

# 体外模拟消化芝麻蛋白产生多肽的抗氧化性分析

芦鑫<sup>1,2</sup>, 胡东彬<sup>3</sup>, 贾聪<sup>1,2</sup>, 高锦鸿<sup>1,2</sup>, 孙强<sup>1,2</sup>, 黄纪念<sup>1,2</sup>

(1. 河南省农业科学院 农副产品加工研究中心, 郑州 450002; 2. 河南省农产品生物活性物质工程技术研究中心, 郑州 450002; 3. 河南农业大学 食品科学技术学院, 郑州 450002)

**摘要:**为证实芝麻蛋白在人体内消化可产生抗氧化肽, 采用体外模拟消化芝麻蛋白, 分析芝麻蛋白水解产生多肽的组成与抗氧化活性。结果显示: 在体外模拟消化模型中, 芝麻蛋白在 1 h 内丧失原有亚基结构, 最终水解为相对分子质量在 15 kDa 以下的多肽; 水解产生的多肽具有抗氧化性, 其中胃蛋白酶水解产生的多肽具有较强的 DPPH 自由基清除能力, 而胰蛋白酶与胰凝乳蛋白酶的水解有助于提升多肽的 ABTS 自由基清除能力。上述结果表明, 芝麻蛋白在人体内消化会产生抗氧化肽, 不同消化阶段的芝麻多肽组成有差异, 从而造成抗氧化活性的差别。

**关键词:**芝麻; 芝麻蛋白; 抗氧化肽; 体外模拟消化; 胃蛋白酶; 胰蛋白酶

中图分类号: TS229; TQ936.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2020)05-0063-05

## Antioxidant analysis of peptides produced by in vitro simulated digestion of sesame protein

LU Xin<sup>1,2</sup>, HU Dongbin<sup>3</sup>, JIA Cong<sup>1,2</sup>, GAO Jinhong<sup>1,2</sup>,  
SUN Qiang<sup>1,2</sup>, HUANG Jinian<sup>1,2</sup>

(1. Center of Agricultural and Sideline Products Processing of Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 2. Henan Engineering Research Centre of Bioactive Substances in Agricultural Products, Zhengzhou 450002, China; 3. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** In order to confirm sesame protein could generate antioxidant peptides during gastrointestinal digestion, in vitro simulated digestion of sesame protein was used to analyze changes of peptides composition and antioxidant activity. The results showed that sesame protein lost its original subunit structure within 1 h, and was finally hydrolyzed into peptides with the relative molecular weight below 15 kDa. Sesame peptides produced by in vitro simulated digestion displayed antioxidant activity. Peptides hydrolyzed by pepsin possessed higher DPPH free radical scavenging activity, while hydrolysis of trypsin and chymotrypsin could improve the ABTS free radical scavenging activity of peptides. According to above results, sesame protein could generate antioxidant peptides in the gastrointestinal digestion, and compositions of sesame peptides were various during different digestion stages, as a result, there were some differences in their antioxidant activity.

**Key words:** sesame; sesame protein; antioxidant peptides; in vitro simulated digestion; pepsin; trypsin

收稿日期: 2019-08-26; 修回日期: 2019-11-08

基金项目: 河南省农业科学院自主创新专项基金项目(2019ZC54); 国家特色油料产业技术体系(CARS-14)

作者简介: 芦鑫(1981), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为油脂加工(E-mail) xinlu1981@foxmail.com。

通信作者: 黄纪念, 研究员, 博士(E-mail) hjinian@sina.com。

芝麻营养价值较高, 是兼具药食两用的食物。传统医学认为芝麻具有延年益寿功能, 能补五内、益力气、长肌肉、填脑髓、润养五脏、补肺气、止心惊, 久服轻身不老<sup>[1]</sup>。现代医学已证实芝麻具有抗氧化、延缓衰老、保护肝脏、降血压等有益生理功能<sup>[2-7]</sup>。研究普遍认为芝麻的抗氧化功能主要与其含有 V<sub>E</sub>、

