

海洋生物活性肽的研究进展

林端权, 郭泽滨, 张 怡, 傅维擎, 郑宝东*

(福建农林大学食品科学学院, 福建福州 350002)

摘要:海洋生物活性肽具有功能多样、来源广泛、特异性强、毒副作用小等优点, 已经成为当今食品界的研究热点。目前, 国内外对海洋生物活性肽进行了大量研究, 本文从来源与制备(包括直接提取与可控酶解等)和功能(包括抗疲劳、抗肿瘤、抗氧化、抗高血压等)两个角度, 对近几年的研究成果进行综述。最后, 从目前研究中存在的问题出发作出展望。

关键词:海洋生物活性肽, 来源, 制备, 功能

Research progress on the marine bioactive peptides

LIN Duan-quan, GUO Ze-bin, ZHANG Yi, FU Wei-qing, ZHENG Bao-dong*

(College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Marine bioactive peptides have become a hot research topic in food industry, because they have many advantages, such as functional diversity, extensive sources, strong specificity, small poisonous side effects, etc. At present, a lot of researches on marine bioactive peptides are carried out both at home and abroad. This paper summarized the results of the research in recent years from two angles including sources (e.g. direct extraction and controllable enzymatic hydrolysis) and functions (e.g. anti-fatigue, anti-tumor, anti-oxidant, anti-hypertension, etc). Finally, the prospect based on the problems of the present researches was made.

Key words: marine bioactive peptides; source; preparation; function

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)18-0367-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.18.062

肽(peptides)是由20种天然氨基酸以不同组成和排列方式构成的,从二肽到复杂的线性或环形结构的多肽的总称。它是分子结构介于氨基酸和蛋白质之间的一类化合物。每一种肽都具有独特的组成结构,不同的组成结构决定了其功能;其中可调节生物体生理功能的肽称为功能肽或生物活性肽,如抗菌肽、抗疲劳肽、抗肿瘤肽、抗氧化肽、降血压肽、免疫调节肽、抗炎性肽等^[1-5]。近100多年来,从肽转运可能性的提出到双甘肽跨膜转运现象的发现再到寡肽吸收机制的证实,研究者们最终明确了蛋白质能以肽的形式被人体吸收和利用,这极大地促进了生物活性肽和肽营养学的发展^[6]。到目前为止,共发现了约1200多种的生物活性肽^[7]。

地球的海洋面积约占全球总面积的71%,海洋的总体积约为13.7亿立方公里,在这浩瀚的空间中蕴藏着巨大的生物资源。海洋生物资源按种类分,包括鱼类资源、软体动物类资源、甲壳类动物资源、哺乳类动物资源、植物类(以海藻为主)资源和微生物类资源。根据联合国粮农组织最新的每两年一次的粮食展望报告,全球海洋浮游生物的年产量(鲜

重)为5000亿吨,2015年的鱼品总产量预计将达1.686亿吨,在不破坏生态平衡的情况下,海洋每年可向人类提供300亿人食用的水产品,然而2013年世界捕捞水产品的年产量仅为9280万吨左右,这是一座极其诱人的人类未来食品库。海洋生物长期生活在一个高盐闭锁的特殊环境中,有些生物甚至还生存在高压、高温或者低温等极端条件下,使得海洋生物在漫长的进化过程中形成了结构新颖、功能独特的生物活性物质。海洋所具有的生物种类的多样性、生物资源的丰富性和活性物质的特殊性促使越来越多的学者研究开发海洋生物活性物质,已分离鉴定的海洋生理活性物质主要为肽类、生物碱类、萜类、大环聚酯类、聚醚类、多糖类、多烯类不饱和脂肪酸等化合物^[8]。因此,相比于陆地生物活性肽,海洋生物活性肽具有来源更加广泛、结构更加新颖、功能更加独特等优势,是极具发展前景的功能因子;利用海洋资源开发生物活性肽也是当前国际食品界最热门的研究课题之一。

1 海洋生物活性肽的来源与制备

海洋生物活性肽的来源主要有两个:一是天然

收稿日期:2016-02-23

作者简介:林端权(1991-),男,硕士研究生,研究方向:食品营养与化学,E-mail:lduanquan11@163.com。

*通讯作者:郑宝东(1967-),男,博士,教授,研究方向:食品科学与工程,E-mail:zbdfst@163.com。

基金项目:福建农林大学高水平大学建设项目(612014043);福建省高等学校科技创新团队支持计划(闽教科[2012]03号)。

表1 常用蛋白酶的特性及适宜反应条件^[23]Table 1 The characteristic and suitable reaction conditions of common protease^[23]

蛋白酶名称	来源	适宜 pH	适宜温度(℃)	主要作用位点
胃蛋白酶	胃粘膜	1.5~3.0	35~65	Phe、Leu
胰蛋白酶	胰脏	7~9	35~45	Arg、Lys
木瓜蛋白酶	木瓜果实	5~9	40~80	Arg、Lys、Gly、Phe-X-
菠萝蛋白酶	菠萝果实	5~8	20~65	Lys、Ala、Tyr、Gly
碱性蛋白酶	枯草杆菌	6~10	55~70	Ala、Leu、Tyr、Phe
复合蛋白酶	枯草芽孢杆菌	5.5~7.5	35~60	无特异性
中性蛋白酶	Bacillus 芽孢杆菌	5.5~7.0	45~55	无特异性

存在于海洋生物体内的活性肽,主要包括肽类激素、组织肌肽、神经多肽等,此类活性肽被称为内源性海洋生物活性肽;二是通过水解海洋蛋白质资源所获得的具有各种生理功能的活性肽,此类活性肽被称为外源性海洋生物活性肽^[9]。

