

核桃多肽生物活性研究进展

缪福俊, 宁德鲁

(云南省林业和草原科学院, 昆明 650201)

摘要:核桃经压榨制油后的副产物饼粕,常用于饲料或丢弃,附加值极低。核桃饼粕富含高达50%的蛋白质,可进行深加工利用。为了促进核桃饼粕的综合利用,综述了核桃多肽的制备工艺及其生物活性。以核桃饼为原料,采用碱溶酸沉法制备核桃蛋白,再进一步用蛋白酶酶解获得核桃多肽。核桃多肽具有抗氧化、抗肿瘤、降血压、健脑、免疫调节等多种生物活性。

关键词:核桃;多肽;生物活性

中图分类号:TS209;TS222+.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2021)03-0048-04

Progress on bioactivity of walnut peptides

MIAO Fujun, NING Delu

(Yunnan Academy of Forestry and Grassland, Kunming 650201, China)

Abstract: The by-product walnut cake after oil pressing is often used in feed or discarded and has very low added value. The walnut cake is rich in protein up to 50%, and can be further processed and utilized. The preparation technology and bioactivity of peptides from walnut cake were reviewed so as to promote the comprehensive utilization of walnut cake. The walnut protein was prepared from walnut cake by alkali solution and acid precipitation, and then further hydrolyzed by protease to obtain walnut peptides. The walnut peptides had a variety of activities such as antioxidation, anti-tumor, lowering blood pressure, brain fitness, immune regulation, etc.

Key words: walnut; peptides; bioactivity

核桃(*Juglans regia*)属胡桃科胡桃属植物,是世界四大干果之一,富含多种营养和药理成分,具有较高的营养和商业价值。我国已成为世界上最大的核桃种植国家,主要分布在云南、新疆、河北、陕西等省区^[1-2],其中云南省的种植面积和产量均居全国第一^[3]。近年来,我国核桃种植面积与产量越来越大,核桃经压榨制油后产生了大量的饼粕。核桃饼粕常被用作饲料和肥料或丢弃,附加值极低,然而核桃饼粕中蛋白质含量高达50%,是一种优质的蛋白质资源^[4-5]。大量的研究表明,植物蛋白经蛋白酶酶解后制备的多肽具有抗氧化、抗癌、免疫调节等多种

生物活性,其中核桃多肽已成为目前的研究热点^[6-7]。因此,本文对近年来核桃多肽的生物活性进行综述,旨在为核桃多肽的开发利用提供科学依据。

1 核桃多肽酶解制备工艺

目前,核桃蛋白粉的制备主要采用碱溶酸沉法,核桃多肽的制备主要采用蛋白酶酶解法,即核桃蛋白粉经蛋白酶酶解为小分子肽段,相关的蛋白酶包括酸性蛋白酶、中性蛋白酶、碱性蛋白酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、复合蛋白酶等^[8]。作者以核桃仁经低温压榨制油后的饼为原料,开发了核桃多肽制备工艺,即核桃饼首先经亚临界萃取工艺获得脱脂粕粉(残油1%以内),再经碱溶酸沉工艺获得蛋白凝胶,选用合适的蛋白酶进行酶解,最后酶解液经浓缩、均质、喷雾干燥等工艺后获得核桃多肽粉^[9]。

2 核桃多肽生物活性及其作用机理

2.1 抗氧化活性

大量研究证实核桃多肽在体内外均具有较强的

收稿日期:2020-04-24

基金项目:云南省重大科技专项(2018ZG003)

