

## 油料蛋白

## 菜籽低聚肽的生理功能研究进展

韩 领,张 珍,夏晓洋,向 霞

(中国农业科学院油料作物研究所,油料油脂加工技术国家地方联合工程实验室,农业部油料作物生物学与遗传育种重点实验室,油料脂质化学与营养湖北省重点实验室,武汉 430062)

**摘要:**油菜籽是我国重要的食用植物油原料之一,其加工副产物菜籽饼粕是宝贵的植物蛋白资源。介绍了菜籽低聚肽的组成、结构,以及其降血压、抗氧化、抗肿瘤、增强免疫等功能特性,以期为深入研究和开发菜籽低聚肽产品提供参考。

**关键词:**菜籽蛋白;菜籽低聚肽;生理功能

中图分类号:TS218;TQ936 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)12-0055-04

## Progress in physiological functions of rapeseed oligopeptide

HAN Ling, ZHANG Zhen, XIA Xiaoyang, XIANG Xia

(Hubei Key Laboratory of Lipid Chemistry and Nutrition, Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture, Oil Crops and Lipids Process Technology National &amp; Local Joint Engineering Laboratory, Oil Crops Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China)

**Abstract:** Rapeseed is an important raw material of edible vegetable oil in China. Rapeseed meal is a great plant protein resource. The composition, structure, and the biological activities of anti-oxidation, antitumor, reducing blood pressure and immunity enhancement of rapeseed oligopeptide were introduced so as to provide references for further investigation and development of rapeseed oligopeptide.

**Key words:** rapeseed protein; rapeseed oligopeptide; biological activity

油菜是我国最重要的油料作物之一,在油料生产中所占比重约40%,同时也是世界上仅次于大豆和棕榈的第三大油料作物<sup>[1]</sup>。2017年度我国油菜籽播种面积718.0万hm<sup>2</sup>,单位产量为1.992t/hm<sup>2</sup>,2017年我国油菜籽产量约1430万t<sup>[2]</sup>。目前我国已经基本实现低芥酸低硫苷双低油菜籽品种化种植。菜籽饼粕是油菜籽榨油后的副产物,占油菜籽的45%~65%。菜籽饼粕中蛋白质含量高达35%~45%<sup>[3]</sup>,其氨基酸生物效价PER值与WHO/FAO推

荐值相近,甚至超过脱脂大豆粕和酪蛋白,是优质的植物蛋白资源<sup>[4]</sup>。加拿大有研究表明,用双低菜籽饼作高蛋白饲料源时,奶牛日产奶量提高了10%以上<sup>[5]</sup>。潜力挖掘菜籽蛋白附加值,从油菜籽中提取生物活性物质,成为了近些年来人们关注的焦点。本文系统阐述有高应用前景的菜籽低聚肽的生物活性和生理功能研究情况,以期为菜籽蛋白的利用和菜籽低聚肽产品的开发提供参考。

## 1 菜籽低聚肽的组成和结构

菜籽低聚肽(Rapeseed oligopeptide)主要是以菜籽蛋白、菜籽粕、菜籽粉为底物,利用酸水解、酶水解或微生物降解等方式,由相对分子质量大的菜籽蛋白转化而成,其聚合度较低,由2~10个氨基酸构成,相对分子质量在1000以下的短肽占85%以上<sup>[6]</sup>。传统观念认为,蛋白质只有转变为氨基酸才能被人体吸收和利用。而现代研究发现,蛋白质在体内消化后除了以氨基酸形式被吸收外,还以低聚肽(尤其是二肽、三肽)形式被吸收,小分子

收稿日期:2018-04-22;修回日期:2018-08-14

基金项目:国家自然科学基金青年基金(31601438);中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2013-OCRI);现代农业产业技术体系(CARS-13);公益性行业(农业)科研专项(201303072);国家重点研发计划项目(2016YFD0401401);湖北省技术创新专项重大项目(2017ABA144)

