中性或弱碱性、非高温、避紫外光、无 Na^{+}、Mg^{2+}、Al^{3+}等金属离子条件下具有较高的稳定性；模拟胃肠道消化后仍保留 85% 以上的抑制活性，显示出良好的消化稳定性。研究结果为带鱼下脚料的高值化利用提供了新途径，也为开发天然、安全、有效的 α-GLU 抑制肽类降血糖功能因子提供了理论依据。

关键词: 降血糖肽, 带鱼下脚料, 稳定性, α-葡萄糖苷酶, 酶法制备

中图分类号: TS254.1　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)18−0202−09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070394　　本文网刊:

Enzymatic Preparation and Stability of Hypoglycemic Peptides from Hairtail Waste

LI Wenzhu[1,2], CHEN Hongbin[2], ZHOU Ruibing[2], ZOU Qian[2], LI Cheng[3], ZHOU Xiaomin[3], LIU Yu[2], YU Zhongjie[2], SUN Di[2], YAN Xiaojun[2], MA Qingbao[1,2,*], JIANG Wei[2,*]

（1.Fujian Province-Indonesia Marine Food Joint Research and Development Center (Fujian Polytechnic Normal University), Fuqing 350300, China;
2.National Engineering Research Center for Marine Aquaculture (Institute of Innovation and Application), Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;
3.Zhejiang Xingye Group Co., Ltd., Zhoushan 316022, China）

Abstract: In this study, hairtail by-products were used as raw materials to optimize the enzymatic hydrolysis conditions for preparing α-glucosidase (α-GLU) inhibitory peptides using flavourzyme, through single-factor experiments and response surface methodology. The optimal hydrolysis conditions were determined to be an enzymatic hydrolysis temperature of 55 ℃, pH8.0, enzymatic hydrolysis time of 5.3 h, and enzyme addition of 9620 U/g. Under these conditions, the α-GLU

收稿日期: 2025−08−01

基金项目: 浙江省教育厅一般科研项目（Y202457283）; 舟山市科技项目（2023C13014）; 定海区科技计划项目（2023C31005）。

作者简介: 李文珠（1998−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 海洋活性肽研究与开发, E-mail: liwenzhu@zjou.edu.cn。

*** 通信作者:** 马庆保（1991−）, 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 海洋活性肽研究与开发, E-mail: qbma0303@zjou.edu.cn。

姜维（1987−）, 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品加工与贮藏, E-mail: jiangw@zjou.edu.cn。

inhibition rate of the inhibitory peptide from hairtail waste (IPHW) reached 64.8%±0.6%. Molecular weight analysis indicated that IPHW was mainly composed of oligopeptides with molecular weights below 1000 Da, accounting for 89.5%. *In vitro* stability tests showed that IPHW exhibited high stability under neutral or mildly alkaline pH, non-high-temperature, UV-shielded, and metal ion-free conditions (Na^+, Mg^{2+}, and Al^{3+}). After simulated gastrointestinal digestion, IPHW retained more than 85% of its inhibitory activity, demonstrating good digestive stability. These results provide a novel approach for the high-value utilization of hairtail by-products and offer a theoretical basis for the development of natural, safe, and effective α-GLU inhibitory hypoglycemic peptides.

Key words: hypoglycemic peptide; hairtail waste; stability; α-glucosidase; enzymatic preparation

糖尿病(Diabetes mellitus, DM)是一种代谢性疾病，临床上分为 1 型糖尿病、2 型糖尿病(Diabetes mellitus type 2, T2DM)、妊娠糖尿病三大类[1−3]。其中 T2DM 占糖尿病总数的 90% 以上[3-4]，其特征是胰岛素分泌不足、胰岛素抵抗和高血糖，并伴有血脂异常和长期炎症，严重影响人类健康和生活质量[5-6]。根据《国际糖尿病联合会(International diabetes federation, IDF)》的统计数据，预测 2050 年将有 8.53 亿人患糖尿病[7]。目前临床上常用的 T2DM 降血糖药物主要分为双胍类、磺脲类、降低胰岛素抵抗类、α-葡萄糖苷酶(α-glucosidase, α-GLU)抑制剂等[1,8-9]，其中 α-GLU 是 T2DM 的重要治疗靶点，能水解葡萄糖苷键并释放单糖，因此抑制 α-GLU 的活性，能达到降低血糖的目的[10]。长期服用这类药物可能存在一定的安全隐患，如腹胀、腹泻和腹部疼痛等副作用[11]，甚至会导致肝脏[12] 和肾脏[13] 的损伤。因此，开发出安全、有效、低副作用、易代谢的天然 α-GLU 抑制肽，已成为目前改善和治疗 T2DM 研究的热点问题。

目前，研究人员已在动植物源中发现了多种具有降血糖的天然物质，如皂苷[14]、多糖[15]、多酚[16]、活性多肽[17]、黄酮类[18] 等。其中活性肽因制备简便、副作用小、来源广、易消化吸收等特点而备受关注[19]。目前已从鱼类[20]、虾类[21] 等中获得了多种食源性降血糖多肽，其中通过抑制 α-GLU 来降低血糖的活性肽是其中一大类，这类 α-GLU 抑制肽分子量多集中于 500~3000 Da 之间，且活性中心多富含疏水性氨基酸(如亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、脯氨酸)。带鱼是我国沿海重要的经济鱼种[22]，根据《2024 年中国渔业统计年鉴》显示，2023 年带鱼捕捞量为 91.03 万吨，占鱼类总捕捞量的 9.51%[23]。带鱼主要被加工成鱼糜或罐头制品，而在加工过程中会产生占带鱼重量约 40%~50% 的鱼骨、鱼头、鱼内脏等下脚料[24-25]，其中含有丰富的蛋白质资源，是制备生物活性多肽的优良原料[26-27]。目前，已利用带鱼或下脚料制备了抗菌肽[26]、抗氧化肽[28]、抗抑郁活性肽[27] 等多种生物活性多肽，但关于利用带鱼下脚料制备降血糖肽的相关研究还未见报道。

本文以带鱼下脚料为原料，α-GLU 抑制率为响应值，通过响应面法优化制备 α-GLU 抑制肽的制备工艺，并进一步分析制备肽粉的酸碱、光热、金属离子和模拟胃肠道消化环境下的稳定性。本研究旨在为带鱼下脚料的高值化利用提供途径，并为改善和治疗 T2DM 降血糖肽的开发提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

带鱼下脚料包含其内脏、加工碎肉、鱼骨等　浙江兴业集团有限公司提供，于−80 ℃ 冻藏；抑肽酶(6511 Da)、α-GLU(773 Da)、细胞色素 C(12355 Da)、杆菌肽(1422 Da)、乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸(451 Da)、甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(189 Da)、胃蛋白酶(2.5×10^5 U/g)　北京索莱宝科技有限公司；碱性蛋白酶(2×10^5 U/g)、菠萝蛋白酶(1.2×10^6 U/g)、酸性蛋白酶(5×10^4 U/g)、风味蛋白酶(3×10^4 U/g)、中性蛋白酶(2×10^5 U/g)、木瓜蛋白酶(6×10^5 U/g)　南宁东恒华道生物科技有限公司；十二水磷酸氢二钠、乙醇、氢氧化钠、乙腈(色谱级)、盐酸、二水磷酸二氢钠、三氟乙酸、甲醇(色谱级)　国药集团化学试剂有限公司；4-硝基苯基-α-D-吡喃半乳糖苷(pNPG)　上海阿拉丁生化科技股份有限公司；其他化学品均为分析纯。