作者简介:缪福俊(1986),男,助理研究员,硕士,主要从事食品资源与营养工程研究(E-mail) miaofujun@yeah.net。

通信作者:宁德鲁,研究员,硕士(E-mail) ningdelu@163.com。

抗氧化能力,而且其抗氧化活性与肽段氨基酸序列组成相关^[10]。刘威等^[11]通过体外实验研究表明,核桃清蛋白经碱性蛋白酶酶解制备的多肽对 DPPH·、ABTS⁺·、·OH 均有显著的清除能力。李艳伏等^[12]采用木瓜蛋白酶酶解核桃粕蛋白制备多肽,具有抗氧化活性多肽的相对分子质量主要集中在 607 ~ 1 321 Da,其对·OH、O₂⁻·和 DPPH·清除率分别为 42.26%、57.73%、74.43%,总抗氧化能力为 88.43%。郝常艳^[13]采用中性蛋白酶酶解制备的核桃多肽也具有较强的抗氧化能力。郭勇等^[14]研究表明,核桃源五肽(Leu-Pro-Leu-Leu-Arg, LPLLR)对过氧化氢诱导的 PC12 细胞氧化损伤具有一定的保护作用,其机制可能是 LPLLR 能显著降低一氧化氮(NO)分泌量并上调超氧化物歧化酶 2(SOD2)蛋白表达水平,下调核转录因子 NF-κB p65 和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)蛋白表达水平。杨子明等^[15]研究表明,核桃多肽能够降低 D-半乳糖诱导的老年小鼠血脂水平,提高小鼠大脑总抗氧化能力(T-AOC)和 SOD 活性,降低小鼠大脑丙二醛(MDA)含量,表现出较强的抗氧化能力。Gu 等^[16]采用胰蛋白酶酶解核桃蛋白,分离获得 16 种抗氧化多肽,其相对分子质量主要集中在 200 ~ 300 Da。Chen 等^[17]将核桃蛋白经 3 种蛋白酶(中性蛋白酶、碱性蛋白酶、胃蛋白酶)酶解后,分离获得氨基酸序列为 Ala-Asp-Ala-Phe 的抗氧化多肽,其相对分子质量为 423.23 Da。Li 等^[18]采用胰蛋白酶酶解制备的核桃蛋白酶解物具有很强的抗氧化能力,能减轻氧化应激,抑制大脑中促炎细胞因子如肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、白细胞介素-1β(Interleukin-1β, IL-1β)等的表达,对 D-半乳糖和氯化铝引起的神经毒性起保护作用。

2.2 抗肿瘤活性

恶性肿瘤是全世界主要的慢性退行性疾病之一,相对于传统治疗药物,生物活性肽在肿瘤治疗中具有低毒性、高选择性、光谱适用性及高效性^[19-20]。翟梦新等^[21]研究表明,核桃蛋白经木瓜蛋白酶酶解制备的多肽对人乳腺癌细胞(MCF-7)、人结肠癌细胞(Caco-2)及人宫颈癌细胞(Hela)具有明显的抑制生长作用。Liao 等^[22]研究表明,核桃蛋白酶解物对人乳腺癌细胞(MCF-7)增殖具有抑制作用,通过活性氧介导的线粒体途径诱导人乳腺癌细胞凋亡。Ma 等^[23]从核桃蛋白酶解液中分离获得一种多肽(Cys-Thr-Leu-Glu-Trp, CTLEW),其相对分子质量为 651.28 Da,可诱导人乳腺癌细胞(MCF-7)的凋亡和自噬。

2.3 降血压及保护心血管活性

核桃多肽在预防心血管疾病方面的研究主要集中在降压活性肽方面。降压活性肽主要是通过抑制血管紧张素转化酶(ACE)达到降血压的目的。核桃蛋白是一种理想的 ACE 抑制肽蛋白来源^[24]。包怡红等^[25]采用碱性蛋白酶制备(加酶量 5 880 U/g(以底物计),酶解温度 56℃,酶解 pH 8.2,酶解时间 4 h)的核桃多肽对 ACE 抑制率可达 72.48%。周慧江^[26]采用碱性蛋白酶制备(底物质量浓度 20 g/L,酶解温度 60℃,酶解 pH 7.9,酶解时间 4 h)的核桃多肽对 ACE 抑制率可达 76.58%。Wang 等^[27]采用胃蛋白酶酶解核桃蛋白,从中分离获得一种 ACE 抑制多肽(EPNGLLLPQY),其相对分子质量为 1 143.43 Da,IC₅₀值为 233.18 μmol/L。Liu 等^[28]从核桃蛋白酶解液中分离获得一种 ACE 抑制多肽(Trp-Pro-Glu-Arg-Pro-Pro-Gln-Ile-Pro),其相对分子质量为 1 033.42 Da,IC₅₀值 25.67 μg/mL。顾欣等^[29]采用胃蛋白酶酶解核桃蛋白,从中分离获得一种 ACE 抑制多肽(Tyr-Glu-Pro, YEP),其相对分子质量为 407.43 Da,IC₅₀值为 0.32 μg/mL,在体外模拟消化后仍保持良好的 ACE 抑制活性。