作者简介:韩 领(1987),女,硕士研究生,研究方向为油料脂质营养(E-mail)13476160201@163.com。

通信作者:向 霞,副研究员,博士(E-mail)xiangxia@caas.cn。

肽类不仅具有良好的酸溶性、低黏度、抗凝胶形成性,并且在体内消化吸收快,利用率高,明显优于菜籽蛋白<sup>[7]</sup>。

汪一帆<sup>[8]</sup>采用液质联用和蛋白数据库检索解析表明,菜籽低聚肽 RSP-4 是由 Asp、Phe、Tyr、Pro 等氨基酸组成。通过拉曼光谱解析,在 RSP-4 主链构象找出了 C—H、C—N 伸缩振动,确定 RSP-4 二级结构是  $\beta$ -转角;通过红外光谱解析,在 4 000 ~ 2 500  $\text{cm}^{-1}$  伸缩振动区可能存在—CH<sub>3</sub> 伸缩振动;在 1 900 ~ 1 200  $\text{cm}^{-1}$  双键伸缩振动区可能存在 C=C 伸缩振动;在 1 800(1 300) ~ 900  $\text{cm}^{-1}$  指纹区域可能存在 C—O 伸缩振动。结构决定功能,蛋白质结构中  $\alpha$ -螺旋的主要功能是稳定构象,不直接参与蛋白质功能;而  $\beta$ -折叠和  $\beta$ -转角所构成的构象则有很大的可变性和可塑性。低聚肽相对分子质量较小,一般没有  $\alpha$ -螺旋,有  $\beta$ -折叠和  $\beta$ -转角,构象可变,可参与体内化学信息传递物质和沟通各类细胞间的协同等。

## 2 菜籽低聚肽的功能特性

菜籽低聚肽具有多种生物活性<sup>[9]</sup>。肖萌<sup>[10]</sup>利用纳豆芽孢杆菌和短乳杆菌对菜籽粕进行单菌、混菌的固态发酵,在接种量 1.5%、温度 37℃、料水比 1:1.05、两菌接种比例 1:1 的条件下,通过动物试验证明发酵菜籽粕在生理水平上对秀丽线虫产生保护功效。菜籽低聚肽水解前以非活性状态存在于蛋白质长链中,经过适当的蛋白酶水解后,其活性被释放出来,且相对分子质量越小,其功能特性越明显<sup>[11]</sup>。国内外关于菜籽低聚肽的功能特性的研究报道主要有以下几方面。

### 2.1 降血压活性

肾素-血管紧张素系统(RAS)是调节机体血压正常、维持体液平衡的重要系统,血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)可以降低因 RAS 紊乱而导致的高血压<sup>[12]</sup>。食源性蛋白经蛋白酶水解后产生的低聚肽有血管紧张素转化酶抑制剂活性,能够抑制血管紧张素 I (Ag I) 转换成血管紧张素 II (Ag II),也能作用缓激肽系统,使其失去活性,从而降低血压。低聚肽通过抑制活性可以起到调控血压的作用<sup>[13-14]</sup>。大多数有此作用机理的化学降压药物,如普利类降压药,伴随有 20% 人群长期干咳,血肌酐、尿素氮和蛋白尿高,过敏性血管神经性水肿,有金属味的味觉障碍,首剂低血压以及高血钾等典型的不良反应局限性<sup>[15-16]</sup>。食源性降血压肽因其天然、安全、营养,对高血压患者可以起到降血压作用而无毒副作用,

有化学药物不可比拟的优越性。

Marczak 等<sup>[17]</sup>从油菜籽中提取分离 IY、RIY、VW 和 VWIS 4 种低聚肽,自发性高血压大鼠分别口服这 4 种低聚肽,其中前两者的  $IC_{50}$  值分别为 3.7  $\mu\text{mol/L}$  和 1.6  $\mu\text{mol/L}$ ,这 4 种低聚肽均在 4 h 内达到最大抑制效果,此外,在老年大鼠中发现 RIY 有抗高血压作用。Yamada 等<sup>[18-19]</sup>从菜籽蛋白水解物中分离降血压肽,命名为 rapakinin,其氨基酸序列为 Arg-Ile-Tyr,在自发性高血压大鼠肠系膜动脉中以血管内皮细胞依赖表现出舒张活性,半数有效浓度  $EC_{50}$  为 5.1  $\mu\text{mol/L}$ ,并且发现浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$  的 rapakinin 作用靶点是通过前列环素 PGI<sub>2</sub>-IP 受体,其次是胆囊收缩素 CCK-CCK1 受体途径舒缓肠系膜动脉。模型大鼠口服 15 mg/kg 剂量的 rapakinin,抗高血压活性被 CCK1 和 IP 拮抗剂阻断。试验认为 rapakinin 抗高血压活性可能主要由 CCK1 和 IP 受体依赖性的血管舒张诱导,来实现扩张肠系膜动脉的能力。He 等<sup>[20-21]</sup>研究发现从胃蛋白酶和胰蛋白酶水解物中分离菜籽低聚肽 GHS (Gly-His-Ser) 有降血压活性,并具有持续的降血压效果。随后,通过电场力驱动的电渗析-膜分离技术将菜籽蛋白碱性蛋白酶水解物(ORPH)分离成阳离子肽、阴离子肽和分离残留的水解物(FRPH),ORPH 的  $IC_{50}$  值为 (0.093 2 ± 0.003 7) mg/mL; 在 100 mg/kg 剂量下,灌胃后自发性高血压大鼠的血压降低幅度最大,并且在 24 h 观察时间内,分离组分降血压效果好于药用降血压剂卡托普利(Captopril, 10 mg/kg)。