1.1 直接提取制备海洋生物活性肽

目前关于内源性海洋活性肽的研究主要集中于海鞘多肽^[10]、海葵毒素多肽^[11]、海藻多肽^[12]、芋螺多肽^[13]和鱼精蛋白^[14]等,这些生物活性多肽具有显著的抗肿瘤、抗菌、镇痛等活性。然而内源性海洋生物活性肽的制备方法主要是溶剂萃取法,在提取过程中使用了大量的有机溶剂(多为丙酮、乙醇等),因此会对环境造成污染并且存在有机溶剂残留给活性肽带来毒性的问题,例如程林友等^[10]在提取玻璃海鞘多肽的过程中在提取液里加入了三倍体积的丙酮溶剂用于沉淀多肽,李燕等^[15]先用3倍体积的5%硫酸溶液进行抽提之后又利用3倍体积的95%乙醇沉淀来制备鲑鱼鱼精蛋白;另外,由于内源性活性肽在生物体内含量很少,对下游技术(特别是分离纯化技术)要求苛刻并且要获得纯度较高的、足量的产物会造成极大的资源浪费,并不适合大规模工业化生产^[8],比如宋丽艳等^[16]对毛蚶抗肿瘤天然活性肽进行了研究,以PBS(pH8.0, 10 mmol/L)为溶媒,匀浆3 min后蛋白质得率仅为2.21%,可预见的是再经过分离纯化后其肽得率将很小,但是毛蚶经过蛋白酶酶解之后,蛋白质得率大幅度地提高了。由于直接提取内源性活性肽存在以上所述的缺陷,因此通过酶解法制备外源性海洋生物活性肽就成为人们关注的重点。

1.2 可控酶解制备海洋生物活性肽

外源性海洋生物活性肽的制备方法主要是可控酶解法,蛋白质的可控酶解是采用内切肽酶对蛋白质进行水解,并通过控制水解条件和水解度,以获得尽可能多的目标分子量分布的肽类产物。在营养蛋白的多肽链内部可能普遍存在着功能区,通过可控酶解技术,就有可能把蛋白质中所蕴藏的功能区肽片段释放出来,制备出具有各种各样生理活性的生物活性肽^[17]。可控酶解的优点包括:一是酶解条件比较温和,可以很好地保存酶解产物的营养价值,安全性极高,无任何对人体有害的副产物产生;二是可以通过控制水解条件实现可控酶解,增加目的肽段的产生,对于多肽工业化生产具有非常大的价值;三

是生物一般通过免疫系统识别自身蛋白与外来蛋白非功能区的差异来清除异己,酶解切除了蛋白中非功能区的肽段,可以有效地避免免疫排斥反应的困扰;四是可以利用一些海洋生物的下脚料生产生物活性肽,从而增加副产物的商业价值,提高资源利用率^[17-19]。

蛋白酶的选择是酶解法制备海洋生物活性肽的关键,每种蛋白酶都有特定的酶切位点,使用不同的蛋白酶酶解同种蛋白所产生的水解产物的理化和功能性质不尽相同^[20-22],表1列出了酶法制备海洋生物活性肽常用蛋白酶的特性及适宜反应条件^[23]。Jiang等^[24]对碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶和胰蛋白酶水解蓝圆鲷蛋白的特性进行了研究,结果发现这五种酶水解产物的DPPH自由基清除率和还原力差异不显著,但是 $O_2 \cdot^-$ 清除率存在显著性差异:中性蛋白酶(25.25%±1.58%)>碱性蛋白酶(23.06%±1.50%)>木瓜蛋白酶(20.78%±1.44%)>胰蛋白酶(18.85%±1.67%)>胃蛋白酶(7.57%±1.25%)。Chi等^[25]利用胰蛋白酶、中性蛋白酶、风味蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶和胃蛋白酶水解马面鱼鱼皮蛋白,结果表明碱性蛋白酶水解液的DPPH自由基清除率、羟基自由基清除率和超氧负离子清除率均大于其他五种酶。

1.3 超声波、微波辅助酶解制备海洋生物活性肽

虽然可控酶解法制备海洋生物活性肽具有条件温和、易于控制、安全性高、专一性强等优点,但是酶法提取常需要在酸、碱、有机溶剂等反应介质易使酶变性失活,因此酶解效率较低。近几年,研究者们将微波或者超声波等物理手段与酶解法相结合应用于海洋生物活性肽的制备,其作用原理主要是:采用微波辅助处理蛋白质,可使其结构变得更松散,暴露出更多的作用位点与酶结合,使酶解反应更快更有效地进行,最终使酶解度得以提高;超声波对酶解反应的影响主要是空化效应,即超声波可在体介质中形成微泡,其破裂伴随能量的释放,以此提高许多化学反应的速度,此法的优点主要是可以获得更加丰富的目标肽段,同时提高产物的生物活性。陈纯馨等^[26]将超声波技术应用到波纹巴非蛤多肽制备的酶解反应中,在辐照时间4 h、辐照温度55℃、超声功率140 W、固液比1:2(g/mL)的条件下,短肽产率为样品的5.15%,是无超声波作用下的短肽产率的1.1倍。康永峰等^[27]利用超声波-微波协同酶解鲑鱼胶

原蛋白制备鲑鱼抗氧化肽,其最佳条件为微波功率 500 W、超声功率 100 W、超声波-微波处理时间 9.7 min、超声波-微波处理温度 41 ℃,在此条件下,超氧阴离子自由基清除率可达到 67.2%,高于未经超声波-微波处理的酶解液(54%左右)。

