

## 酶法制备汉麻籽蛋白抗氧化肽

周徐慧<sup>1</sup>, 钱平<sup>2</sup>, 卢蓉蓉<sup>1</sup>, 陈天鹏<sup>2</sup>, 史玲<sup>1</sup>, 何锦凤<sup>2</sup>, 王璋<sup>1</sup>

1(江南大学食品学院, 江苏无锡, 214122)

2(中国人民解放军总后勤部军需装备研究所军用汉麻材料研究中心, 北京, 100000)

**摘 要** 采用不同蛋白酶酶解汉麻籽蛋白, 确定 Alcalase 2.4L 碱性蛋白酶是酶解汉麻籽蛋白制备抗氧化肽的优良酶源。通过单因素和响应面回归分析, 得到 Alcalase 2.4L 碱性蛋白酶酶解汉麻籽蛋白的优化条件为: 底物浓度 50 mg/mL、水解时间 2 h、温度 50 ℃、加酶量 2.2%、pH 9.4。优化酶解条件下, 水解度约为 20%, 10 mg/mL 酶解产物的 DPPH 自由基清除率为 82.65%, 显示出较好的抗氧化活性。

**关键词** 汉麻籽蛋白, 酶法, 抗氧化肽, 响应面分析法, DPPH 自由基

汉麻(*Cannabis sativa*)是1年生桑科植物, 是我国的原产作物之一, 在我国各地均有栽培, 又名大麻、寒麻等。目前国际上将四氢大麻酚(THC)含量低于0.3%的汉麻作物品种称为工业汉麻, THC含量高于0.3%的汉麻作物称为药品或毒品大麻<sup>[1]</sup>。

汉麻籽富含易于人体吸收的蛋白质、不饱和脂肪酸、多种矿物质, 利用榨油后的籽粕可以加工成风味和营养独特的大麻籽食品, 高蛋白宠物饲料。汉麻籽蛋白是一种十分优异的蛋白质<sup>[2]</sup>, 在汉麻仁中的含量为20%~25%, 约有65%是麻仁球蛋白, 此类11s球蛋白只在桑科植物汉麻种子中存在<sup>[3]</sup>, 且其与鸡蛋蛋白属于同种类型, 可被人体较好地吸收。汉麻籽蛋白由21种氨基酸组成, 包括人体所需的全部必需氨基酸, 尤其以谷氨酸含量最高<sup>[4]</sup>。

目前国内外已有相关公司及机构从事汉麻籽及汉麻籽蛋白产品的研究与开发, 且已有产品上市, 如汉麻籽油、汉麻籽蛋白粉、蛋白饮料等。其中, 云南汉麻工业股份有限公司已经通过人体试验证实, 汉麻蛋白在功能性食品中的新用途, 在某些方面汉麻籽蛋白具有超越大豆蛋白的营养价值, 并获得了相关专利。华南理工大学也正对汉麻蛋白展开详细研究<sup>[5,6]</sup>。这一新领域也引起了国家的高度关注。2006年6月在总后勤部军需装备研究所成立了军用汉麻材料研究中心, 负责汉麻加工综合利用的技术研发, 其中设有专门负责汉麻籽加工利用研究的部门<sup>[7]</sup>。

由于氧自由基可引起细胞损伤和死亡, 与皮肤衰老、色斑、皱纹及某些皮肤疾病的发生及食品的氧化酸败有密切关系<sup>[8]</sup>, 开展对汉麻籽多肽抗氧化活性的研究具有重要的现实意义。本文旨在研究不同蛋白

酶对汉麻籽蛋白的酶解效果及酶解产物的抗氧化活性, 为其作为一种天然抗氧化剂在食品、化妆品等领域的应用提供理论依据。

## 1 实验材料与方法

## 1.1 实验材料

## 1.1.1 实验原料

汉麻籽冷榨粕: 汉麻籽脱壳之后经冷榨去油所得, 由中国人民解放军总后勤部军需装备所提供。汉麻籽冷榨粕经高速粉碎机粉碎, 60目过筛, 装袋备用。

## 1.1.2 实验试剂

Alcalase 2.4L 碱性蛋白酶,  $5 \times 10^5$  U/g, Novo公司; 2709 碱性蛋白酶,  $2 \times 10^5$  U/g, 无锡雪酶酶制剂有限公司; 木瓜蛋白酶,  $1 \times 10^6$  U/g, 无锡雪梅酶制剂有限公司; 胰蛋白酶,  $8 \times 10^4$  U/g, Novo公司; 二苯基苦基苯肼(DPPH), 分析纯, 美国Sigma公司。