### 2.2 抗氧化活性

氧化性损伤与生物体的衰老过程、动脉硬化以及肿瘤等疾病的发生发展密切相关,由自由基介导的蛋白质氧化产物作为体内氧化性损伤的特异性标志物,是近几年自由基生物研究的热点之一<sup>[11]</sup>。生命体的代谢过程会产生大量的自由基,而自由基会引起蛋白质损伤、脂质过氧化,进而引起各种病变,抗氧化多肽具有清除自由基、防止脂质过氧化的作用。菜籽低聚肽功能上属于抗氧化肽,可以很好地清除体内自由基,有氧化应激保护细胞作用。

张瑞<sup>[22]</sup>从发酵菜籽粕中,通过 Sephadex G-15 分离纯化得到二肽和八肽两种相对分子质量不同的活性小肽。发现这两种小肽具有较强的还原力,对  $\cdot\text{OH}$  和 DPPH 自由基均具有较强的清除作用,且抗氧化活性随着小肽相对分子质量的降低而增强。其中 1 mg/mL 的二肽、八肽的 DPPH 自由基清除率分别为 83.47%、76.18%; 1.2 mg/mL 的二肽、八肽

·OH清除率分别达到96.97%、69.27%；3 mg/mL的二肽和5 mg/mL的八肽的总还原力相当于0.5 mg/mL的谷胱甘肽。卢晓会<sup>[23]</sup>用Sephadex G-15葡聚糖凝胶分离纯化多肽,得到3个组分,经HPLC测定各组分的相对分子质量分别为365、300、120,通过对·O<sub>2</sub>、·OH、ABTS自由基、DPPH自由基的清除能力以及其还原力5个抗氧化指标来评估各组分的抗氧化能力。结果表明:抗氧化能力的强弱与所得低聚肽的相对分子质量大小呈反比关系,即相对分子质量越小,其抗氧化活性越强。栾霞等<sup>[24]</sup>研究表明,菜籽水解蛋白具有很好的抗氧化能力,且随浓度提高而增强。凝胶过滤色谱分离出具有较高抗氧化活性的组分RSP-4和RSP-5,1 mg/mL的RSP-4和RSP-5的·OH清除率分别为53.9%和73.74%。大孔吸附树脂进一步纯化的结果表明,水解蛋白良好的体外功能性质主要由其中的肽类物质贡献,而这些肽类物质主要是一些相对分子质量小于500的小肽。研究发现,菜籽蛋白水解物具有清除自由基的功能,其原因可能是含有丰富的质子与自由基发生反应,将其转变为相对稳定的物质,最终实现清除自由基的效果<sup>[25]</sup>。

### 2.3 抗肿瘤活性

伴随蛋白质化学以及肽化学研究的不断深入,发现了具有各种生理活性的肽类分子,其中抗肿瘤多肽具有抑制或杀死肿瘤细胞的作用,目前已从众多动植物中分离纯化出有抑制肿瘤活性的肽;同时发现和寻找能够激活生物体自身免疫功能的肿瘤抗原肽成为开发研究的新途径<sup>[11]</sup>。菜籽低聚肽是一种抗肿瘤肽,表现出抗肿瘤活性。

鞠兴荣等<sup>[26]</sup>等研究发现,相对分子质量小于1 000的菜籽蛋白胃肠道蛋白酶水解物表现出较强的抗肿瘤活性,对HepG2人胃癌细胞体外有抑制作用,其氨基酸组成以Leu、Asp含量较高。汤尚文等<sup>[27]</sup>发现,菜籽低聚肽对S180肿瘤的生长具有抑制作用,同时明显提高荷瘤小鼠的免疫功能,提高荷瘤小鼠血清溶血素HC IgM的形成,增强巨噬细胞吞噬能力和迟发型超敏反应强度。Wang<sup>[28]</sup>、Xu<sup>[29]</sup>等选择分离出一种具有高活性的菜籽肽组分RSP-4-3-3,通过反相高效液相色谱(RP-HPLC)与电喷雾质谱(ESI-MS/MS)技术,分析其氨基酸序列为Trp-Thr-Pro。显示其能显著改变HepG2细胞的形态学特征,引起细胞凋亡,从而抑制HepG2细胞的增殖。随后,通过酶消化和Sephadex凝胶过滤柱从菜籽粕中分离制备一种菜籽肽RSP2,RSP2可将HeLa细胞G0/G1期的比例从55%降低到43%,