2 海洋生物活性肽的功能

2.1 抗疲劳

疲劳是机体复杂的生理生化变化过程,是指脑力或体力到达一定阶段时必然出现的一种正常的生理现象;它既标志着机体原有工作能力的暂时下降,又可能是机体发展到疾病状态的先兆。在当代社会高速发展的背景下,人们的生存压力越来越大,因此研究与开发具有抗疲劳功效的产品具有重要而普遍的社会意义,抗疲劳肽也将成为抗疲劳研究领域的热点。海洋生物活性肽具有抗疲劳功能的原因可能有:

海洋生物活性肽能够作为能量来源,从而提高机体的抗疲劳能力。机体在运动过程中,需要不断消耗能量,以此来维持血糖含量的稳定、保证机体组织正常运作,海洋生物活性肽大多是小分子短肽,具有易吸收、利用率高等特点,是一种很好的能源物质,可以有效缓解运动机体的疲劳。因为抗疲劳肽在机体肌肉组织中会进行一系列的氧化脱氢反应为机体提供能量,所以在机体疲劳状态下可快速有效的补充氮源供机体利用,有利于疲劳的迅速消除^[28]。方富永^[29]和施佳慧等^[30]研究发现,翡翠贻贝肉与鲈鱼的酶解液能使小鼠的肝糖原含量显著提高,都具有较好的抗疲劳效果。

海洋生物活性肽能够及时清除体内的代谢废物,从而提高机体的抗疲劳能力。机体在剧烈运动时,因氧气、能量供应不足会使机体中的丙酮酸还原成血乳酸同时消耗蛋白质产生尿素氮。血乳酸会导致机体的 pH 下降,破坏内环境的稳态,而活性肽能够降低血乳酸和血尿素氮的含量,缓解机体的疲劳。徐恺等^[31]发现高剂量南极磷虾脱脂蛋白肽的血乳酸清除率明显高于对照组,具有抗疲劳能力。

海洋生物活性肽能够有效清除体内的自由基,增加机体的抗氧化能力,从而提高机体的抗疲劳能力。自由基的产生与积累会导致组织脂质过氧化作用加强,生物膜遭到破坏,线粒体受到攻击,使机体产生氧化性疲劳。已有的研究表明,活性肽的抗疲劳能力与抗氧化能力具有一定的相关性,活性肽能够清除或阻断自由基的链式生成,对组织细胞形成防护。王雪芹等^[28]对鲑鱼多肽的抗氧化活性与抗疲劳作用进行了研究,相比于对照组,小鼠在灌胃了各剂量组的鲑鱼多肽后,其体内的抗氧化物酶体系 SOD 和 GSH-Px 的活力分别提高 11%~15% 和 9%~13%,同时各剂量组中小鼠力竭游泳时间与 GSH-Px 的活力之间的相关系数达到 0.912,说明鲑鱼多肽的体内抗氧化活性与抗疲劳作用之间有很好的相关性。Ding 等^[32]的研究也同样说明海蜇胶原蛋白水解物既能提高小鼠的抗疲劳能力,同时相比于衰老模型组,也能提高实验组小鼠体内 SOD 和 GSH-Px 的

活力。

2.2 抗肿瘤

在抗肿瘤功能方面,海洋生物活性肽因其具有分子量小,易被人体吸收和渗透到组织中;与一般的药物相比对肿瘤细胞具有更强的亲和力与特异性;还有毒副作用小、治疗效果好、稳定性高等优点,近几年备受关注。

已有的研究表明:亲水性多肽(含有 Arg、Asp、His、Lys、Glu、Ser、Gln、Thr 等亲水性氨基酸)可通过静电吸引方式,特异性作用于肿瘤细胞,导致其细胞膜迅速破裂,细胞内容物渗漏,最终引起细胞死亡^[33]。S Umayaparvathi 等^[34]从牡蛎酶解液中分离出一个多肽:Leu-Ala-Asn-Ala-Lys(SCAP1, MW = 515.29 u)并对该多肽的抗肿瘤活性进行了研究,结果发现 SCAP1 对正常细胞无毒副作用,但能明显抑制克隆癌细胞(HT-29 cells)的生长,促进其细胞凋亡,增加其 DNA 损伤。Eun-Kyung Kim 等^[35]研究发现菲律宾蛤经胰凝乳蛋白酶酶解之后,其水解液对前列腺癌细胞具有较强的抑制作用(相比于其他七种酶);之后作者对多肽进行分离纯化并鉴定出了一个抗肿瘤多肽的氨基酸序列为:Ala-Val-Leu-Val-Asp-Lys-Gln-Cys-Pro-Asp,该多肽能有效地诱导前列腺癌细胞、乳腺癌细胞和肺癌细胞的凋亡,而对正常的肝细胞影响较小。此外,多肽的抗肿瘤活性还与其分子结构中的碱性氨基酸、肽链的 α -螺旋结构等密切相关^[36-38]。

2.3 抗氧化

机体在代谢过程中产生的自由基(如 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 等)极易造成细胞结构、核酸、脂质和蛋白质的氧化损伤,同时体内堆积过多的自由基还会导致各类慢性疾病的发生^[39]。因此,人们有必要定时服用一些抗氧化保健品来提高身体健康状况。然而,一些人工合成的抗氧化剂因其本身的毒性对人体的健康存在潜在危害^[40-41]。因此,寻找更加安全的天然抗氧化剂越来越受到人们的关注,其中海洋生物活性肽便是一个很好的选择^[42-43]。