## 1.1.3 主要仪器

VIS-722 型分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司; HHS11-213 型电热恒温水浴锅, 上海医疗器械五厂; 4K15 冷冻离心机, Sigma公司; LGJ-10 冷冻干燥器, 北京四环科学仪器厂; XW-80A 微型旋涡混合仪, 上海沪西分析仪器厂; 90-2 定时恒温磁力搅拌器, 上海沪西分析仪器厂; PHS-3C 精密 pH 计, 上海精密科学仪器有限公司。

## 1.2 实验方法

## 1.2.1 基本成分的测定

水分的测定: 常压直接干燥法; 脂肪的测定: 索氏抽提法; 蛋白质的测定: 微量凯氏定氮法, 转换系数采用 6.25; 灰分的测定: 高温灼烧法<sup>[9]</sup>。

## 1.2.2 汉麻籽冷榨粕分离蛋白的提取

第一作者: 硕士研究生(卢蓉蓉教授为通讯作者)。

收稿日期: 2007-10-09, 改回日期: 2008-01-18

脱脂汉麻籽冷榨粕在 45 ℃下,按 1:20 的料液比加水搅拌,然后用 1.0 mol/L NaOH 调节 pH 到 9 并保温 1 h,再经 3 000 r/min 离心 30 min。所得蛋白上清液在室温下,用 1 mol/L HCl 溶液调 pH 至 5.0<sup>[5]</sup>,再经 3 000 r/min 离心 15 min,用去离子水洗滌沉淀 3 次后调 pH 至 7.0,冷冻干燥得到汉麻籽冷榨粕蛋白粉。

### 1.2.3 汉麻籽蛋白的酶解工艺

按底物浓度 50 mg/mL,准确称取上述汉麻籽蛋白粉于酶反应器中,加入去离子水搅拌均匀,90 ℃预处理 15 min,迅速降温至酶解反应温度,用 1.0 mol/L NaOH 调 pH 至酶的最适值,按[E]/[S]为 2%加酶,采用 pH-Stat 法控制反应体系的 pH 值在设定 pH 的±0.03 之间,反应结束后,沸水浴灭酶 6 min,添加 1.0 mol/L HCl 调 pH 至 7.0,8 000 r/min 冷冻离心 20 min,上清液冷冻干燥后备用。在各自适宜条件下,用不同的酶酶解汉麻籽蛋白,根据各自酶解产物的抗氧化活性大小判断最佳用酶。

酶解工艺的优化:通过响应面试验(RSM),确定选定酶的最佳酶解工艺。

### 1.2.4 蛋白质水解度的测定

采用 pH-Stat 法<sup>[10]</sup>。

### 1.2.5 酶解后产物抗氧化活性的测定

采用 DPPH 法<sup>[11]</sup>。将酶解产物配成浓度为 10 mg/mL 的溶液,另配制浓度为  $1 \times 10^{-4}$  mol/L DPPH 无水乙醇溶液,避光保存。取 2 mL 试样与 2 mL DPPH 无水乙醇溶液混合,并剧烈振荡,在室温下反应 30 min,然后在 517 nm 处测定吸光度  $A_i$ 。空白组以等体积无水乙醇溶液代替 DPPH 溶液,对照组以等体积蒸馏水代替样品溶液。DPPH 自由基的清除率计算:

$$\text{清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_i - A_0}{A_0}\right) \times 100$$

式中: $A_0$ ,对照组吸光度; $A_i$ ,样品组吸光度; $A_j$ ,空白组吸光度。

### 1.2.6 数据及统计分析<sup>[12]</sup>

文中数据为 3 次平行测定值的平均值。用 Design Expert (Version 7.1.2, Stat-Ease Inc., MN, USA, 2005)统计软件,在显著性水平  $\alpha=0.05$  下,作响应面分析。显著性由 SPSS V13.0 软件进行 One-Way ANOVA, Tukey( $\alpha=0.05$ )分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 脱脂汉麻籽蛋白的基本成分

脱脂汉麻籽冷榨粕经碱提酸沉制得汉麻籽分离蛋白,分离蛋白基本成分见表 1。从表 1 可知,汉麻籽分离蛋白的蛋白质含量为 88.46%,干基含量为 93.47%,达到了分离蛋白的要求。

表 1 脱脂汉麻籽分离蛋白的基本成分 %

蛋白质	水分	灰分	脂肪	其它
88.46±0.09	5.36±0.06	2.62±0.18	<0.6	3.56

### 2.2 Alcalase 2.4L 碱性蛋白酶酶解汉麻籽蛋白的影响因素

#### 2.2.1 酶源的确定

由于酶与底物的反应表现出一定的特异性,不同蛋白酶对同一种蛋白质底物的作用结果并不相同,蛋白质水解物中多肽的长度及结构也不同,因此酶的种类及酶对蛋白的水解能力对酶解产物的抗氧化能力具有很大的影响。由于汉麻籽分离蛋白在 pH 值小于 8.0 时,表现出较差的溶解性<sup>[7]</sup>,因此实验中选用 Alcalase 2.4L 碱性蛋白酶、2709 碱性蛋白酶、胰蛋白酶及木瓜蛋白酶对其进行酶解。此外,研究表明, DPPH 法是一种快速、简便、灵敏、可直接行评价外源抗氧化剂和植物抗氧化能力的方法<sup>[13]</sup>。所以实验中选择其来评价酶解产物的抗氧化活性能力的大小。