2.4 健脑活性

核桃多肽的健脑活性主要是基于其强大的抗氧化活性,另外核桃多肽富含的谷氨酸属于脑内信号传导有关的神经递质,瓜氨酸是信使一氧化氮(NO)的前体物质,对学习、记忆有积极的改善作用^[30]。邹娟^[31]研究表明,核桃多肽具有良好的抗老年痴呆活性,其可能机制为核桃多肽通过缓解海马内氧化失衡状况,从而提高海马组织耳的抗氧化能力并且调解 NF-κB 表达,降低促炎症因子的水平,从而抑制炎症反应。Zou 等^[32]研究表明,核桃多肽可以提高 Aβ₂₅₋₃₅诱导的阿尔茨海默病小鼠体内抗氧化能力,减轻炎症反应从而起到脑部保护作用。杜倩等^[33]研究表明,核桃多肽可以增强幼年小鼠学习和空间记忆能力、主动及被动回避能力,具有延缓记忆衰退的作用,其机制可能与核桃多肽抗氧化性有关。

2.5 免疫活性

生物活性多肽可能通过增强机体淋巴细胞增殖和抗体生成调节免疫功能。崔玲玉^[34]研究表明,核桃多肽可以提高小鼠胸腺和脾脏指数,增强巨噬细胞吞噬能力、脾脏 T 淋巴细胞增殖能力,增加肠道免疫球蛋白 A(IgA)分泌,提高免疫能力。崔犁

等^[35]采用中性蛋白酶酶解核桃蛋白制备的多肽具有显著提高脾脏淋巴细胞和巨噬细胞功能的作用。杨胜杰等^[36]研究表明,核桃多肽可以调节细胞炎症因子(IL-10和IL-17A),对斑马鱼巨噬细胞的抑制和吞噬墨汁巨噬细胞的数量具有明显的改善和促进作用,具有较好的免疫调节作用。

2.6 其他生物活性

(1)润肠通便。张亭等^[37]研究表明,核桃低聚肽(相对分子质量小于1 000 Da)对盐酸洛哌丁胺诱导的便秘小鼠具有润肠通便功能,可减轻小鼠小肠绒毛损伤,其机制可能与核桃低聚肽促进小鼠血清中胃肠激素内毒素、胃动素表达,抑制生长抑素表达有关。

(2)抗菌活性。王攀等^[38]采用中性蛋白酶酶解核桃蛋白制备的多肽对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等具有抑制作用,并且多肽相对分子质量越小,其抑菌活性越强。

(3)抗疲劳。乌兰等^[39]研究表明,核桃多肽通过提高小鼠体内乳酸脱氢酶活性和肌糖原储备量,降低血乳酸和血清尿素氮含量,显著延长负重游泳时间,具备一定的缓解疲劳的作用。段心妍^[40]研究表明,核桃多肽通过减轻大鼠体内乳酸和尿素氮的产生,提高血红蛋白再生能力,从而有效促进运动疲劳的恢复。

(4)改善机体代谢紊乱。李丽^[41]研究表明,核桃多肽可以改善STZ诱导的2型糖尿病小鼠体内糖脂代谢紊乱。Li等^[42]研究表明,核桃多肽通过降低氧化钾诱导高尿酸血症大鼠的血尿酸水平,保护肾功能,并能抑制黄嘌呤氧化酶,改善尿酸代谢的紊乱。

3 结束语

我国核桃相关产品的加工主要以干果销售为主,其高附加值的精深加工产品较少。随着核桃油需求量的逐年增大、核桃油加工企业的增多,产生了大量的饼粕。核桃油的成本偏高,其主要原因是压榨制油后的副产物饼粕没有得到很好的利用,常被丢弃或用作饲料,附加值极低。核桃饼粕中蛋白质含量高达50%,经蛋白酶酶解后制备的核桃多肽,具有抗氧化、抗肿瘤、健脑、免疫调节等多种生物活性。核桃多肽的生物活性功能与其肽段的相对分子质量大小和氨基酸序列组成相关,但其相关作用机制并未完全清晰。目前,核桃多肽粉的生产技术已成熟,在今后的研究中将核桃多肽的生物活性功能与生产相结合,研发出核桃多肽相关功能性食品或药品,提高核桃加工油副产物的综合利用及其附加值。

参考文献:

- [1] 张有林,原双进,王小纪,等. 基于中国核桃发展战略的核桃加工业的分析与思考[J]. 农业工程学报,2015,31(21):1-8.
- [2] 易善军. 世界核桃生产概况及中国核桃提升策略[J]. 四川林业科技,2017,38(5):105-108.
- [3] 刘云高. 云南省核桃产业发展现状及对策分析[J]. 林业调查规划,2019,44(3):143-147.
- [4] 张庆祝,丁晓雯,陈宗道,等. 核桃蛋白质研究进展[J]. 粮食与油脂,2003(5):21-23.
- [5] 孙凤莉,李茜,墨锋涛,等. 核桃饼饲用营养成分分析[J]. 饲料研究,2010(10):37-38.
- [6] 珠娜,李勇. 核桃肽生物活性的研究进展[J]. 中国食物与营养,2018,24(12):58-62.
- [7] LI Y, YU J M. Research progress in structure - activity relationship of bioactive peptides[J]. J Med Food, 2014, 18(2):147-156.
- [8] 吕名蕊,史宣明,张骊,等. 核桃多肽功能特性及制备工艺研究进展[J]. 中国油脂,2013,38(5):34-38.
- [9] 缪福俊,耿树香,王洋,等. 核桃蛋白(肽)粉生产工艺实践[J]. 中国油脂,2019,44(3):138-140.
- [10] 李汉洋,李建杰,王帅,等. 核桃多肽的抗氧化活性及其分子量、氨基酸组成特性研究[J]. 食品工业科技,2018,39(13):1-8.
- [11] 刘威,闵伟红,刘春雷,等. 核桃清蛋白抗氧化肽的制备及其活性研究[J]. 食品研究与开发,2017,38(17):40-44.
- [12] 李艳伏,徐怀德,陈金海,等. 木瓜蛋白酶酶解核桃粕蛋白产物抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报,2008,8(5):8-14.
- [13] 郝常艳. 核桃多肽的制备条件优化及其抗氧化活性研究[D]. 太原:山西大学,2014.
- [14] 郭勇,秦汉雄,魏贞,等. 长白山核桃源五肽对过氧化氢诱导PC12细胞氧化损伤的保护作用及机理[J]. 食品科学,2019,40(13):143-149.
- [15] 杨子明,刘金磊,颜小捷,等. 核桃多肽对D-半乳糖诱导老年小鼠血脂水平的影响[J]. 食品科学,2015,36(9):181-184.
- [16] GU M, CHEN H P, ZHAO M M, et al. Identification of antioxidant peptides released from defatted walnut (*Juglans sigillata* Dode) meal proteins with pancreatin[J]. LWT - Food Sci Technol, 2015, 60(1):213-220.
- [17] CHEN N, YANG H M, SUN Y, et al. Purification and identification of antioxidant peptides from walnut (*Juglans regia* L.) protein hydrolysate[J]. Peptides, 2012(38):344-349.
- [18] LI F, WANG X J, PENG F, et al. Walnut protein hydrolysates play a protective role on neurotoxicity induced