目前,对于以海洋生物为原料的抗氧化肽的研究,主要集中于罗非鱼^[44]、扇贝^[45]、蓝圆鲀^[46]等。并且,近几年,全球资源短缺和环境污染问题日益严重,越来越多的科研工作者致力于研究从海洋食品工业副产物中分离提取生物活性物质。Zhang 等^[47]从罗非鱼鱼皮水解液中分离鉴定出两个具有抗氧化活性的肽段:Glu-Gly-Leu(317.33 u)和 Tyr-Gly-Asp-Glu-Tyr(645.21 u),它们羟基自由基清除力的 IC_{50} 值分别为 $4.61 \mu g \cdot mL^{-1}$ 和 $6.45 \mu g \cdot mL^{-1}$ 。刘永等^[48]采用响应面法优化了罗非鱼鱼鳞抗氧化肽的制备工艺,在最佳工艺条件下抗氧化肽的羟自由基清除率达 82.29%,同时具有较好的抗脂质过氧化能力。此外,从大黄鱼内脏^[49]、鲨鱼皮^[50]、梭子蟹下脚料^[51]中也能提取出具有较高活性的抗氧化肽。

对于抗氧化肽的构效关系,大部分学者认为抗氧化肽通常在 N 端含有疏水性氨基酸如 Val 或 Leu,并且序列中含有 Pro、His、Tyr、Trp 和 Cys 等氨基

酸^[52],来源于海洋生物的抗氧化肽也基本遵循此构效关系。Sekar Sudhakar 等^[53]发现印度乌贼的胰凝乳蛋白酶水解液具有较强的抗氧化活性(相比于胃蛋白酶和木瓜蛋白酶水解液);之后作者对酶解液中的肽进行分离纯化和结构鉴定,确认其氨基酸序列为 Trp-Cys-Thr-Ser-Val-Ser。Chi 等^[54]利用木瓜蛋白酶-碱性蛋白酶复合酶解大黄鱼肌肉,从酶解液中分离鉴定出三个肽段:Tyr-Leu-Met-Ser-Arg(PC-1)、Val-Leu-Tyr-Glu-Glu(PC-2)和 Met-Ile-Leu-Met-Arg(PC-3),研究发现这三个肽段都具有较强的抗氧化活性,其中 PC-1 与 PC-2 的抗氧化效果比 PC-3 更好,这是因为 PC-1 与 PC-2 的 N 端都含有疏水性氨基酸,这些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。另外,王继宏^[55]的实验结果同样表明 Val、Ile、Leu、Pro 等疏水性氨基酸与南极磷虾多肽的抗氧化性能呈正相关,即这些氨基酸含量越多,对应多肽的抗氧化性能越好。由此可见,抗氧化肽的活性与它的氨基酸含量与组成有着密切联系。

2.4 降血压

在全球范围内,高血压是一类患病率极高的疾病,目前大约有 25% 的成年人患有此病,到 2025 年这一比例将高达 29%^[56]。血管紧张素转换酶(ACE)会催化非活性血管紧张素 I 向活性血管紧张素 II 转换,同时使缓激肽失活,从而导致血压升高。因此,ACE 抑制剂能通过抑制 ACE 活性来起到降血压的作用。目前,人们已经从海洋生物中分离出多种具有抑制 ACE 活性作用的降血压肽,主要为贝类(紫贻贝^[57]、厚壳贻贝^[58]、马氏珠母贝^[59]等)、罗非鱼^[60]、紫菜^[61]等降血压肽。

降血压肽的构效关系目前还没有弄清楚,但已有的研究表明:肽链的 C 端含有芳香族或脂肪族的氨基酸(如:Pro、Phe 或 Tyr)以及 N 端含有 Val 或 Ile 的短肽具有明显的降血压作用^[62-63]。贾俊强等^[64]对 270 种降血压肽进行了序列分析,发现有 7 种氨基酸在降血压肽的 N 端出现的频率较高,它们分别为 Arg、Tyr、Gly、Val、Ala、Ile 和 Leu,其中 Leu 出现频率最高为 13.7%;有 5 个氨基酸在降血压肽的 C 端出现的频率最高,它们分别为 Pro(23%)、Tyr(15.2%)、Phe(10.4%)、Leu(10.0%)和 Trp(8.1%)。来源于海洋生物的降血压肽也基本遵循此构效关系。Seok-Chun Ko 等^[65]对海洋小球藻中的降压肽进行了研究,结果发现碱性蛋白酶水解液具有最强的 ACE 抑制作用;之后作者再对其进行纯化和结构鉴定,找到了一个降血压四肽:Val-Glu-Gly-Tyr(M_w : 467.2 u, IC_{50} : 128.4 μ mol/L)。Jung Kwon Lee 等^[66]用胰蛋白酶水解法和色谱法从大马哈鱼鱼皮中发现了一种降压肽:Gly-Leu-Pro-Leu-Asn-Leu-Pro(MW : 770 u, IC_{50} : 18.7 μ mol/L)。伍善广等^[67]研究了不同分离纯化方法对长蛇鲭降血压肽分离结果的影响,作者用 IEC/RP-HPLC、RP-HPLC/RP-HPLC/RP-HPLC 和 IMAC/RP-HPLC 三组分离技术发现了三个

不同序列的降压肽:Arg-Val-Cys-Leu-Pro、Ser-Pro-Arg-Cys-Arg 和 Arg-Tyr-Arg-Pro,它们的 IC_{50} 值分别为 175、41、52 mol/L。