HH-1 恒温水浴锅　常州国华电器有限公司；TGL-21M 高速冷冻离心机　上海卢湘仪离心机仪器有限公司；SHZ-B 恒温水浴振荡器　上海博迅医疗生物仪器股份有限公司；SHB-III 循环水式多用真空泵、PHS-3C 酸度计　上海仪电科学仪器股份有限公司；L550 大容量离心机　湖南湘仪实验室仪器开发有限公司；SCIENTZ-12N 冷冻干燥机　宁波新芝生物科技股份有限公司；SpectraMax Gemini XPS 多功能酶标仪　帝肯(上海)实验室设备有限公司；DS-1 高速组织捣碎机　上海标本模型厂；Agilent LC1260 Ⅱ 高效液相色谱仪　美国安捷伦科技有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　带鱼下脚料酶解肽制备　带鱼下脚料绞肉机绞碎，与 95% 的乙醇按 1∶5(w∶v)脱脂 4 h 后，抽滤并收集沉淀得到脱脂带鱼下脚料，待乙醇挥发后置于−20 ℃ 冰箱备用。取上述样品与去离子水按 1∶4(w/v)混合均匀，1 mol/L NaOH 和 1 mol/L HCl 调节至蛋白酶最适 pH，加入蛋白酶，于水浴振荡器中酶解。酶解一定时间后，将酶解液移至 95 ℃ 水浴锅中，保持 15 min 灭酶，冷却至室温；4 ℃ 下 9000 r/min 离心 15 min，收集上清液于−20 ℃ 储存，备用。

1.2.2 α-葡萄糖苷酶抑制率的测定 α-GLU 抑制活性采用郑克炜[19]的方法测定，依次取 0.5 mL 样品溶液，2 mL PBS 缓冲液（0.2 mol/L，pH6.8、$Na_2HPO_4\cdot 12H_2O$ 和 $NaH_2PO_4\cdot 2H_2O$）和 0.3 mL α-GLU 溶液（0.2 U/mL）于离心管中混匀，37 ℃ 水浴孵化 15 min；继续向离心管中迅速加入 0.4 mL pNPG（1 mg/mL），37 ℃ 反应 15 min 后，立即加入 0.8 mL Na_2CO_3 溶液（1 mol/L）终止反应。取 200 μL 待测样品于 96 孔板中，酶标仪 405 nm 处测定吸光度，通过以下公式计算 α-GLU 的抑制活性。

$$\alpha\text{-GLU抑制率}(\%)=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_3-A_4}\right)\times 100$$

式中：A_1 表示酶溶液+样品+缓冲液混合物吸光度；A_2 表示样品+缓冲液混合物吸光度；A_3 表示酶+缓冲液混合物吸光度；A_4 表示缓冲液吸光度。

1.2.3 最适蛋白酶筛选 以脱脂带鱼下脚料为底物，选用酸性蛋白酶、碱性蛋白酶、中性蛋白酶、风味蛋白酶、木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶，按照表 1 的酶解参数进行酶解，加酶量 7×10^3 U/g，料液比 1∶4（w/v），酶解时间 5 h。选择 α-GLU 抑制率作为响应指标，筛选最适蛋白酶。

表 1 蛋白酶筛选参数

Table 1 Protease screening parameters

酶种类	酶活（U/g）	pH	酶解温度（℃）
酸性蛋白酶	5.0×10^4	3	50
碱性蛋白酶	2.0×10^5	10	50
中性蛋白酶	2.0×10^5	7	50
风味蛋白酶	3.0×10^4	7	50
木瓜蛋白酶	6.0×10^5	7	50
菠萝蛋白酶	1.2×10^6	7	50

1.2.4 单因素实验 以筛选的风味蛋白酶为酶种，α-GLU 抑制率为响应指标，以酶添加量 7×10^3 U/g、酶解时间 5 h、酶解温度 50 ℃、pH7 为基本条件，依次考察酶添加量（4×10^3、5×10^3、6×10^3、7×10^3、8×10^3、9×10^3、1×10^4 U/g）、pH（4、5、6、7、8、9、10）、酶解温度（35、40、45、50、55、60、65 ℃）、酶解时间（2、3、4、5、6、7、8 h）4 个因素的酶解液对 α-GLU 抑制率的影响。

1.2.5 响应面试验优化酶解条件 响应面法优化带鱼降血糖肽最佳制备工艺，以 α-GLU 抑制率（Y）为响应值，基于单因素实验结果，选取 pH（A）、酶添加量（B）、酶解时间（C）和酶解温度（D）为变量，利用 Design-Expert 13 软件，设计四因素三水平的 Box-Behnken 组合试验并进行工艺优化，因素编码见表 2。在最佳条件下制备的带鱼下脚料酶解肽命名为 IPHW（Inhibitory peptide from hairtail waste，IPHW）。

表 2 Box-Behnken 因素水平

Table 2 Factors and levels of the Box-Behnken design

水平	因素			
	A: pH	B: 酶添加量（U/g）	C: 酶解时间（h）	D: 酶解温度（℃）
−1	7	8000	4	50
0	8	9000	5	55
1	9	10000	6	60

1.2.6 分子量分布测定 参考课题组已有方法 [21]，采用 HPLC 测定 IPHW 的分子量分布；IPHW 溶于流动相（乙腈-水-三氟乙酸=40∶60∶0.05），经 0.22 μm 滤膜过滤后进样测定；色谱条件：色谱柱 TSKgel G2000 SWXL（7.8 mm×300 mm），进样体积 10 μL，流速 0.5 mL/min，柱温 30 ℃，紫外检测波长 220 nm，运行时间 30 min。以细胞色素 C（12355 Da）、抑肽酶（6511 Da）、杆菌肽（1422 Da）、乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸（451 Da）和甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸（189 Da）为标准品构建标准曲线并分析 IPHW 组分分子量分布。

1.2.7 温度稳定性 参考 Hwang 等[29]的方法，并稍加修改。配制 80 mg/mL 的 IPHW 溶液，分别取 10 mL 样品溶液，在−20、4、20、40、60、80、100 ℃ 下保温 2 h 后恢复至室温，测定各样品 α-GLU 抑制率，以室温静置、未经温度处理的同浓度 IPHW 溶液作为对照组。

1.2.8 酸碱稳定性 参考 Cai 等[30]的方法，并稍加修改。配制 80 mg/mL 的 IPHW 溶液，分别取 10 mL 样品，调节 pH 为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0，室温静置 2 h 后，再将 pH 调为 8.0，测定各样品 α-GLU 抑制活性，以未经 pH 调节、室温静置相同时长的同浓度 IPHW 溶液作为对照组。