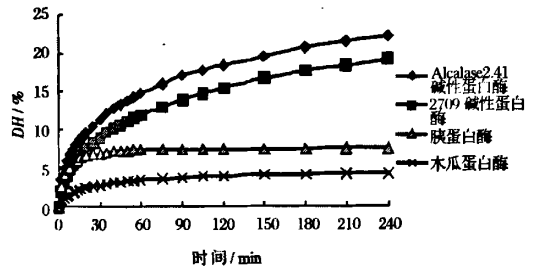


图 1 各种蛋白酶对汉麻籽蛋白的酶解进程曲线

表 2 水解 4 h 后汉麻籽蛋白酶解产物的 DH 和 DPPH 自由基清除率

酶的种类	DH/%	DPPH 自由基清除率/%
Alcalase 2.4L 蛋白酶	22.04	74.34
2709 碱性蛋白酶	19.08	13.35
胰蛋白酶	7.47	42.98
木瓜蛋白酶	4.28	31.79

从图 1 和表 2 可知,4 种酶对汉麻籽蛋白的酶解能力和抗氧化活性相差很大,Alcalase 2.4L 碱性蛋白酶对汉麻籽蛋白的酶解能力和酶解产物的抗氧化活性均高于其他 3 者,所以选用 Alcalase 2.4L 碱性

蛋白酶作为实验用酶。此外,从 Alcalase 2.4L 碱性蛋白酶对汉麻籽蛋白的酶解进程曲线可以看出,反应前 2 h,  $DH$  增加较快,后 2 h 增加趋于缓慢,综合考虑成本和效率,在实验中选择反应时间为 2 h。

### 2.2.2 pH 值对水解度和抗氧化活性的影响

选用 Alcalase 2.4L 在底物浓度为 50 mg/mL,  $[E]/[S]=2\%$  (w/w), 温度 55 °C 的条件下水解 2 h, 研究 pH 值对水解度和抗氧化活性的影响, 结果分别见图 2 和图 3。

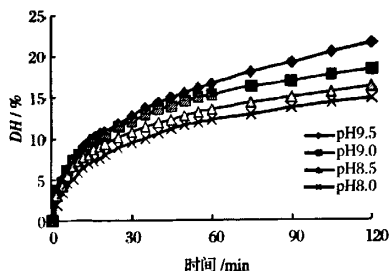


图2 pH 值对汉麻籽蛋白水解度的影响

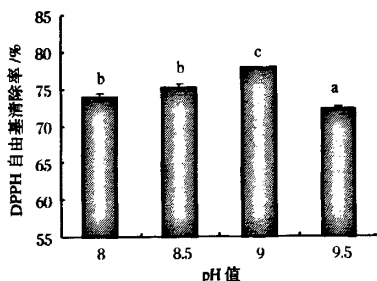


图3 pH 值对酶解产物活性的影响

(注:a,b,c,d 不同字母代表差异显著,  $P < 0.05$ )

pH 值通过影响酶蛋白的构象和酶分子及底物分子的解离状态, 从而影响酶的稳定性、酶与底物的结合以及酶催化底物转变为产物, 进而影响酶的催化效果<sup>[14]</sup>。由图 2 可见, 在 pH 8.0~9.5, 水解度随 pH 值的增加而增加。此外, 不同的反应条件对酶解产物的结构、性质有着不同的影响, 从而使产物表现出不同的清除 DPPH 自由基的活性。由图 3 可知, 当 pH 为 9 时, 酶解产物对 DPPH 自由基清除能力最强。当 pH 为 9.5 时, 虽然其水解度最大, 却表现出最低的 DPPH 自由基清除能力, 可能是由于过度水解将活性片段进一步切断。由此也可见, 水解度与 DPPH 自由基清除率并不表现为线性关系。因此, pH 值 8.5~9.5 为适宜范围。