并将凋亡细胞的比例从2.9%增加到40%,研究结果突出显示了RSP2是一种对人类癌细胞具有抑制作用的生物活性肽。

### 2.4 其他

国内外学者对有效利用低聚肽进行了大量探索和研究<sup>[30-32]</sup>,低聚肽对人体的生命活动和健康具有重要的意义。如将菜籽大分子肽和小分子肽添加到CHO细胞培养基中,在质量浓度为4 g/L时,细胞生长速率显著增加<sup>[33]</sup>;有报道用碱性蛋白酶水解菜籽蛋白4 h后,其中低聚肽Asn-Ser-Met锌螯合率最高,高于同浓度的谷胱甘肽(GSH)( $P < 0.05$ ),为进一步开发具有高吸收率和高生物学利用率的锌补充剂提供了新载体<sup>[34]</sup>;用Sephadex G-15分离菜籽肽,收集得到4个主要组分,其中G1组分质量浓度为1 mg/mL时,对凝血酶的抑制率达到96.8%,进一步用半制备HPLC分离G1组分,组分G1-R8质量浓度为0.41 mg/mL时,可以完全抑制凝血酶的活性<sup>[35]</sup>。

### 3 结束语

低聚肽有良好生理活性,不会产生过敏反应,成本低,加工性能好,因此菜籽低聚肽具有极大的市场开发利用价值,近年来备受重视,然而每年仅有少数菜籽粕掺入饲料使用,造成资源的浪费和经济损失。

小麦低聚肽和玉米低聚肽先后被国家批准作为新资源食品。目前,菜籽粕功能开发相对较单一且不深入,而菜籽蛋白的生物活性主要归因于组成蛋白质的菜籽肽和部分游离氨基酸。目前,国内外对菜籽活性多肽功能性的研究已非常多,但低聚肽生物活性利用度更高,还有很多潜在功能未被发掘,当前开发菜籽活性低聚肽要突破的瓶颈是如何低成本的生产高纯度、高附加值的产品,如针对食品、饲料、医药等不同的群体,开发具有不同功能的活性肽,对扩大蛋白深加工的应用领域具有理论意义与实践价值,使菜籽低聚肽在食品营养健康领域具有更广阔的发展前景。

### 参考文献:

- [1] NACZK M, SHAHIDI A F. Nutritional implications of canola condensed tannins[J]. ACS Sym Ser, 1997,662: 186-208.
- [2] 陈艳军. 2017年中国菜籽及菜油市场分析[N]. 粮油市场报, 2018-02-27(B03).
- [3] 王微星. 菜籽蛋白的制备及其酶解产物的醒酒功效[D]. 浙江金华:浙江师范大学, 2012.
- [4] 赵蓓, 王承明, 张沙沙. 菜籽粕中清蛋白的超声辅助提取及氨基酸组成研究[J]. 中国粮油学报, 2015(10): 32-36.