1.2.9 光照稳定性 参考王子俊等[31]的方法，并稍加修改。配制 80 mg/mL 的 IPHW 溶液，分别取 20 mL 样品溶液，置于不同光照环境下 30 min（紫外光、黑暗、日光灯），以自然光下的样品作对照组，测定各样品 α-GLU 抑制率，来评估 IPHW 的光照稳定性。

1.2.10 金属离子稳定性 参考 Cai 等[30]的方法，并稍加修改。配制 80 mg/mL 的 IPHW 溶液，取 20 mL 样品溶液，分别添加等体积 1 mg/mL 的 NaCl、$MgCl_2$、$AlCl_3$、KCl、$CaCl_2$ 和 $ZnCl_2$ 溶液，25 ℃ 静置 1 h 后，测定不同金属离子处理对 IPHW 的 α-GLU 抑制率的影响，设置添加等体积去离子水的同浓度 IPHW 溶液为对照组，

1.2.11 胃肠道消化稳定性 参考文献 [32−33] 报道的方法并稍加修改。配制 80 mg/mL 的 IPHW 溶液，取 100 mL 调节 pH 至 2.0，添加 4.0%（w/v）的胃蛋白酶并在 37 ℃ 水浴振荡器中振荡 1.5 h，结束后将一部分样品 95 ℃ 水浴加热 15 min 灭酶，为胃消化样品；另外一部分样品则调节 pH 至 7.5，加入 4.0%（w/v）的胰蛋白酶于 37 ℃ 水浴振荡器中消化 2 h，95 ℃ 水浴灭酶，为胃肠消化样品。分别测 IPHW 样品、胃消化样品、胃肠消化样品的 α-GLU 抑制率。

1.3 数据处理

实验进行 3 次平行，结果表示为均值±标准差。Excel 2021 对数据进行预处理，采用 IBM SPSS 27 进行数据分析，$P<0.05$ 表示有显著性差异，$P<0.01$ 表示有极显著差异。采用 Design Expert 13 软件进行 Box-Behnken 设计与结果分析。使用 Origin 2024b 软件作图。

2 结果与分析

2.1 蛋白酶筛选

多肽的活性与其氨基酸组成和序列相关[34]，不同蛋白酶具有不同的酶切位点和特异性，蛋白水解液会随不同蛋白酶而表现出不同的生物活性，因此活性肽的制备过程中酶的选择至关重要[21]。6 种商业蛋白酶制备的酶解液 α-GLU 抑制率如图 1 所示。结果表明，风味蛋白酶和酸性蛋白酶制备的酶解液具有最高的 α-GLU 抑制效果，抑制率分别为 35.98%±1.43% 和 36.15%±1.55%，菠萝蛋白酶和木瓜蛋白酶的抑制效果最低，抑制率分别为 1.25%±0.57% 和 2.05%±0.68%。风味蛋白酶具有内切与外切两种活性，内切活性能够切断蛋白内部的肽键，从而形成短链肽，外切活性则能够从多肽链的末端（N 端或 C 端）释放一个疏水性氨基酸，从而进一步缩短了肽链[35]。因此，风味蛋白酶能够酶解释放更多种类的小分子肽段。研究表明，小分子肽段可能拥有更高的 α-GLU 抑制率，且小分子肽段更容易与 α-GLU 活性位点相结合[36]。同时，风味蛋白酶相较于酸性蛋白酶反应条件更温和、成本更低。因此选择风味蛋白酶为最适蛋白酶，并进行下一步实验。

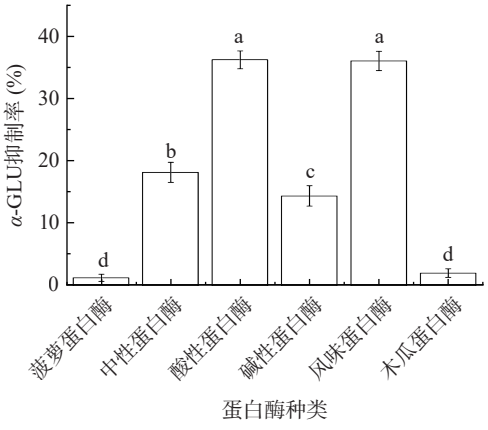


图 1　不同蛋白酶酶解产物对 α-GLU 抑制率的影响

Fig.1　Protease effects on α-glucosidase inhibition by protein hydrolysates

注：不同字母代表有显著性差异（$P<0.05$），图 2、图 5、图 6 同。

2.2 单因素实验

2.2.1　酶添加量对 α-GLU 抑制率的影响　酶添加量对 α-GLU 抑制率的影响如图 2A 所示。在加酶量 4×10^3~10×10^3 U/g 范围内，酶解液的 α-GLU 抑制率呈先上升后趋于平缓的趋势。当加酶量为 9×10^3 U/g 时，酶解液的 α-GLU 抑制率达到最高值，为 45.82%±0.48%。此后，随着加酶量的进一步增加，酶解速率趋于饱和，酶与底物充分反应，酶解液的 α-GLU 抑制率提升幅度减小。同时，过高的蛋白酶浓度下，一些具有 α-GLU 抑制作用的有效肽段可能被进一步酶解为分子量更小的肽段或游离氨基酸，从而失去了 α-GLU 抑制活性，导致蛋白质过度水解活性下降[37-38]。

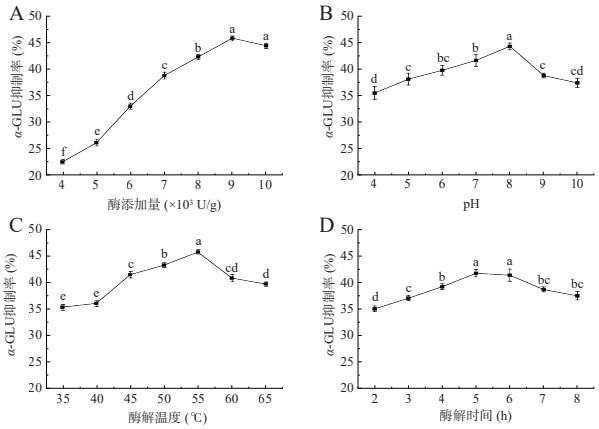


图 2　酶添加量（A）、pH（B）、酶解温度（C）和酶解时间（D）对 α-GLU 抑制率的影响

Fig.2　Effects of enzyme dosage (A), pH (B), enzymatic hydrolysis temperature (C), and enzymatic hydrolysis time (D) on the inhibition rate of α-GLU