木脂素、多不饱和脂肪酸有关。芝麻中其他组分是否对其抗氧化功能有所贡献尚未有相关报道。

芝麻蛋白是芝麻重要组分之一,约占芝麻总质量的20%<sup>[8]</sup>。研究表明,芝麻蛋白经过酶解可以产生抗氧化肽<sup>[9-10]</sup>。然而,前人酶解芝麻蛋白制备抗氧化肽使用的蛋白酶以碱性蛋白酶为主,这与人体消化系统中的蛋白酶(胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰糜蛋白酶)在酶解位点上有明显差异,所形成的多肽也会显著不同。因此,芝麻蛋白在人体经过消化是否产生具有抗氧化活性的肽段存在盲区。芝麻是我国居民的常用食物之一,明确其营养功能特性,对于保障消费人群身体健康具有积极作用。

本研究采用体外模拟消化芝麻蛋白,分析在此过程中,蛋白水解度、多肽产率与抗氧化能力变化情况,进而归纳芝麻蛋白体内消化产生抗氧化肽的特征,为芝麻蛋白体内消化与营养功能研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

芝麻,购于驻马店平舆康博汇鑫油脂有限公司,其蛋白质含量(19.5±0.76)%,脂肪含量(49.02±1.08)%,总糖含量(22.98±0.51)%,水分含量(3.69±0.07)%,灰分含量(4.81±0.06)%。

胰蛋白酶(酶活250 U/mg)、胰凝乳蛋白酶(酶活250 U/mg)、胃蛋白酶(酶活≥250 U/mg),北京索莱宝科技有限公司;双色预染蛋白 Marker(相对分子质量15~150 kDa),上海雅酶生物科技有限公司;考马斯亮蓝 G-250、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、2,4,6-三硝基苯磺酸(TBNS)、2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ),美国 Sigma-Aldrich 公司;丙烯酰胺、N,N-亚甲基双丙烯酰胺、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、甘氨酸,美国 Amersco 公司;氢氧化钠、盐酸,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

DYCZ-24DN 型电泳仪,北京六一生物科技有限公司;Gel Doc XR<sup>+</sup> 凝胶成像系统,美国伯乐生命科学产品有限公司;DNM-9606 酶标分析仪,北京普朗技术有限公司;UV-6300 双光束型紫外可见分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;XS205 电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 芝麻蛋白的提取

取1000 g 芝麻,按照固液比1:6加入1 mol/L NaOH 溶液,剧烈搅拌10 min,搓芝麻,用蒸馏水漂

洗除去芝麻皮,60℃干燥得到去皮芝麻。将去皮芝麻粉碎至80目,采用索氏抽提脱脂得到芝麻粕。以芝麻粕为原料,采用袁东振等<sup>[11]</sup>的方法提取得到芝麻蛋白。经测定,芝麻蛋白的蛋白质含量为(92.26±0.21)%。

#### 1.2.2 模拟体内消化芝麻蛋白

参照文献[12-14]的方法,并稍作修改。取80 g 芝麻蛋白,加水920 mL 制成蛋白质质量浓度约为8 g/100 mL 的芝麻蛋白溶液,90℃加热30 min,随后降温至37.7℃,采用3 mol/L HCl 调节pH至1.5,加入2.944 g 胃蛋白酶水解4 h,随后加入3 mol/L NaOH 调节pH到8.3,加入2.944 g 胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶混合物(胰蛋白酶与胰凝乳蛋白酶活比为10:3)水解6 h。水解期间,每隔30 min 取样,沸水浴10 min 终止反应后,冷却至室温,用3 mol/L HCl 中和,再以8000 r/min 离心30 min,取上清液(酶解液)备用。