- [5] 胡增民, 王汉中. 实施“双全战略”提升油菜整体效益 [N]. 粮油市场报, 2018-03-24(B01).
- [6] 刘文颖, 林峰, 陈亮, 等. 食源性低聚肽的血管紧张素转化酶(ACE)抑制作用[J]. 食品科技, 2016(2): 9-13.
- [7] 高瑀珑, 郑锐, 王玉梅, 等. 菜籽分离蛋白分子量分布及酶解条件的研究[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(6): 38-45.
- [8] 汪一帆. 菜籽肽的生物活性与构象研究[D]. 天津: 天津大学, 2010.
- [9] ZHANG S B, WANG Z, XU S Y. Antioxidant and antithrombotic activities of rapeseed peptides[J]. J Am Oil Chem Soc, 2008, 85(6): 521-527.
- [10] 肖萌. 益生菌混合发酵菜籽粕及其营养特性的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014.
- [11] 荆文光. 菜籽粕化学成分和生物活性研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2014.
- [12] PHELAN M, KERINS D. The potential role of milk-derived peptides in cardiovascular disease[J]. Food Funct, 2011, 2(3/4): 153-167.
- [13] JIA J Q, MA H L, ZHAO W R, et al. The use of ultrasound for enzymatic preparation of ACE-inhibitory peptides from wheat germ protein[J]. Food Chem, 2010, 119(1): 336-342.
- [14] KOTSIS V, STABOULI S, BOULDIN M, et al. Impact of obesity on 24-hour ambulatory blood pressure and hypertension[J]. Hypertension, 2005, 45(4): 602-607.
- [15] MAJUMDER K, WU J. Molecular targets of antihypertensive peptides: understanding the mechanisms of action based on the pathophysiology of hypertension[J]. Int J Mol Sci, 2014, 16(1): 256-283.
- [16] 吴兆苏, 霍勇, 王文, 等. 中国高血压患者教育指南[J]. 慢性病学杂志, 2014, 15(1): 1-30.
- [17] MARCZAK E D, USUI H, FUJITA H, et al. New antihypertensive peptides isolated from rapeseed[J]. Peptides, 2003, 24(6): 791-798.
- [18] YAMADA Y, IWASAKI M, USUI H, et al. Rapakinin, an anti-hypertensive peptide derived from rapeseed protein, dilates mesenteric artery of spontaneously hypertensive rats via the prostaglandin IP receptor followed by CCK(1) receptor[J]. Peptides, 2010, 31(5): 909-914.
- [19] YAMADA Y, OHINATA K, LIPKOWSKI A W, et al. Rapakinin, Arg-Ile-Tyr, derived from rapeseed napin, shows anti-opioid activity via the prostaglandin IP receptor followed by the cholecystokinin CCK(2) receptor in mice[J]. Peptides, 2011, 32(2): 281-285.
- [20] HE R, MALOMO S A, GIRGIH A T, et al. Glycyl-histidinyl-serine (GHS), a novel rapeseed protein-derived peptide has blood pressure-lowering effect in spontaneously hypertensive rats[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(35): 8396-8402.
- [21] HE R, GIRGIH A T, ROZOY E, et al. Selective separation and concentration of antihypertensive peptides from rapeseed protein hydrolysate by electro dialysis with ultrafiltration membranes[J]. Food Chem, 2016, 197: 1008-1014.
- [22] 张瑞. 发酵菜粕中菜籽小肽分离纯化及其体外抗氧化活性研究[J]. 饲料工业, 2014, 35(5): 28-31.
- [23] 卢晓会. 菜籽肽的制备、分离纯化及其抗氧化活性研究[D]. 江苏扬州: 扬州大学, 2012.
- [24] 栾霞, 王瑛瑶, 张霜玉. 菜籽蛋白肽的体外功能性质研究[R]. 北京: 中国食品科学技术学会第六届年会暨第五届东西方食品业高层论坛, 2009.
- [25] ZHANG S B, WANG Z, XU S Y, et al. Purification and characterization of a radical scavenging peptide from rapeseed protein hydrolysates[J]. J Am Oil Chem Soc, 2009, 86(10): 959-966.
- [26] 鞠兴荣, 郑毅, 王立峰, 等. 菜籽蛋白水解物及其膜分离组分的体外抗肿瘤活性研究[J]. 粮食与食品工业, 2014, 21(3): 32-37.
- [27] 汤尚文, 李云捷, 于博, 等. 菜籽低聚肽抗肿瘤活性研究[J]. 食品与营养科学, 2014, 3(2): 16-22.
- [28] WANG L, ZHANG J, YUAN Q, et al. Separation and purification of an anti-tumor peptide from rapeseed (*Brassica campestris* L.) and the effect on cell apoptosis[J]. Food Funct, 2016, 7(5): 2239-2248.
- [29] XU F, WANG L, JU X, et al. Transepithelial transport of YWDHNNPQIR and its metabolic fate with cytoprotection against oxidative stress in human intestinal Caco-2 cells[J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(10): 2056-2065.
- [30] WU Z, DING G, HUANG F, et al. Anticancer activity of anthopleura anjunae oligopeptides in prostate cancer DU-145 cells[J]. Mar Drugs, 2018, 16(4): 1-15.
- [31] ZHOU B, MA L, LIU J, et al. Protective effects of soy oligopeptides in ultraviolet B-induced acute photodamage of human skin[J]. Oxid Med Cell Longev, 2016, 2016: 1-13.
- [32] 徐天, 刘艳, 芦明春, 等. 大豆低聚肽和 大豆低聚糖复合物对小鼠体力的影响[J]. 中国油脂, 2014, 39(7): 46-49.
- [33] FARGES-HADDANI B, TESSIER B, CHENU S, et al. Peptide fractions of rapeseed hydrolysates as an alternative to animal proteins in CHO cell culture media[J]. Process Biochem, 2006, 41(11): 2297-2304.
- [34] XIE N, HUANG J, LI B, et al. Affinity purification and characterisation of zinc chelating peptides from rapeseed protein hydrolysates: possible contribution of characteristic amino acid residues[J]. Food Chem, 2015, 173: 210-217.
- [35] 王子伟. 菜籽肽的酶法制备及其抗凝血活性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2014.