2.2.2　pH 对 α-GLU 抑制率的影响　pH 对 α-GLU 抑制率的影响如图 2B 所示。在 pH 为 4~10 的范围内，酶解液的 α-GLU 抑制率呈现先升高后降低的变化趋势，并在 pH 为 8 时，酶解液的 α-GLU 抑制率最高，为 44.22%±0.64%，当 pH 继续升高时，抑制率下降。pH 是影响蛋白酶生物活性的重要原因之一，不同 pH 条件下蛋白质分子的电离状态不同。不适宜的 pH 可能破坏蛋白酶的特定空间结构，从而导致酶解效果下降[39]。同时，pH 会影响 α-GLU 抑制肽在溶液当中的状态，不适宜的 pH 会导致其结构破坏，疏水部分暴露，甚至产生聚沉现象，从而影响酶解液的 α-GLU 抑制作用[40]。

2.2.3　酶解温度对 α-GLU 抑制率的影响　图 2C 展示了酶解温度对带鱼下脚料酶解肽 α-GLU 抑制活性的影响。在 35~65 ℃ 范围内，酶解液的 α-GLU 抑制率呈现先升后降趋势。在 55 ℃ 时，抑制率达到峰值，为 45.73%±0.41%。温度是影响蛋白酶活性的重要因素之一，较低温度下蛋白质和酶分子的动能不足，酶-底物复合物形成速率降低，导致生物活性肽产量偏低或活性较差；而温度过高则易引起不可逆变性，降低其催化活性，进而减少了具有 α-GLU 抑制作用的肽段的生成[34,38,41]。

2.2.4　酶解时间对 α-GLU 抑制率的影响　酶解时间对 α-GLU 抑制率的影响如图 2D 所示。在 2~8 h 的范围内，酶解液 α-GLU 的抑制率呈现上升、平缓、下

降的趋势并在 5 h 达到峰值, 为 41.68%±0.70%。适当延长酶解时间有利于酶与底物充分反应, 生成更多具有 α-GLU 抑制活性的肽段; 但酶解时间过长可能导致初期形成的活性肽段被破坏或进一步被酶解为氨基酸, α-GLU 抑制肽段的占比下降, 从而使酶解液中具有 α-GLU 抑制作用的有效肽段含量降低, 导致整体抑制活性降低[42,43]。

2.3 响应面优化试验

基于单因素结果, 在料液比 1∶4(w/v)条件下, 选择 pH(A)、酶添加量(B)、酶解时间(C)和酶解温度(D)作为实验自变量, α-GLU 的抑制率为响应值(Y), 进行后续响应面试验。采用 Design Expert 13 软件设计四因素三水平试验, 实验设计与结果如表 3 所示。

表 3 Box-Behnken 设计与结果

Table 3 Box-Behnken design and results

实验号	A: pH	B: 酶添加量(U/g)	C: 酶解时间(h)	D: 酶解温度(℃)	Y: α-GLU抑制率(%)
1	8	8000	5	50	55.0425
2	9	8000	5	55	56.5679
3	8	9000	4	50	57.1517
4	8	9000	5	55	63.6926
5	7	9000	4	55	59.8746
6	9	9000	5	60	60.0417
7	7	9000	5	60	60.4985
8	8	9000	6	60	61.0511
9	8	10000	4	55	61.2899
10	7	8000	5	55	57.648
11	8	9000	5	55	63.0891
12	9	9000	6	55	60.2151
13	8	9000	4	60	60.4132
14	9	9000	4	55	59.5001
15	8	9000	5	55	64.3425
16	8	8000	4	55	57.7261
17	8	9000	5	55	62.7497
18	7	10000	5	55	62.3886
19	8	10000	5	50	61.1774
20	8	8000	6	55	57.9438
21	9	9000	5	50	58.3154
22	8	9000	6	50	59.761
23	7	9000	5	50	58.8524
24	8	9000	5	55	63.9789
25	8	8000	5	60	57.7823
26	8	10000	6	55	63.6262
27	8	10000	5	60	61.5286
28	7	9000	6	55	60.9568
29	9	10000	5	55	62.1873

对响应面试验数据进行回归拟合分析处理, 得到二次多元回归方程:

$$Y=63.57-0.2826A+2.46B+0.6332C+0.9179D+0.2197AB-0.0918AC+0.0201AD+0.5296BC-0.5972BD-0.4928CD-1.80A^2-2.07B^2-1.49C^2-2.48D^2$$

由表 4 方差分析结果可知, 模型极显著($P<0.01$), 失拟项不显著($P>0.05$), 表明模型有较好的显著性且拟合度良好。决定系数 R^2 为 0.9832, 表明 98.32% 的响应值变化可以通过模型预测, 拟合程度较高, 修正后的决定系数 R^2_{adj} 为 0.9665, 进一步表明了模型的可靠性与稳定性。此外, 一次项 B、C、D, 二次项 A^2、B^2、C^2、D^2 均达到极显著水平($P<0.01$); 一次项 A, 二次项 BC、BD、CD 均达到显著差异($P<0.05$)。综合比较各因素的 F 值大小, A、B、C、D 对 IPHW 的 α-GLU 抑制率的影响程度为: 酶添加量(B)>酶解温度(D)>酶解时间(C)>pH(A)。

表 4 回归模型方差分析

Table 4 Analysis of variance for the regression model

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	159.90	14	11.42	58.64	<0.0001	**
A	0.9584	1	0.9584	4.92	0.0436	*
B	72.46	1	72.46	371.99	< 0.0001	**
C	4.81	1	4.81	24.70	0.0002	**
D	10.11	1	10.11	51.91	< 0.0001	**
AB	0.1930	1	0.1930	0.9911	0.3364	
AC	0.0337	1	0.0337	0.1730	0.6837	
AD	0.0016	1	0.0016	0.0083	0.9288	
BC	1.12	1	1.12	5.76	0.0309	*
BD	1.43	1	1.43	7.32	0.0171	*
CD	0.9715	1	0.9715	4.99	0.0424	*
A^2	21.03	1	21.03	107.99	<0.0001	**
B^2	27.74	1	27.74	142.42	<0.0001	**
C^2	14.46	1	14.46	74.22	<0.0001	**
D^2	39.88	1	39.88	204.75	<0.0001	**
残差	2.73	14	0.1948			
失拟项	1.04	10	0.1037	0.2454	0.9674	不显著
纯误差	1.69	4	0.4225			
总离差	162.62	28				
R^2	0.9832					
R^2_{adj}	0.9665					

注: *表示有显著差异($P<0.05$), **表示有极其显著差异($P<0.01$)。

各因素的交互作用对 IPHW 的 α-GLU 抑制率的影响如图 3 所示。响应面 3D 曲线坡度越陡峭, 等高线形成椭圆, 说明两因素之间的交互作用对 α-GLU 抑制率影响越显著[44-45]。酶添加量和 pH(AB)、酶解时间和 pH(AC)、酶解温度和 pH(AD)的响应曲面呈现缓坡态, 对响应值无显著影响($P>0.05$)。相反, 随着酶解时间和酶添加量(BC)、酶解温度和酶添加量(BD)和酶解温度和酶解时间(CD)的增加, α-GLU 抑制率先上升后缓慢下降, 表明 BC、BD、CD的交互作用对响应值影响显著($P<0.05$), 上述结果与表 4 一致。