2.5 其他

抗冻蛋白是一类抑制冰晶生长的蛋白质,其在食品工业中的应用主要体现在可以有效减少冷冻贮藏的食品中冰晶的形成和重结晶,而提高低温冷链系列食品的质量^[68]。许多鱼类能够存活于低温环境中,一些学者认为这些鱼类血清中的抗冻蛋白(AFPs)发挥了重要作用,它能够有效阻止血液结冰。1969 年 DeVries^[69]从极地海鱼的血液中提取出抗冻糖蛋白,这是关于鱼类抗冻蛋白的首次报道。此后,关于鱼类抗冻蛋白的研究报道便大量涌现,根据氨基酸组成和蛋白质结构的差异,目前发现的鱼类抗冻蛋白大致可以分为五类:抗冻糖蛋白、I 型抗冻蛋白、II 型抗冻蛋白、III 型抗冻蛋白和 IV 型抗冻蛋白^[68]。然而,这些抗冻蛋白大多是存在于鱼类血液中的内源性蛋白,这样得到的抗冻蛋白含量甚微。近几年,也有一些学者通过酶解法从鱼皮中获得抗冻肽,因为鱼皮作为鱼体与外部环境直接接触的媒介,其中极有可能存在抗冻物质。Shaoyun Wang 等^[70]利用酸性蛋白酶酶解鲨鱼皮获得酶解液,之后利用凝胶过滤色谱法和反向高效液相色谱法对酶解液进行分离纯化,最终纯化的鲨鱼皮多肽能够在低温状态下(-20 $^{\circ}$ C)放置 24 h 的保加利亚乳杆菌的存活率从 0.44% (添加纯净水)提高至 90.28%,具有较好的抗冻效果。

长久以来,病原菌的耐药性问题一直困扰着科学界,而不易引起耐药性的肽类抗生素的发现为研制新型抗生素提供了可能。相比于化学抗菌剂,此类天然抗菌剂还具有低毒性、高特异性等优点,因而引起科学界的关注。迄今,已从各种动物中获得超过 1500 多个抗菌肽的序列信息,它们大多来自于真菌、昆虫、尾索动物、甲壳动物、鱼类、两栖类动物、鸟类和哺乳动物(包括人)^[71]。在过去的 20 多年中,对于海洋生物活性抗菌肽的研究也已取得了长足发展,虽然这些抗菌肽的一级结构存在很大的差异性,但绝大多数海洋生物抗菌肽是含半胱氨酸的阳性多肽。然而,目前对海洋抗菌肽的研究主要针对于内源性抗菌肽,它们在生物体内含量甚微,这给抗菌肽的发现、分离与鉴定带来诸多困难,因此科研工作者们逐渐将目光投向了基因工程技术,另外利用酶解法从海洋生物蛋白中剪切出具有抗菌活性的肽段也是一个有效途径。Chuan-li Qin 等^[72]利用反相高效液相色谱法从厚壳贻贝血淋巴中分离出一个大小为 6297.55 u 的抗菌肽,之后对其进行 cDNA 克隆,并发现其表达物具有较强的抗菌活性。

此外,科研工作者们发现海洋生物活性肽还具有降血脂、降血糖、抗凝血、免疫调节、镇痛等功效^[73-76]。丁进锋等^[73]利用木瓜蛋白酶酶解海蜇胶原蛋白制得海蜇胶原蛋白肽,研究表明海蜇胶原蛋白肽能显著降低模型小鼠的肝系数和脂肪系数,也能显著降低血清中 TC、LDL-C 含量,显著提高 HDL-C

含量。

3 展望

海洋生物活性肽因其功能多样、来源广泛、特异性强、毒副作用小等独特优势,具有广阔的前景。目前,人们对海洋生物活性肽已经进行了大量研究,但仍然存在以下几个问题:一研究领域存有失衡性,当前的研究较多集中于抗氧化肽、降血压肽和抗菌肽等少数几种功能肽,对抗疲劳肽、减肥肽等其他几类活性肽的研究还相对匮乏;二研究维度存有局限性,当前的研究模式大多是从活性肽的制备工艺、分离、纯化到结构鉴定,对活性肽的构效关系、作用机理、分子修饰等方面的研究还不够深入;三理论与实践存在脱节性,当前对海洋生物活性肽的研究还处在实验室阶段,虽然从海洋生物中分离鉴定出多种活性肽,但真正应用于实际生产和临床应用中的却很少。不过,随着研究的不断深入,当这些问题慢慢得到解决之后,相信海洋生物活性肽在新型海洋保健食品、功能性食品以及医药行业中将发挥重要作用^[77]。

参考文献

[1] Tavares T G, Contreras M M, Amorim M, et al. Optimisation, by response surface methodology, of degree of hydrolysis and antioxidant and ACE - inhibitory activities of whey protein hydrolysates obtained with cardoon extract [J]. International Dairy Journal, 2011, 21(12): 926-933.

[2] Ahn C, Cho Y, Je J. Purification and anti-inflammatory action of tripeptide from salmon pectoral fin byproduct protein hydrolysate [J]. Food Chemistry, 2015, 168: 151-156.

[3] Zhang L, Li J, Zhou K. Chelating and radical scavenging activities of soy protein hydrolysates prepared from microbial proteases and their effect on meat lipid peroxidation [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(7): 2084-2089.

[4] Chi C, Hu F, Wang B, et al. Antioxidant and anticancer peptides from the protein hydrolysate of blood clam (*Tegillarca granosa*) muscle [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 15: 301-313.

[5] Ennaas N, Hammami R, Beaulieu L, et al. Purification and characterization of four antibacterial peptides from protamex hydrolysate of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) by-products [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 462(3): 195-200.

[6] 王竹清, 李八方. 生物活性肽及其研究进展 [J]. 中国海洋药物杂志, 2010, 29(2): 60-68.

[7] Singh B P, Vij S, Hati S. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean [J]. Peptides, 2014, 54: 171-179.

[8] 林伟锋, 赵谋明, 程朝阳. 海洋生物活性肽的制备及其研究状况 [J]. 食品工业科技, 2003, 24(9): 90-93.

[9] 李勇. 生物活性肽研究现状和进展 [J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(1): 1-9.