- by *D* - galactose and aluminum chloride in mice [J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2308 - 2322.
- [19] 高辉, 欧阳晓晖, 苏秀兰. 生物活性肽抗肿瘤机制研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(3): 11 - 14.
- [20] HOSKIN D W, RAMAMOORTHY A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1778(2): 357 - 375.
- [21] 翟梦新, 赖莹, 崔犁, 等. 核桃仁蛋白木瓜酶水解物抑制癌细胞增殖[J]. *食品科技*, 2013, 38(9): 6 - 10.
- [22] LIAO W Z, LAI T, CHEN L Y, et al. Synthesis and characterization of a walnut peptides - zinc complex and its antiproliferative activity against human breast carcinoma cells through the induction of apoptosis [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(7): 1509 - 1519.
- [23] MA S H, HUANG D, ZHAI M X, et al. Isolation of a novel bio - peptide from walnut residual protein inducing apoptosis and autophagy on cancer cells [J]. *BMC Complem Altern M*, 2015, 15(1): 413 - 427.
- [24] LI X Y, GUO M L, CHI J T, et al. Bioactive peptides from walnut residue protein [J]. *Molecules*, 2020, 25(6): 1285 - 1298.
- [25] 包怡红, 于阳阳, 赵若诗. 酶解山核桃蛋白制备降血压肽的工艺[J]. *食品科学*, 2013, 34(1): 220 - 224.
- [26] 周慧江. 核桃蛋白源 ACE 抑制剂肽的酶法制备及分离、纯化[D]. 西安: 陕西科技大学, 2013.
- [27] WANG C, TU M L, WU D, et al. Identification of an ACE - inhibitory peptide from walnut protein and its evaluation of the inhibitory mechanism [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 1156 - 1166.
- [28] LIU M, DU M, ZHANG Y C, et al. Purification and identification of an ACE inhibitory peptide from walnut protein [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(17): 4097 - 4100.
- [29] 顾欣, 李迪, 侯雅坤, 等. 核桃蛋白源血管紧张素转化酶抑制剂的分离纯化[J]. *食品科学*, 2013, 34(9): 52 - 55.
- [30] LI W Z, ZHAO T T, ZHANG J N, et al. Effect of walnut protein hydrolysate on scopolamine - induced learning and memory deficits in mice [J]. *J Food Sci Technol*, 2017, 54(10): 3102 - 3110.
- [31] 邹娟. 核桃多肽对体内外老年痴呆实验模型的干预作用研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.
- [32] ZOU J, CAI P S, XIONG C M, et al. Neuroprotective effect of peptides extracted from walnut (*Juglans sigilata* Dode) proteins on $A\beta_{25-35}$ - induced memory impairment in mice [J]. *J Huazhong Univ Sci Technol [Med Sci]*, 2016, 36(1): 21 - 30.
- [33] 杜倩, 乌兰, 刘睿, 等. 核桃肽对幼年小鼠学习记忆能力的影响[J]. *中国生育健康杂志*, 2017, 28(6): 538 - 543.
- [34] 崔玲玉. 长白山核桃蛋白肽的制备及功能活性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2016.
- [35] 崔犁, 郭淼, 翟梦新, 等. 核桃仁蛋白中性蛋白酶水解物提高脾淋巴细胞和巨噬细胞功能[J]. *食品科技*, 2013, 38(9): 15 - 19.
- [36] 杨胜杰, 钟少达, 崔玉梅, 等. 核桃肽免疫调节作用的研究[J]. *北方药学*, 2019, 16(7): 129 - 131.
- [37] 张亭, 珠娜, 刘睿, 等. 核桃低聚肽润肠通便功能作用[J]. *中国公共卫生*, 2019, 35(9): 1225 - 1228.
- [38] 王攀, 范娜. 中性蛋白酶酶解核桃饼粕制备抑菌多肽的研究[J]. *食品工业*, 2018, 39(9): 153 - 157.
- [39] 乌兰, 刘睿, 杜倩, 等. 核桃肽对小鼠的抗疲劳作用[J]. *中国食物与营养*, 2018, 24(12): 50 - 54.
- [40] 段心妍. 核桃肽对雄性大鼠抗疲劳作用的研究[D]. 太原: 太原理工大学, 2014.
- [41] 李丽. 核桃多肽防治糖尿病物质基础及作用机制研究[D]. 武汉: 武汉工程大学, 2016.
- [42] LI Q, KANG X Y, SHI C C, et al. Moderation of hyperuricemia in rats via consuming walnut protein hydrolysate diet and identification of new antihyperuricemic peptides [J]. *Food Funct*, 2018, 9(1): 107 - 116.
-
- (上接第 38 页)
- [5] 黄玉华. 薄壳山核桃‘波尼’果实不同发育时期营养成分的动态变化[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2017.
- [6] 王蓓. 两个早实核桃品种果实生长发育与油体积积累[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2015.
- [7] 俞春莲. 薄壳山核桃果实成熟过程中主要营养物质变化规律研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2013.
- [8] 韩深, 卢晓宇, 邵瑞婷, 等. GC - FID 甲酯化法测定橄榄油中六种脂肪酸[J]. *分析实验室*, 2007, 26(1): 136 - 139.
- [9] 闫辉强, 后春静, 马君义, 等. 不同品种和成熟度的油橄榄果表型性状与脂肪酸组成及含量分析[J]. *中国油脂*, 2019, 44(4): 105 - 111.
- [10] 刘丙花, 赵登超, 韩传明, 等. ‘香玲’核桃坚果品质分析[J]. *山东林业科技*, 2015, 45(3): 21 - 26.
- [11] 何国庆, 俞春莲, 饶盈, 等. 山核桃果实成熟过程中矿物质元素及脂肪酸组分变化[J]. *浙江农林大学学报*, 2019, 36(6): 1208 - 1216.
- [12] 于沛沛, 于萌萌, 姜启兴, 等. 不同产地核桃仁的成分分析及营养评价[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(18): 296 - 299.
- [13] 张婷婷. 不同施肥处理对核桃生长、产量和坚果品质的影响[D]. 陕西 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [14] 虎海防. 不同主栽区核桃坚果品质研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2013.
- [15] 郝艳宾, 王克建, 王淑兰, 等. 几种早实核桃坚果中蛋白质、脂肪酸组成成分分析[J]. *食品科学*, 2002(10): 123 - 125.
- [16] 蔡达, 刘红芝, 刘丽, 等. 不同工艺制备核桃油品质比较及相关性分析[J]. *中国油脂*, 2014, 39(3): 80 - 84.