根据响应面结果, 确定了风味蛋白酶酶解带鱼下脚料制备降血糖肽的最佳工艺参数为: 加酶量 9618.2 U/g, 酶解温度 55.4 ℃, 酶解时间 5.3 h, pH7.9, 预测 IPHW 的 α-GLU 抑制率为 64.5%。考虑实际操作, 将工艺参数调整为: 酶添加量 9620 U/g, 酶解温度 55 ℃, 酶解时间 5.3 h, pH8.0, 在此条件下进行 3 次平行试验, 得到 IPHW 对 α-GLU 抑制率为 64.8%±0.6%, 与模型预测值接近, 表明该模型可靠。综上, 表明优化后的风味蛋白酶酶解带鱼下脚料制备降血糖肽的工艺条件可应用于实际生产。

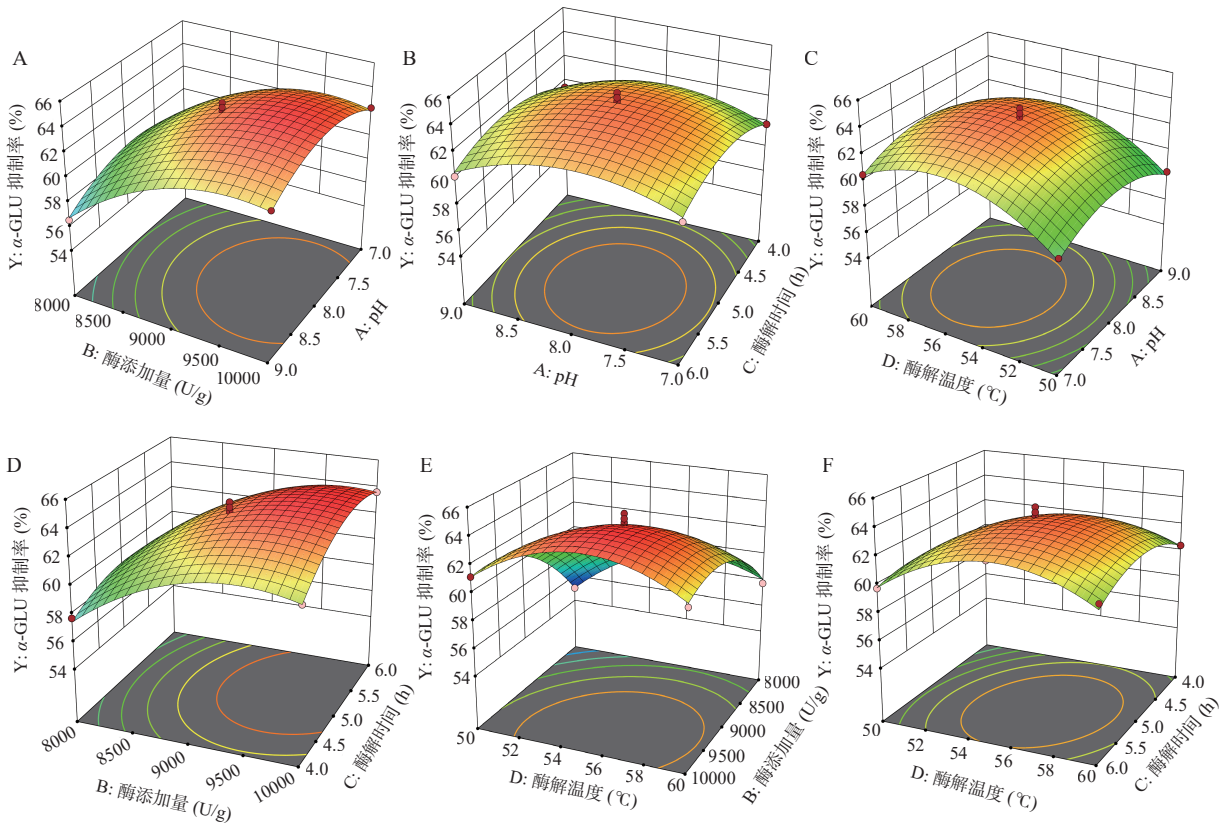


图 3　两因素交互作用对 IPHW 中 α-GLU 抑制率的影响

Fig.3　Effect of two-factor interaction on α-GLU inhibition rate in IPHW

2.4　分子量分布测定

根据样品组分分子体积大小的差别进行分离，以细胞色素 C（12355 Da）、抑肽酶（6511 Da）、杆菌肽（1422 Da）、乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸（451 Da）和甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸（189 Da）为标准品构建标准曲线，计算 IPHW 的分子量分布。图 4A 表明 IPHW 的洗脱时间在 13~28 min。经标准曲线线性方程计算，可知 IPHW 的分子量主要分布在 1000 Da 以下（图 4B），表明风味蛋白酶的特异性酶解作用能显著将带鱼下脚料中的大分子蛋白质分解成更小的活性肽。Zhou 等[46] 和 Wang 等[47] 的研究表明分子量小于 1 kDa 的小肽多具有更强的 α-GLU 抑制活性，因此本研究中由带鱼下脚料酶解制备的短肽具有成为 α-GLU 抑制肽的潜力。

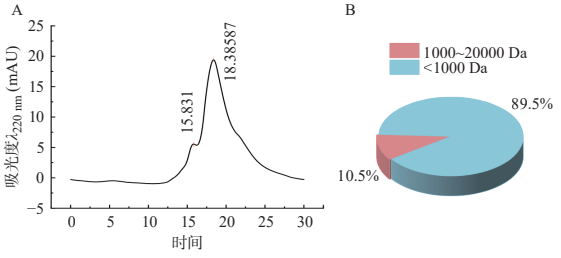


图 4　IPHW 洗脱色谱图（A）与分子量分布（B）

Fig.4　Elution chromatogram (A) and molecular weight distribution (B) of IPHW

2.5　IPHW 的体外稳定性

2.5.1　温度稳定性　温度对 IPHW 的 α-GLU 抑制率稳定性的影响如图 5A 所示。与对照组相比，在−20~60 ℃ 范围内，IPHW 的 α-GLU 抑制率无显著性变化（$P>0.05$），活性相对稳定。80 ℃ 条件下，IPHW 抑制率升高到 70.35%±1.07%（$P<0.01$），Cai 等[30] 研究发现适当高温下部分无活性肽段会形成活性中间体，从而提高 IPHW 活性，使其 α-GLU 抑制率升高[48]。在 100 ℃ 下 IPHW 的 α-GLU 抑制率相较于对照组下降 9.86%（$P<0.01$），高温的条件下 IPHW 多肽疏水部分暴露，易发生热凝聚现象，从而降低其生物