#### 1.2.3 酶解液水解度测定

参照 Adler-Nissen<sup>[15]</sup>的方法并略作修改。取酶解液,适当稀释后取0.125 mL 于试管中,加入1 mL pH 8.2 磷酸缓冲液和1 mL 质量浓度0.1 g/100 mL 的TNBS,铝箔遮光,在水浴锅中50℃振荡60 min 后,加入2 mL 0.1 mol/L HCl 终止反应,室温静置30 min,测定340 nm 处的吸光度。相同条件下,分别取0.125 mL 的0~2 mmol/L 的L-亮氨酸与TNBS 反应,制作标准曲线。按下式计算蛋白水解度。

$$\text{水解度} = \frac{h}{h_{\text{tot}}} \quad (1)$$

式中: $h$  为1 g 酶解物被酶解所含的肽键量,mmol/g; $h_{\text{tot}}$  为每克原料蛋白质总的肽键量,mmol/g,芝麻蛋白的 $h_{\text{tot}}$  取8 mmol/g<sup>[16]</sup>。

#### 1.2.4 多肽产率测定

取0.5 mL 酶解液于 Amicon Ultra-4 超滤离心管(截留相对分子质量30 kDa)中,以8000 r/min 离心30 min,取透过液与0.5 mL 酶解液采用考马斯亮蓝法测定多肽与蛋白质含量<sup>[17]</sup>。采用下式计算多肽产率( $P_Y$ )。

$$P_Y = \frac{M_p}{M_T} \times 100\% \quad (2)$$

式中: $M_p$  为透过液中多肽含量; $M_T$  为0.5 mL 酶解液中蛋白质含量。

#### 1.2.5 芝麻蛋白及其酶解液的组成分析

分别取1.2.2 中的芝麻蛋白溶液和酶解液1 mL,加入1 mL 电泳处理液,在100℃水浴加热3

min, 10 000 r/min 离心 10 min 后收集上清液, 用于聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS - PAGE) 分析。电泳条件: 浓缩胶质量分数 3%, 分离胶质量分数 12.5%, 上样量 5  $\mu$ L, 浓缩胶时电流采用 12 mA, 进入分离胶电流采用 30 mA。凝胶经过脱色后, 采用 Image Lab 5.0 分析谱带<sup>[18]</sup>。

### 1.2.6 芝麻蛋白酶解液抗氧化能力分析

#### 1.2.6.1 DPPH 自由基及 ABTS 自由基清除能力测定

将酶解液中多肽稀释到质量浓度 0.5 mg/mL, 按参考文献<sup>[16]</sup>测定其 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除率。

#### 1.2.6.2 总抗氧化能力的测定 (FRAP 法)

取 50  $\mu$ L 酶解液加入到 96 孔酶标板中, 加入 150  $\mu$ L FRAP 工作液 (由 pH 3.6、0.3 mol/L 醋酸盐缓冲液, 10 mmol/L TPTZ, 20 mmol/L FeCl<sub>3</sub> 溶液以体积比 10:1:1 混合), 振荡 30 s, 37  $^{\circ}$ C 避光反应 30 min, 在 593 nm 波长处测定吸光度。另以 0 ~ 2 mmol/L FeSO<sub>4</sub> 标准溶液代替样品作标准曲线。样品的总抗氧化能力以具有相同吸光度的 FeSO<sub>4</sub> 的浓度表示, 单位为 mmol/g<sup>[19]</sup>。

#### 1.2.7 数据处理

无特殊说明, 所有试验平行测定 3 次, 采用 IBM SPSS25 进行单因素方差分析 (Duncan 算法), 显著水平为 0.05, 极显著水平为 0.01。同一曲线上带有相同小写字母的数据在 0.05 水平上无显著差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 体外模拟消化芝麻蛋白水解度与多肽产率的变化 (见图 1)