[10] 程林友. 玻璃海鞘多肽的分离纯化及抗肿瘤机制研究 [D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2011.

[11] 糕如朋, 付宏征, 仲崇波, 等. 海藻毒素多肽的分离和初步表征 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2001, 28(4): 514-518.

[12] 李景喜, 高丽洁, 尹晓斐, 等. 海藻中多肽 (PC₂~PC₄)

的测定及对 Zn²⁺ 诱导响应 [J]. 海洋环境科学, 2015(5): 754-758.

[13] 赵重甲, 戴秋云. 芋螺镇痛多肽研究进展 [J]. 药学报, 2009, 44(6): 561-565.

[14] 胡晓璐, 刘淑集, 吴成业. 鱼精蛋白的提取纯化及应用研究进展 [J]. 福建水产, 2011, 33(2): 84-88.

[15] 李燕, 汪之和, 王麟, 等. 鲑鱼鱼精蛋白的抑菌作用及在保鲜中的应用 [J]. 食品科学, 2004, 25(10): 80-84.

[16] 宋丽艳. 海洋生物毛蚶活性肽的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2010.

[17] 刘云国, 李八方, 汪东风, 等. 各种肽 (天然、酶解) - 海洋生物活性肽研究进展 [J]. 中国海洋药物杂志, 2005, 24(3): 52-57.

[18] Luna - Vital D A, Mojica L, González De Mejía E, et al. Biological potential of protein hydrolysates and peptides from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): A review [J]. Food Research International, 2015, 76(1): 39-50.

[19] Zarei M, Ebrahimpour A, Abdul - Hamid A, et al. Identification and characterization of papain-generated antioxidant peptides from palm kernel cake proteins [J]. Food Research International, 2014, 62: 726-734.

[20] Sarmadi B H, Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: A review [J]. Peptides, 2010, 31(10): 1949-1956.

[21] Su G, Ren J, Yang B, et al. Comparison of hydrolysis characteristics on defatted peanut meal proteins between a protease extract from *Aspergillus oryzae* and commercial proteases [J]. Food Chemistry, 2011, 126(3): 1306-1311.

[22] Zhou K, Canning C, Sun S. Effects of rice protein hydrolysates prepared by microbial proteases and ultrafiltration on free radicals and meat lipid oxidation [J]. LWT - Food Science and Technology, 2013, 50(1): 331-335.

[23] 丛艳君, 薛文通. 活性蛋白质和肽的制备及在功能食品中的应用 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011.

[24] Jiang H, Tong T, Sun J, et al. Purification and characterization of antioxidative peptides from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle protein hydrolysate [J]. Food Chemistry, 2014, 154: 158-163.

[25] Chi C, Wang B, Hu F, et al. Purification and identification of three novel antioxidant peptides from protein hydrolysate of bluefin leatherjacket (*Navodon septentrionalis*) skin [J]. Food Research International, 2014, 73: 124-129.

[26] 陈纯馨, 孙恢礼, 吴嘉辉, 等. 超声波技术在波纹巴非蛤酶解反应中的应用 [J]. 食品科学, 2010, 31(20): 152-158.

[27] 康永锋, 康俊霞, 吴文惠, 等. 超声波、微波对鲑鱼肽结构及抗氧化性的影响 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(5): 66-71.

[28] 王雪芹. 鲑鱼多肽的抗氧化活性与抗疲劳作用研究 [D]. 青岛: 中国科学院大学, 2014.

[29] 方富永, 苗艳丽, 程诚, 等. 翡翠贻贝肉复合酶解物的抗疲劳作用 [J]. 中国食品学报, 2012, 12(11): 20-23.

[30] 施佳慧, 朱加进, 陈文聪, 等. 鲑鱼鱼水解产物抗疲劳作用效果研究 [J]. 中国食品学报, 2010, 10(6): 77-80.

[31] 徐恺, 刘元, 王亚恩, 等. 南极磷虾脱脂蛋白肽抗疲劳和耐缺氧实验研究 [J]. 食品科学, 2011, 32(11): 310-313.

[32] Ding J, Li Y, Xu J, et al. Study on effect of jellyfish collagen hydrolysate on anti - fatigue and anti - oxidation [J]. Food

Hydrocolloids, 2011, 25(5):1350-1353.

[33] 王维民, 谢书越, 穆利霞, 等. 抗肿瘤活性肽的研究进展[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2):368-372.

[34] Umayaparvathi S, Meenakshi S, Vimalraj V, et al. Antioxidant activity and anticancer effect of bioactive peptide from enzymatic hydrolysate of oyster (*Saccostrea cucullata*) [J]. Biomedicine & Preventive Nutrition, 2014, 4(3):343-353.

[35] Kim E, Kim Y, Hwang J, et al. Purification and characterization of a novel anticancer peptide derived from *Ruditapes philippinarum* [J]. Process Biochemistry, 2013, 48(7):1086-1090.

[36] Chernysh S, Irina K, Irina A. Anti-tumor activity of immunomodulatory peptide alloferon-1 in mouse tumor transplantation model [J]. International Immunopharmacology, 2012, 12(1):312-314.

[37] Wang K, Zhang B, Zhang W, et al. Antitumor effects, cell selectivity and structure-activity relationship of a novel antimicrobial peptide polybia-MPI [J]. Peptides, 2008, 29(6):963-968.

[38] 高捷. 鹰嘴豆肽生物活性及构效关系解析[D]. 天津: 天津大学, 2012.

[39] Gu M, Chen H, Zhao M, et al. Identification of antioxidant peptides released from defatted walnut (*Juglans Sigillata* Dode) meal proteins with pancreatin [J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 60(1):213-220.

[40] Chi C, Wang B, Wang Y, et al. Isolation and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolysate of bluefin leatherjacket (*Navodon septentrionalis*) heads [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12:1-10.