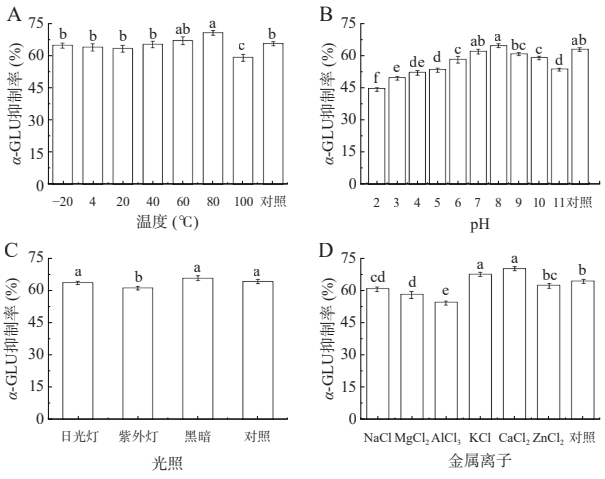


图 5　温度、pH、光照、金属离子对 IPHW 的 α-GLU 抑制率的影响

Fig.5　Effects of temperature, pH, light exposure, and metal ions on α-GLU inhibition by IPHW

活性[49], 但仍具有对照组 89% 以上的 α-GLU 抑制率。综上, 热处理后 IPHW 仍具有良好的活性, 表明制备的 IPHW 具有较好的热稳定性。

2.5.2 酸碱稳定性 pH 对 IPHW 的 α-GLU 抑制率稳定性的影响如图 5B 所示。pH 在 2~11 范围内, IPHW 的 α-GLU 抑制率呈现先上升后下降的趋势, 并在 pH 为 8 时, 其抑制率最高, 为 64.39%±0.87%, 与对照组无显著差异。酸性和强碱条件下 IPHW 的 α-GLU 抑制率均显著下降(P<0.05), 酸性和强碱性条件下, 多肽构象变化, 表面电荷改变, 导致多肽与 α-GLU 间的分子相互作用减弱, 从而导致 α-GLU 抑制率出现显著下降[39]。综上, IPHW 适宜贮藏在中性或弱碱性条件下。

2.5.3 光照稳定性 光照对 IPHW 的 α-GLU 抑制率稳定性的影响如图 5C 所示。日光和黑暗环境下 IPHW 的 α-GLU 抑制率与对照组无显著差异(P>0.05)。紫外灯照射对其抑制率有显著影响(P<0.05), 可能由于紫外环境下 IPHW 中部分活性肽发生光氧化, 肽的结构发生改变[50], 从而导致 IPHW 的 α-GLU 抑制率下降。综上, IPHW 应保存在无紫外光的环境中。

2.5.4 金属离子稳定性 Na^+、Mg^{2+}、Al^{3+}、K^+、Ca^{2+}、Zn^{2+}对 IPHW 的 α-GLU 抑制率的影响如图 5D 所示。结果表明, Na^+、Mg^{2+}、Al^{3+}均显著(P<0.05)降低了 IPHW 的 α-GLU 抑制率, 可能由于上述金属离子与肽链中的官能团作用, 改变了其构象或电荷分布, 从而削弱其与 α-GLU 的结合能力, 影响 IPHW 的生物活性[51]; K^+、Ca^{2+}均显著(P<0.05)提高 IPHW 的 α-GLU 抑制率, 可能由于多肽与 K^+、Ca^{2+}形成配合物, 使其构象更有利于其与 α-GLU 的结合[52]。综上, 在 IPHW 的保存过程中, 应尽量避免与含 Na^+、Mg^{2+}、Al^{3+}等金属离子接触, 以防其活性受损。

2.5.5 胃肠道消化稳定性 经模拟胃肠道消化后, IPHW 的 α-GLU 抑制率和分子量分布变化如图 6A 所示。结果表明, IPHW 经模拟胃消化后, α-GLU 抑制率提升了 2.08%(P<0.05), 可能由于部分大分子肽段被水解成具有更高活性的肽段[53]。然而, 经模拟胃肠消化后, IPHW 的 α-GLU 抑制率显著下降至 56.39%±1.02%(P<0.05), 部分活性肽段在胰蛋白酶等消化酶的持续水解作用下失活。分子量分布结果显示(图 6B), IPHW 中分子量小于 1000 Da 的肽段比例在模拟胃液消化后升至 93.69%, 模拟胃肠消化后进一步升至 95.80%。尽管小分子肽含量增加, 但活性下降表明并非所有小肽都具备 α-GLU 抑制作用, 部分关键肽段可能被过度水解而失活[54]。IPHW 在模拟胃肠道消化后仍保留了 85% 以上的相对抑制活性, 表明其具有良好的胃肠道消化稳定性, 具备潜在的体内应用前景。

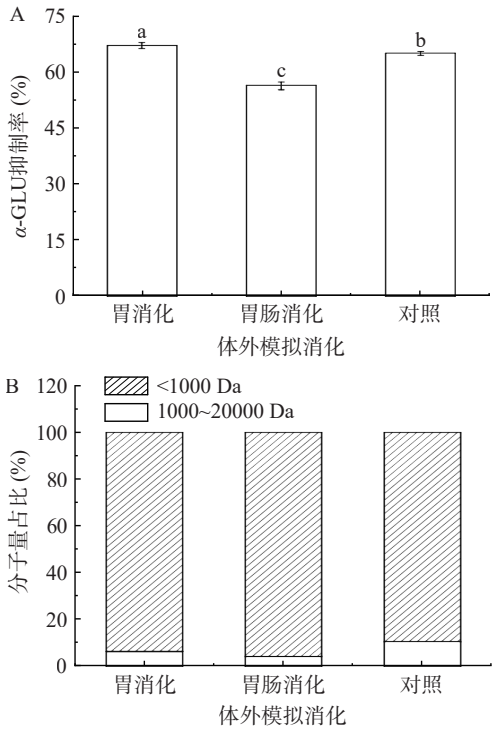


图 6 模拟胃肠道消化对 IPHW 的 α-GLU 抑制率(A)和分子量分布(B)的影响

Fig.6 Effects of simulated gastrointestinal digestion on α-GLU inhibition (A) and molecular weight distribution (B) of IPHW

3 结论

本文以带鱼下脚料为原料, 采用单因素实验结合响应面优化法, 优化了风味蛋白酶酶解带鱼下脚料制备降血糖肽的工艺条件, 并对冻干肽粉的体外稳定性进行了评价。结果表明, 风味蛋白酶为最适酶种, 酶解温度 55 ℃, pH8.0, 酶解时间 5.3 h, 加酶量 9620 U/g 为最佳酶解工艺条件, IPHW 的 α-GLU 抑制率为 64.8%±0.6%。分子量分布结果表明, IPHW 以低分子量肽段为主, 其中相对分子质量小于 1000 Da 的寡肽占比达 89.5%。稳定性分析表明, 酸性或强碱性条件均会导致 IPHW 的 α-GLU 抑制率下降; 在非高温、避紫外光且不含 Na^+、Mg^{2+}、Al^{3+}的环境中贮藏更有利于其活性保持。经胃肠道消化模拟后, IPHW 仍保持 85% 以上的 α-GLU 抑制活性, 表明其具有较好的胃肠道消化稳定性。研究结果为带鱼下脚料的高值化利用提供了新思路, 同时为 IPHW 的稳定性研究及其在功能食品或医药等领域中的潜在应用奠定了理论基础。后续研究可进一步对 IPHW 进行纯化分离、蛋白质印迹分析及分子对接, 筛选具有显著 α-GLU 抑制活性的肽序列, 明确其构效关系与分子作用机制, 并通过动物或细胞实验验证其安全性与功能活性。

© 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] YUAN Liyang, ZHAO Juan, LIU Yanjun, et al. Multiomics analysis revealed the mechanism of the anti-diabetic effect of Salecan[J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 327: 121694.