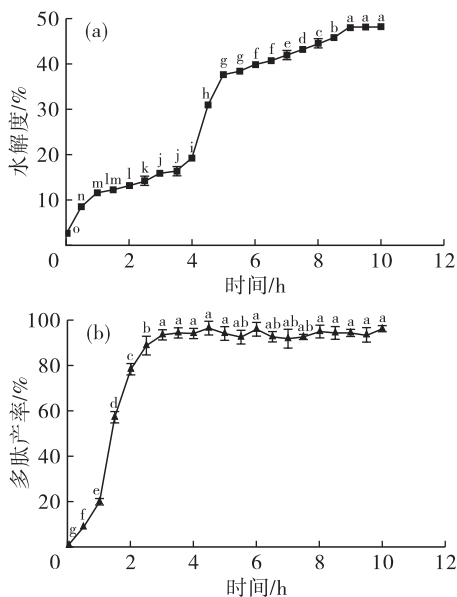


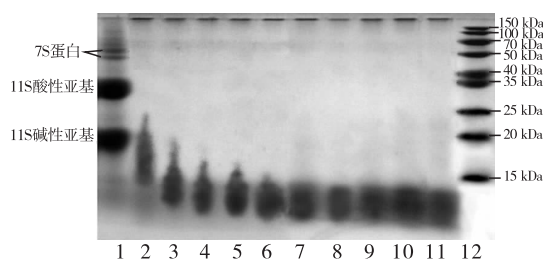
图 1 体外模拟消化芝麻蛋白的水解度 (a) 与多肽产率 (b)

由图 1(a) 可知: 随着消化时间的延长, 芝麻蛋

白的水解度逐渐上升, 最终趋于稳定; 当进入胰糜蛋白酶消化阶段, 芝麻蛋白的水解度有显著上升。这是由于相较于胃蛋白酶 (胃蛋白酶的水解位点主要集中在 Phe、Tyr、Trp 和 Leu), 胰糜蛋白酶的水解位点更加广泛 (胰蛋白酶水解位点是 Arg 与 Lys, 胰凝乳蛋白酶主要作用于 Trp、Tyr、Phe、Leu、Met、His)<sup>[20]</sup>, 芝麻蛋白可以被水解得更加彻底, 从而导致水解度显著增加。

伴随着芝麻蛋白水解度的上升, 多肽产率逐渐增加, 消化 3 h 后, 虽然芝麻蛋白水解度还持续上升, 但多肽产率趋于稳定 (见图 1(b))。这是由于测定多肽产率时, 采用截留相对分子质量 30 kDa 超滤离心管分离消化液中的蛋白与多肽, 当多数多肽相对分子质量低于 30 kDa 后, 随着继续消化, 肽键断裂造成水解度上升, 多肽平均相对分子质量继续减少, 多肽更容易通过超滤膜, 而透过超滤膜的多肽总质量基本无变化, 因而多肽产率无明显变化。

### 2.2 体外模拟消化芝麻蛋白组成的变化 (见图 2)



注: 泳道 1 ~ 11 分别是芝麻蛋白体外模拟消化 0 ~ 10 h (间隔 1 h) 的样品; 泳道 12 为标准蛋白。

图 2 芝麻蛋白体外模拟消化样品的 SDS - PAGE 图谱

由图 2 可见, 芝麻蛋白主要由 7S 和 11S 蛋白组成 (泳道 1)<sup>[21]</sup>, 随着消化的进行, 两种蛋白被迅速破坏, 转化成低分子多肽, 无明显的特征条带 (泳道 2 ~ 4), 最终芝麻蛋白被消化成相对分子质量小于 15 kDa 的多肽 (泳道 11)。上述结果佐证多肽产率结果的同时, 也表明芝麻蛋白易于被人体消化。

### 2.3 体外模拟消化芝麻蛋白产生多肽的抗氧化性 (见图 3)

由图 3(a) 可见, 体外模拟消化芝麻蛋白过程中, 消化时间在 0 ~ 1.5 h, 芝麻蛋白水解产生的多肽的 DPPH 自由基清除率迅速上升, 而在 2 ~ 6 h 间, 多肽的 DPPH 自由基清除率有较大波动, 随后随消化时间的延长, 多肽的 DPPH 自由基清除率趋于稳定。上述变化的原因可能是在消化初始阶段, 芝麻蛋白水解产生具有抗氧化活性的多肽, 导致 DPPH 自由基清除率上升, 随着胰蛋白酶与胰凝乳蛋白酶的加入, 由于酶切位点的差异, 由胃蛋白酶水解产生

的多肽被水解产生新的多肽,不同多肽抗氧化活性存在差异,导致 DPPH 自由基清除率有较大波动,但随着消化的进行,多肽组成也趋于稳定,此时 DPPH 自由基清除率也趋于稳定。