[41] Wang B, Gong Y, Li Z, et al. Isolation and characterisation of five novel antioxidant peptides from ethanol-soluble proteins hydrolysate of spotless smoothhound (*Mustelus griseus*) muscle [J]. Journal of Functional Foods, 2014, 6:176-185.

[42] Chi C, Hu F, Wang B, et al. Antioxidant and anticancer peptides from the protein hydrolysate of blood clam (*Tegillarca granosa*) muscle [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 15:301-313.

[43] Senphan T, Benjakul S. Antioxidative activities of hydrolysates from seabass skin prepared using protease from hepatopancreas of Pacific white shrimp [J]. Journal of Functional Foods, 2014, 6:147-156.

[44] 张玉铎. 罗非鱼皮抗氧化肽的制备与分离纯化[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2013.

[45] 刘媛, 王健, 牟建楼, 等. 扇贝肉肉抗氧化肽制备及体外抗氧化实验研究[J]. 食品工业科技, 2014(8):206-209.

[46] 蒋海萍. 蓝圆鲂蛋白制备抗氧化肽的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2014.

[47] Zhang Y, Duan X, Zhuang Y. Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin [J]. Peptides, 2012, 38(1):13-21.

[48] 刘永, 梁仕华, 洪秀榕, 等. 罗非鱼鳞抗氧化肽的制备与抗脂质过氧化性能[J]. 食品工业, 2013, 34(11):133-136.

[49] 李致瑜, 张翀, 田玉庭, 等. 大黄鱼内脏抗氧化肽的稳定性研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(1):151-158.

[50] 江勇, 汪少芸, 饶平凡. 鲨鱼皮明胶水解肽的制备、分离纯化与抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(3):28-33.

[51] 范建凤, 王泽南, 杨柯, 等. 蟹抗氧化肽的分离纯化及活性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(13):48-51.

[52] 张晖, 唐文婷, 王立, 等. 抗氧化肽的构效关系研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(7):673-679.

[53] Sudhakar S, Nazeer R A. Structural characterization of an Indian squid antioxidant peptide and its protective effect against cellular reactive oxygen species [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 14:502-512.

[54] Chi C, Hu F, Wang B, et al. Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolysate of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*) muscle [J]. Food Chemistry, 2015, 168:662-667.

[55] 王继宏. 南极磷虾抗氧化肽制备和纯化的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.

[56] Ngo D, Kang K, Ryu B, et al. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides from antihypertensive skate (*Okamejei kenoeji*) skin gelatin hydrolysate in spontaneously hypertensive rats [J]. Food Chemistry, 2015, 174:37-43.

[57] 张艳萍, 戴志远, 张虹. 紫贻贝酶解物中降血压肽的超滤分离[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(9):46-51.

[58] 张婷. 厚壳贻贝酶解物的制备及其降血压肽的分离纯化、结构表征[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2011.

[59] 张政委, 刘旭辉, 周俊峰, 等. 酶解马氏珠母贝肉制备降血压肽工艺条件优化[J]. 海洋科学, 2008, 32(8):25-29.

[60] 吴靖娜, 许永安, 王茵, 等. 罗非鱼鱼皮胶降血压肽的初步分离及性质研究[J]. 食品工业, 2012, 33(11):90-93.

[61] 刘淑集, 王茵, 吴成业, 等. 坛紫菜降血压活性肽的分离纯化及分子质量测定[J]. 食品科学, 2011, 32(2):213-217.

[62] Kapel R, Rahhou E, Lecouturier D, et al. Characterization of an antihypertensive peptide from an Alfalfa white protein hydrolysate produced by a continuous enzymatic membrane reactor [J]. Process Biochemistry, 2006, 41(9):1961-1966.

[63] Wijesekera I, Qian Z, Ryu B, et al. Purification and identification of antihypertensive peptides from seaweed pipefish (*Syngnathus schlegeli*) muscle protein hydrolysate [J]. Food Research International, 2011, 44(3):703-707.

[64] 贾俊强, 马海乐, 王振斌, 等. 降血压肽的构效关系研究[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(5):110-114.

[65] Ko S, Kang N, Kim E, et al. A novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide from a marine *Chlorella ellipsoidea* and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats [J]. Process Biochemistry, 2012, 47(12):2005-2011.

[66] Lee J K, Jeon J, Byun H. Antihypertensive effect of novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) skin in spontaneously hypertensive rats [J]. Journal of Functional Foods, 2014, 7:381-389.

[67] 伍善广. 长蛇鲻鱼肉蛋白制备分离降血压肽研究[D]. 南宁: 广西大学, 2013.

[68] 汪少芸, 赵璐, 吴金鸿, 等. 抗冻蛋白的研究进展及其在食品工业中的应用[J]. 北京工商大学学报(自然科学版), 2011, 29(4):50-57.