[2] CHANG Ranran, LIU Jie, JI Fangfei, et al. Hypoglycemic effect of recrystallized resistant starch on high-fat diet- and streptozotocin-induced type 2 diabetic mice via gut microbiota modulation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 261: 129812.

[3] VALENCIA-MEJÍA E, BATISTA K A, FERNÁNDEZ J J A, et al. Antihyperglycemic and hypoglycemic activity of naturally occurring peptides and protein hydrolysates from easy-to-cook and hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris* L.)[J]. Food Research International, 2019, 121: 238−246.

[4] DU Junhui, YANG Dongmei, GUAN Tongtong, et al. Activity and mechanism of *α*-glucosidase inhibitory peptides released from *Osmanthus fragrans* seeds protein during the *in vitro* digestion[J]. Industrial Crops and Products, 2024, 219: 119089.

[5] XIA Ting, ZHANG Zhujun, ZHAO Yuxuan, et al. The anti-diabetic activity of polyphenols-rich vinegar extract in mice *via* regulating gut microbiota and liver inflammation[J]. Food Chemistry, 2022, 393: 133443.

[6] ZHOU Wangting, YANG Tingting, XU Weiqi, et al. The polysaccharides from the fruits of *Lycium barbarum* L. confer anti-diabetic effect by regulating gut microbiota and intestinal barrier[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 291: 119626.

[7] International Diabetes Federation. Diabetes atlas 2025 [EB/OL]. 2024 [2025-07-09]. https://diabetesatlas.org/resources/idf-diabetes-atlas-2025/.

[8] CISNEROS-YUPANQUI M, LANTE A, MIHAYLOVA D, et al. The *α*-amylase and *α*-glucosidase inhibition capacity of grape pomace: A review[J]. Food and Bioprocess Technology, 2023, 16(4): 691−703.

[9] ZHU Hua, ZHONG Xin. Honokiol as an *α*-glucosidase inhibitor[J]. Frontiers in Pharmacology, 2024, 15: 1425832.

[10] LU Han, XIE Tiantian, WU Qi, et al. Alpha-glucosidase inhibitory peptides: Sources, preparations, identifications, and action mechanisms[J]. Nutrients, 2023, 15(19): 4267.

[11] MOHAMMADI-KHANAPOSHTANI M, SAYAHI M H, YAZZAF R, et al. *α*-Glucosidase inhibition assay of galbanic acid and it amide derivatives: New excellent semi-synthetic *α*-glucosidase inhibitors[J]. Bioorganic Chemistry, 2024, 150: 107580.

[12] HAO Yang, GUO Tao, REN Jinqi, et al. Characterization of a thermostable, protease-tolerant inhibitor of *α*-glycosidase from carrot: A potential oral additive for treatment of diabetes[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 209: 1271−1279.

[13] XUE Hongkun, HAO Zitong, GAO Yuchao, et al. Research progress on the hypoglycemic activity and mechanisms of natural polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 252: 126199.

[14] WANG Heyu, TONG Yu, WANG Anqi, et al. Evaluation and screening of hypoglycemic activity of total ginsenosides GBE-5 fraction from *Panax ginseng* berry based on UHPLC-MS metabolomics[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 865077.

[15] WANG Shuang, LU Aoxue, ZHANG Lu, et al. Extraction and purification of pumpkin polysaccharides and their hypoglycemic effect[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 98: 182−187.

[16] DE SOUSA GOMES J H, MBIAKOP U C, OLIVEIRA R L, et al. Polyphenol-rich extract and fractions of *Terminalia* phaeocarpa Eichler possess hypoglycemic effect, reduce the release of cytokines, and inhibit lipase, *α*-glucosidase, and *α*-amilase enzymes [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 271: 113847.

[17] GUO Chunqiu, LING Na, TIAN Haiyan, et al. Comprehensive review of extraction, purification, structural characteristics, pharmacological activities, structure-activity relationship and application of seabuckthorn protein and peptides[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 294: 139447.

[18] WANG Yanbin, ZHANG Yalan, CHENG Junwen, et al. Efficient purification of flavonoids from bamboo shoot residues of *Phyllostachys edulis* by macroporous resin and their hypoglycemic activity[J]. Food Chemistry, 2022, 16: 100505.

[19] 郑克炜. 脱脂南极磷虾粉酶解肽制备、鉴定及降血糖活性研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2024. [ZHENG Kewei. Preparation, identification and hypoglycemic activity of enzymolysis peptides from defatted Antarctic krill powder[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2024.]

[20] 牟黠, 冯庆祥, 胡杨, 等. 鱼糜漂洗水回收蛋白肽的酶法制备工艺优化及体外抗氧化与降血糖活性评价[J]. 现代食品科技, 2025, 41(8): 61−71. [MOU Xia, FENG Qingxiang, HU Yang, et al. Peptides recovered from surimi rinsing wastewater: Optimization of enzymatic preparation process and assessment of *in vitro* antioxidant and hypoglycemic activities[J]. Modern Food Science & Technology, 2025, 41(8): 61−71.]

[21] ZHENG Kewei, WU Yuanyuan, DAI Qingfei, et al. Extraction, identification, and molecular mechanisms of *α*-glucosidase inhibitory peptides from defatted Antarctic krill (*Euphausia superba*) powder hydrolysates[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 266: 131126.

[22] 常雨晴. 带鱼多肽制备及美拉德反应对其性质影响研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2023. [CHANG Yuqing. Study on the preparation of belt fish polypeptide and the effect of Maillard reaction on its activity[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2023.]

[23] 农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2024: 38−39. [Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. China fishery statistical yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2024: 38−39.]

[24] 陈佳琪. 带鱼副产物糖蛋白的制备、结构表征及抗疲劳活性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2023. [CHEN Jiaqi. Preparation, structural characterization and anti-fatigue activity of glycoprotein from by-products of hairtail[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2023.]

[25] 许钲, 位正鹏, 霍健聪, 等. 带鱼副产物鱼粉对酱醪品质的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(1): 177−182. [XU Zheng, WEI Zhengpeng, HUO Jiancong, et al. Effects of fishmeal from hairtail by-product on the quality of soy sauce koji[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(1): 177−182.]

[26] 郑霖波. 低值带鱼蛋白肽保鲜剂的制备及理化性质研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2021. [ZHENG Linbo. Preparation and physicochemical properties of low-value hairtail protein peptide preservative[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2021.]

[27] 杨小雪. 带鱼多肽的 MAO-A 抑制活性及其抗抑郁症机理的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021. [YANG Xiaoxue. Study on the MAO-A inhibitory activity of Hairtail peptides and their antidepressant mechanism[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2021.]