由图 3(b)可见,由胰糜蛋白酶消化产生的多肽其 ABTS 自由基清除能力显著强于由胃蛋白酶消化产生多肽的,这与芝麻多肽组成与大小有关。在胃蛋白酶水解阶段,芝麻蛋白水解程度较低,多肽相对分子质量较大,内部疏水氨基酸暴露较少;而进入胰糜蛋白酶作用阶段,芝麻蛋白水解程度高,多肽相对分子质量较小,内部疏水氨基酸暴露较多。大量研究表明,低相对分子质量的多肽由于分子结构简单,活性中心暴露,其抗氧化活性强于高相对分子质量的多肽,同时疏水氨基酸通过向自由基提供电子,可提升多肽的抗氧化活性<sup>[22]</sup>。

由图 3(c)可见,芝麻蛋白经过体外模拟消化产生的多肽具有一定的还原三价铁离子的能力,其最

大值出现在 7 h,随后有所回落。对比 DPPH 自由基清除能力与 ABTS 自由基清除能力的结果,发现芝麻蛋白经过体外模拟消化产生的多肽的抗氧化活性,在不同的评价方法中变化规律存在差异,即高 DPPH 自由基清除能力的多肽,其 ABTS 自由基清除能力与 FRAP 值并非也高。产生上述差异的原因:除不同评价方法引起的差异外,芝麻多肽的自身抗氧化特性也存在差别,有些芝麻抗氧化肽 DPPH 自由基清除能力强于 ABTS 自由基清除能力,而有些芝麻抗氧化肽 ABTS 自由基清除能力较强,如芝麻抗氧化肽丙氨酸-甘氨酸-谷氨酸-谷酰胺-甘氨酸-苯丙氨酸-谷氨酸-酪氨酸-缬氨酸-苏氨酸-苯丙氨酸-精氨酸(AGEQGFYVTFR)展现较强的 DPPH 自由基清除能力,而丝氨酸-酪氨酸-脯氨酸-苏氨酸-谷氨酸-半胱氨酸-精氨酸-蛋氨酸-精氨酸(SYPTECRMR)表现较强的 ABTS 自由基清除能力<sup>[10]</sup>。

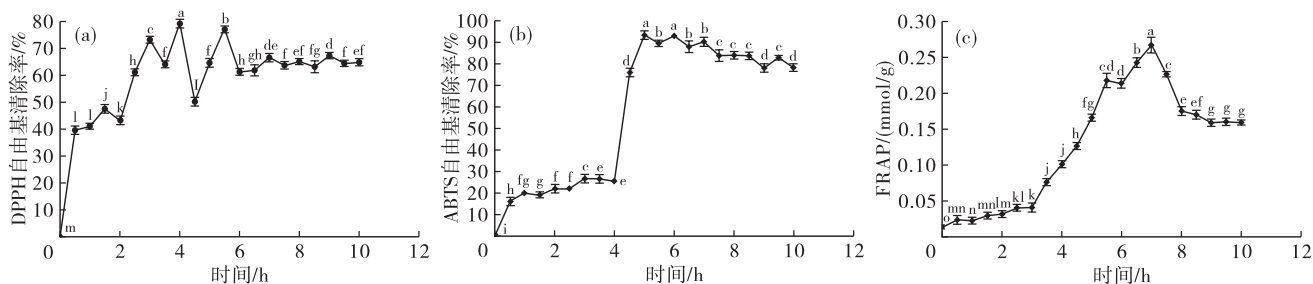


图 3 体外模拟消化芝麻蛋白产生多肽的 DPPH 自由基清除率(a)、ABTS 自由基清除率(b)和总抗氧化能力(c)

### 3 结论

在体外模拟消化过程中,芝麻蛋白中的 7S 与 11S 蛋白会被迅速水解成为多肽,经胃蛋白酶水解 4 h,胰糜蛋白酶水解 6 h,最终多肽的相对分子质量在 15 kDa 以下。芝麻蛋白经过体外模拟消化产生的多肽具有抗氧化性,在消化中段时,多肽呈现较强的 DPPH 自由基清除能力,进入消化末期,多肽的 ABTS 自由基清除能力较强。上述结果表明,不同消化时段,因多肽组成的不同,其抗氧化活性存在差异。