- [69] 金周筠, 刘宝林. 抗冻蛋白及其应用前景[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(20): 142-146.
- [70] Wang S, Zhao J, Chen L, et al. Preparation, isolation and hypothermia protection activity of antifreeze peptides from shark skin collagen[J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 55(1): 210-217.
- [71] 丁云超, 张士瑾. 海洋动物抗菌肽研究进展[J]. 中国海洋药物, 2013, 32(6): 87-96.
- [72] Qin C, Huang W, Zhou S, et al. Characterization of a novel antimicrobial peptide with chitin-binding domain from *Mytilus coruscus* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 41(2): 362-370.
- [73] 丁进锋, 苏秀榕, 李妍妍, 等. 海蜇胶原蛋白肽的降血脂及抗氧化作用的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(3): 362-365.
- [74] 张辉. 牡蛎活性肽降血糖和抑制 ACE 作用研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2009.
- [75] 张岩, 吴燕燕, 李来好, 等. 酶法制备海洋活性肽及其功能活性研究进展[J]. 生物技术通报, 2012(3): 42-48.
- [76] 伊鹏, 李英新, 张萌萌, 等. 海洋多肽类化合物研究进展[J]. 药物生物技术, 2014, 21(3): 264-269.
- [77] Uhlig T, Kyprianou T, Martinelli F G, et al. The emergence of peptides in the pharmaceutical business: From exploration to exploitation[J]. EuPA Open Proteomics, 2014, 4: 48-69.
- [4] Zhao Y H, Li B F, Ma J J, et al. Purification and synthesis of ACE inhibitory peptide from *Acaudina molpadioidea* protein hydrolysate[J]. Chemical Journal of Chinese Universities - Chinese, 2012, 33(2): 308-312.
- [5] 王奕, 王静凤, 张瑾, 等. 日本刺参胶原肽对 B16 黑素瘤细胞黑素合成的影响[J]. 营养学报, 2007, 29(4): 401-404.
- [6] 王奇, 李妍妍, 芦红艳, 等. 东海海参酶解液提高小鼠记忆力和抗疲劳功能的研究[J]. 营养学报, 2011, 33(6): 580-583.
- [7] Zheng J, Wu H T, Zhu B W, et al. Identification of antioxidative oligopeptides derived from autolysis hydrolysates of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) guts [J]. European Food Research and Technology, 2012, 234(5): 895-904.
- [8] Zhou X Q, Wang C H, Jiang A L. Antioxidant peptides isolated from sea cucumber *Stichopus japonicus* [J]. European Food Research and Technology, 2012, 234(3): 441-447.
- [9] 高森, 王静凤, 王玉明, 等. 冰岛刺参调节血脂及其作用机制[J]. 武汉大学学报(理学版), 2009, 55(3): 324-328.
- [10] 田迎樱, 胡世伟, 薛长湖, 等. 冰岛刺参岩藻糖基化硫酸软骨素降血糖及改善胰岛素抵抗的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(5): 341-345.
- [11] 周晓春, 王静凤, 胡世伟, 等. 冰岛刺参岩藻糖基化硫酸软骨素对高脂饮食诱导的糖尿病小鼠肾脏的保护作用[J]. 食品科学, 2014, 35(13): 236-239.
- [12] 吴佳伶, 钱和, 汪何雅, 等. 红酵母红素对氧化受损 PC12 细胞的保护作用[J]. 食品工业科技, 2014, 35(23): 73-76.
- [13] 贾维宝, 刘良忠, 黄婷, 等. 几种用于肽粉中蛋白质含量测定方法的比较[J]. 武汉轻工大学学报, 2016, 35(1): 17-20.
- [14] 赵芹, 王静凤, 薛勇, 等. 3 种海参的主要活性成分和免疫调节作用的比较研究[J]. 中国水产科学, 2008, 15(1): 154-159.
- [15] Zhang S H, Ye J L, Dong G X. Neuroprotective effect of baicalein on hydrogen peroxide-mediated oxidative stress and mitochondrial dysfunction in PC12 Cells[J]. Journal of Molecular Neuroscience, 2010, 40: 311-320.
- [16] 董玉婷, 李八方, 王奕, 等. 鳕鱼皮胶原蛋白多肽的制备及其对小鼠 B16 黑素瘤细胞的作用[J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36(S up II): 43-46.
- [17] Yang Y C, Liu C K, Lin A H, et al. Induction of glutathione synthesis and heme oxygenase 1 by the flavonoids butein and phloretin is mediated through the ERK/Nrf2 pathway and protects against oxidative stress [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2011, 51: 2073-2081.
- [18] 崔凤霞. 海参胶原蛋白生化性质及胶原肽活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [19] 凌玉芳, 卢蓉蓉, 孙震, 等. 乳清蛋白酶解物对 PC12 细胞氧化损伤防护作用的体外研究[J]. 营养学报, 2011, 33(2): 162-166.
- [20] Johnson F, Giulivi C. Superoxide dismutases and their impact upon human health[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2005, 26: 340-352.
- [21] Ho Y S, Xiong Y, Ma W C, et al. Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury [J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279: 32804-32812.
- [22] 王奕, 王静凤, 高森, 等. 日本刺参胶原蛋白多肽对紫外线诱导的光老化模型小鼠皮肤的保护作用[J]. 中国药科大学学报, 2008, 39(1): 64-67.
- [23] 林琳, 李八方. 鱿鱼皮胶原蛋白水解肽抗氧化活性研究[J]. 中国海洋药物, 2006, 25(4): 48-51.
- [24] Thiantanawat A, Long B J, Brodie A M. Signaling pathways of apoptosis activated by aromatase inhibitors and antiestrogens [J]. Cancer Research, 2003, 63: 8037-8050.
- [25] Morgan M J, Kim Y S, Liu Z G. TNF α and reactive oxygen species in necrotic cell death [J]. Cell Research, 2008, 18(3): 343-349.
- [26] 陈华, 易湘茜, 陈忻, 等. 海洋胶原蛋白肽的制备及生物活性研究进展[J]. 中国食物与营养, 2010(8): 57-60.
- [27] 彭新颜, 孟婉静, 周夕冉, 等. 蓝点马鲛鱼皮抗氧化肽段对熟肉糜脂肪和蛋白氧化抑制作用的研究[J]. 水产学报, 2015, 39(11): 1730-1741.
- [28] Roberta D B, Rai D K, Declan B, 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.
- [29] Rajapakse N, Mendis E, Jung W K, 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.

(上接第 358 页)