[28] 王培鑫. 带鱼鱼肉多肽的制备及其抗氧化、抗疲劳功能特性的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2020. [WANG Peixin. Study on the preparation of hairtail meat peptides and its antioxidant and anti-fatigue properties[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry

University, 2020.]
[29] HWANG J S. Impact of processing on stability of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides obtained from tuna cooking juice[J]. Food Research International, 2010, 43(3): 902−906.
[30] CAI Lei, WU Shengwen, JIA Chenggang, et al. Active peptides with hypoglycemic effect obtained from hemp (*Cannabis sativa* L) protein through identification, molecular docking, and virtual screening[J]. Food Chemistry, 2023, 429: 136912.
[31] 王子俊, 徐鹏飞, 朱天晴, 等. 牦牛骨胶原蛋白肽的抗氧化活性验证、稳定性评估及机制分析[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(19): 126−134. [WANG Zijun, XU Pengfei, ZHU Tianqing, et al. Verification of antioxidant activity, stability evaluation, and mechanism analysis of yak bone collagen peptide[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(19): 126−134.]
[32] HU Haohan, LI Jianfei, CHEN Feng, et al. Isolation and characterization of DPP-IV inhibitory peptide from rabbit meat hydrolysate: Mechanism, gastrointestinal resistance, and hypoglycemic effects of Leucyl-Leucine (LL)[J]. Food Bioscience, 2024, 61: 104592.
[33] WU Weijing, QIU Ju, WANG Libo, et al. Identification and characterization of two novel dipeptidyl peptidase-IV inhibitory peptides from the simulated gastrointestinal digestion of Tartary buckwheat proteins[J]. Food Chemistry, 2025, 473: 143067.
[34] BUI P T, PHAM K T, VO T D L. Earthworm (*Perionyx excavatus*) protein hydrolysate: Hypoglycemic activity and its stability for the hydrolysate and its peptide fractions[J]. Processes, 2023, 11(8): 2490.
[35] DE MATOS F M, DE LACERDA J T J G, ZANETTI G, et al. Production of black cricket protein hydrolysates with *α*-amylase, *α*-glucosidase and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities using a mixture of proteases[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2022, 39: 102276.
[36] 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.
[37] 陶瑾, 张莉方, 徐宁莉, 等. 青稞蛋白降血糖肽的纯化、结构鉴定及体外降血糖和抗氧化活性[J]. 中国粮油学报, 2023, 38(11): 92−99. [TAO Jin, ZHANG Lifang, XU Ningli, et al. Purification and structural identification of hypoglycemic peptide from highland barley protein and hypoglycemic and antioxidant activity *in vitro*[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2023, 38(11): 92−99.]
[38] 薛加雯, 王鹏, 骆晓慧, 等. 响应面法优化香椿降血糖肽制备工艺[J]. 中国粮油学报, 2023, 38(7): 148−154. [XUE Jiawen, WANG Peng, LUO Xiaohui, et al. Optimized preparation of hypoglycemic peptides from *Torreya grandis* using response surface methodology[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2023, 38(7): 148−154.]
[39] ASHAOLU T J, LE T D, SUTTIKHANA I. Stability and bioactivity of peptides in food matrices based on processing conditions[J]. Food Research International, 2023, 168: 112786.
[40] 江明珠. 超声波预处理辅助酶解制备大豆降糖肽及其作用机理[D]. 镇江: 江苏大学, 2018. [JIANG Mingzhu. Preparation and hypoglycemic mechanism of soybean peptides by ultrasonic pretreatment with enzymatic hydrolysis[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2018.]
[41] 李艳敏, 郝书怀, 仝艳军, 等. 裙带菜 *α*-葡萄糖苷酶抑制活性肽的制备[J]. 食品工业科技, 2020, 41(20): 127−134. [LI Yanmin, YU Shuhuai, TONG Yanjun, et al. Preparation of *α*-glucosidase inhibitory peptides derived from sea mustard[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(20): 127−134.]
[42] 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.
[43] 李振威, 马文越, 刘姝, 等. 超声辅助酶法制备南极磷虾降血糖肽的工艺优化及其肽段鉴定[J]. 广东海洋大学学报, 2025, 45(4): 116−126. [LI Zhenwei, MA Wenyue, LIU Shu, et al. Optimization of ultrasound-assisted enzymatic preparation of hypoglycemic peptides from Antarctic krill and peptide identification[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2025, 45(4): 116−126.]
[44] 姜涵, 张武, 何璐瑶, 等. 鲣鱼降尿酸肽酶解物的制备、分析及稳定性研究[J]. 中国食品学报, 2024, 24(10): 258−270. [JIANG Han, ZHANG Wu, HE Luyao, et al. Preparation, analysis and the stability of the enzymatic hydrolysate of hypouricemic peptide from *Katsuwonus pelamis*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(10): 258−270.]
[45] 郎蒙. 脱脂南极磷虾粉降血糖肽的酶解制备及活性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2021. [LANG Meng. Enzymatic preparation and activity study of dipeptidyl peptidase Ⅳ inhibitory peptides derived from defatted Antarctic krill powder[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2021.]
[46] ZHOU Haochun, SAFDAR B, LI He, et al. Identification of a novel *α*-amylase inhibitory activity peptide from quinoa protein hydrolysate[J]. Food Chemistry, 2023, 403: 134434.
[47] WANG Xiang, DENG Yejun, XIE Pujun, et al. Novel bioactive peptides from *Ginkgo biloba* seed protein and evaluation of their *α*-glucosidase inhibition activity[J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134481.
[48] SHAKOOR A, ZHANG Chenping, XIE Jianchun, et al. Maillard reaction chemistry in formation of critical intermediates and flavour compounds and their antioxidant properties[J]. Food Chemistry, 2022, 393: 133416.
[49] ARIHARA K, YOKOYAMA I, OHATA M. Bioactivities generated from meat proteins by enzymatic hydrolysis and the Maillard reaction[J]. Meat Science, 2021, 180: 108561.
[50] CHEN Huimin, CHEN Xu, CHEN Xuan, et al. New perspectives on fabrication of peptide-based nanomaterials in food industry: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 129: 49−60.
[51] MU Ying, MAIMAITIYIMING R, HONG Jingyang, et al. Study on fermentation preparation, stability, and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of tomato pomace peptide[J]. Foods, 2025, 14(2): 145.
[52] ZHANG Mingyi, HOU Yinchen, LIAO Aimei, et al. Preparation of wheat protein peptides-calcium chelate by the ultrasound method: Structural characteristics and bioactivity[J]. Food Bioscience, 2024, 61: 104848.
[53] ESCUDERO E, MORA L, TOLDRÁ F. Stability of ACE inhibitory ham peptides against heat treatment and *in vitro* digestion[J]. Food Chemistry, 2014, 161: 305−311.
[54] LI Yiyan, FAN Yaozhu, LIU Jinglei, et al. Identification, characterization and *in vitro* activity of hypoglycemic peptides in whey hydrolysates from rubing cheese by-product[J]. Food Research International, 2023, 164: 112382.