后续将对体外模拟消化芝麻蛋白产生的抗氧化肽进行分离纯化、鉴定结构,明确其化学结构,并合成相应多肽,验证其活性并分析构效关系,同时开展细胞与动物试验,以证实其功效,从而为芝麻抗氧化肽的应用提供理论基础与数据支撑。

### 参考文献:

[1] 李娜. 芝麻的营养成分与食疗保健作用[J]. 中国食物与营养, 2008(5):55-57.  
 [2] 刘帅. 芝麻素转化为细辛素条件的研究及其抗衰老应用[D]. 郑州:河南工业大学, 2016.  
 [3] 吴向起, 杨解人. 芝麻素的抗氧化作用及其对代谢综合

征大鼠肾病的影响[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(8): 1065-1069.

[4] GHAFOORUNISS A, HEMALATH S, RAO M V. Sesame lignans enhance antioxidant activity of vitamin E in lipid peroxidation systems[J]. Mol Cell Biochem, 2004, 262(1/2): 195-202.  
 [5] NAKAI M, HARADA M, NAKAHARA K. Novel anti-oxidative metaolites in rat liver with ingested sesamin[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(6): 1666-1670.  
 [6] 郭莉群, 杨解人, 孔祥. 芝麻素对高脂血症大鼠血脂及脂肪肝形成的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(2): 55-57.  
 [7] NOGUCHI T, IKEDA K, SASAKI Y, et al. Effects of vitamin E and sesamin on hypertension and cerebral thrombogenesis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats[J]. Clin Exp Pharmacol P, 2004, 31: 24-26.  
 [8] 陶然, 何东平, 胡传荣, 等. 超声波辅助提取芝麻蛋白的工艺研究[J]. 中国油脂, 2014, 39(5): 23-26.  
 [9] CHATTERJEE R, DEY T K, GHOSH M, et al. Enzymatic modification of sesame seed protein, sourced from waste resource for nutraceutical application[J]. Food Bioprod Process, 2015, 94: 70-81.

(下转第 81 页)

从操作费用角度看,化学法每吨油每天的操作费用是35.22美元,略高于酶法酯交换的28.08美元。化学法酯交换费用高的原因是生产过程中消耗的蒸汽、电比酶法酯交换的高,以及过程中需要用到柠檬酸和脱色白土。更重要的是化学法酯交换高油损耗带来的费用,因为甲醇钠催化剂的加入会导致一系列的副反应,如酯化产生甲酯,皂化产生皂类。酶法酯交换78%的操作费用来自于酶的购买。当然,表中计算的酶法酯交换的费用是理想状态下的,由于酶是蛋白质,容易失活和被磷脂和皂类堵塞,若储存温度和方式不当或者生产过程中原料油指标控制不好,酶很容易失效。再加上酶法酯交换生产过程中需要定期更换酶,需要的人工理应比化学法的人工多,废弃的酶势必会吸附一定的油,这部分损失也需要考虑。此外,酶法酯交换生产过程中酶活力是不断降低的,需要根据酯交换的效果控制油的流量,操作和控制复杂程度上比化学法的高。但在产品性能上,酶法酯交换和化学法酯交换是非常相近的<sup>[10]</sup>。

### 3 结论

与化学法酯交换相比,酶法酯交换具有更少的副反应发生,增加甾醇的保留率,色泽好,更少的后精炼花费等优势,这些优势也使酶法酯交换近年被越来越多的客户选择。但实际上,酶法酯交换被广泛应用最重要原因是由于其具有更少的油损耗,并不是因为其具有更好的油产品性能,因为酶法酯交换产品油的固脂溶解曲线与化学法是相近的,两者并没有明显区别。因此,酯交换方法的选择需要综

合考虑投资费用、操作费用、产品要求、生产情况等多种因素。

### 参考文献:

- [1] PULIGUNDLA P, VARIYA P S, KO S. Emerging trends in modification of dietary oils and fats, and health implications—a review[J]. *Sains Malays*, 2012, 41(7): 871–877.
  - [2] 余张萍,陈伟. 反式脂肪酸,最好为0[J]. *大众医学*, 2018(9): 42–43.
  - [3] 仪凯,彭元怀,李建国. 我国食用油脂改性技术的应用与发展[J]. *粮食与油脂*, 2017, 44(2): 1–3.
  - [4] 唐传核,彭志英. 酯交换技术及其在油脂工业中的应用[J]. *中国油脂*, 2002, 27(2): 59–62.
  - [5] 王辉,唐年初,赵晨伟. 棉籽油与棕榈硬脂化学酯交换法制备零反式脂肪酸起酥油的研究[J]. *中国油脂*, 2014, 39(9): 36–39.
  - [6] 陈洪建,李进伟,刘元法. 猪油与棕榈硬脂酶法酯交换制备零反式脂肪酸起酥油的性质研究[J]. *中国油脂*, 2013, 38(10): 27–30.
  - [7] FERNANDEZ – LAFUENTE R. Lipase from *Thermomyces lanuginosus*: uses and prospects as an industrial biocatalyst[J]. *J Mol Catal B Enzym*, 2010, 62(3/4): 197–212.
  - [8] PENG L, XU X, MU H, et al. Production of structured phospholipids by lipase – catalyzed acidolysis: optimization using response surface methodology[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2002, 31(4): 523–532.
  - [9] HAMM W. *Edible oil processing*[M]. 2nd ed. UK: A John Wiley & Sons, Ltd., Publication, 2013: 193–194.
  - [10] 杨博,杨继国,李行方,等. 棕榈油硬脂和大豆油酶法酯交换的研究[J]. *中国油脂*, 2006, 31(1): 27–29.
- 
- (上接第66页)
- [10] LU X, ZHANG L X, SUN Q, et al. Extraction, identification and structure – activity relationship of antioxidant peptides from sesame (*Sesamum indicum* L.) protein hydrolysate[J]. *Food Res Int*, 2019, 116: 707–716.
  - [11] 袁东振,张国治,黄纪念,等. 用亚临界芝麻粕制备芝麻蛋白的工艺研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2014, 35(6): 49–55.
  - [12] 周存山,秦晓佩,余筱洁,等. 绿鳍马面鲈鱼皮蛋白抗氧化肽模拟胃肠消化制备[J]. *农业机械学报*, 2015, 46(8): 211–216.
  - [13] MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus[J]. *Food Funct*, 2014, 5: 1113–1124.
  - [14] GOLDBERG D M, WORMSLEY K G. The interrelationships of pancreatic enzymes in human duodenal aspirate[J]. *Gut*, 1970, 11: 859–866.
  - [15] ADLER – NISSEN J. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitro benzenesulfonic acid[J]. *J Agric Food Chem*, 1979, 27(6): 1256–1262.
  - [16] 芦鑫,姜梦楠,张丽霞,等. 制备芝麻抗氧化肽的蛋白酶筛选[J]. *中国油脂*, 2018, 43(11): 28–33.
  - [17] 余冰宾. *生物化学实验指导*[M]. 2版. 北京:清华大学出版社, 2010: 151–157.
  - [18] 芦鑫,孙强,张丽霞,等. 亚临界水水解脱脂高温芝麻饼粕中蛋白与糖类研究[J]. *中国粮油学报*, 2016, 31(10): 66–72.
  - [19] 朱尚彬,聂少平,朱盼,等. 黑灵芝不同溶剂提取物抗氧化活性比较研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(17): 98–101.
  - [20] KEIL B. *Specificity of proteolysis* [M]. New York: Springer – Verlag Berlin Heidelberg, 1992: 335.
  - [21] ACHOURI A, NAIL V, BOYE J I. Sesame protein isolate, fractionation, secondary structure and functional properties[J]. *Food Res Int*, 2012, 46: 360–369.
  - [22] SARMADI B H, ISMAIL A. Antioxidative peptides from food proteins; a review[J]. *Peptides*, 2010, 31: 1949–1956.