### 2.2.3 加酶量对水解度和抗氧化活性的影响

选用 Alcalase 2.4L 在 pH 9.0, 底物浓度为 50

mg/mL, 温度 55 °C 的条件下水解 2 h, 研究  $[E]/[S]$  对水解度和抗氧化活性的影响, 结果见图 4 和图 5。

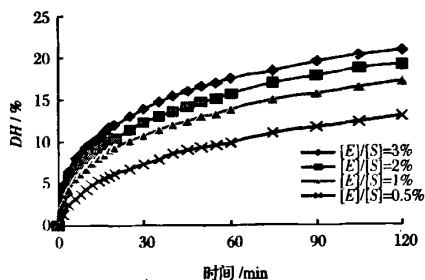


图4  $[E]/[S]$  对汉麻籽蛋白水解度的影响

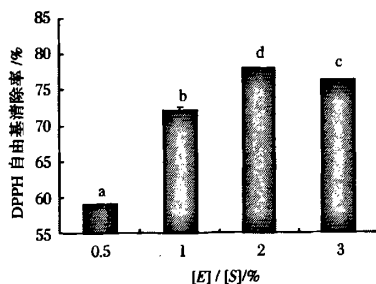


图5 加酶量对酶解产物活性的影响

从图 4 可以看出, 随着酶量的增加, 水解度也不断增加。揭示在底物分子过饱和的情况下, 酶用量增加可以大大提高酶与底物的结合效率, 从而加快底物转化为产物的反应速率。当酶量增加到一定值后, 酶分子趋向饱和, 曲线的上升趋势趋缓, 此时继续增大加酶量将对反应速率贡献不大。从图 5 可以看出, 酶解产物清除 DPPH 自由基的能力并不与水解度成线性关系, 当  $[E]/[S]=2\%$  的时候, 酶解产物表现出最高的清除 DPPH 自由基的活力, 因此,  $[E]/[S]$  为 1%~3% 为适宜范围。

### 2.2.4 温度对水解度和抗氧化活性的影响

选用 Alcalase 2.4L 在 pH 9.0, 底物浓度为 50 mg/mL,  $[E]/[S]$  为 2% 水解 2 h, 研究温度对水解度和抗氧化活性的影响, 结果分别见图 6 和图 7。

温度对酶催化反应的影响是多方面的, 温度提高会影响酶的稳定性和底物转化为产物的速度, 在一定范围内, 温度的提高可加快反应速度以至在相同反应时间内水解度升高<sup>[14]</sup>。由图 6 可知, 在 55 °C 时, 酶解的水解度最大。当温度达 60 °C 时, 水解度反而呈下降趋势。这可能是因为温度升高, 使得酶蛋白的结构发生改变, 造成酶活性降低。从图 7 可知, 温度对酶解产物的活性有显著影响 ( $P < 0.05$ ), 在 50 °C 时表现出最强的 DPPH 自由基清除能力, 因此选择 45

~55 ℃。从图 6 和图 7 也可进一步证实,水解度与酶解产物 DPPH 自由基清除率并不成线性关系。

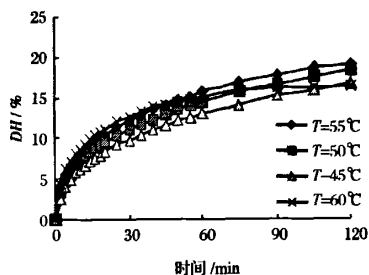


图 6 温度对汉麻籽蛋白水解度的影响

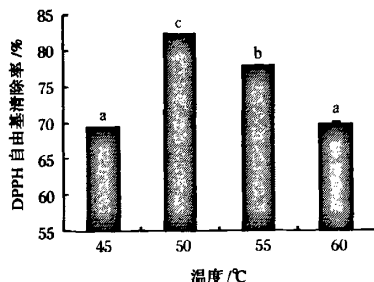


图 7 温度对酶解产物活性的影响

#### 2.2.5 底物浓度对水解度和抗氧化活性的影响

选用 Alcalase 2.4L 在 pH 9.0, 50 ℃,  $[E]/[S]$  为 2% 的条件下水解 2 h, 研究底物浓度对水解度和抗氧化活性的影响, 结果分别见图 8 和图 9。

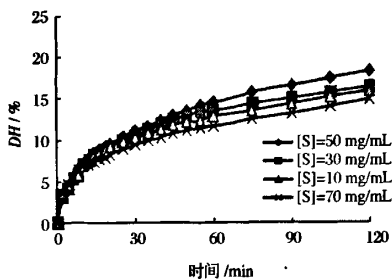


图 8 底物浓度对汉麻籽蛋白水解度的影响

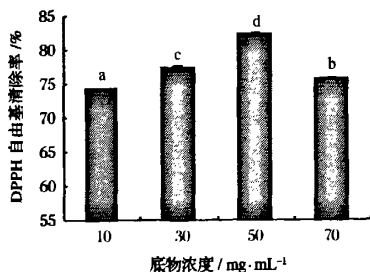


图 9 底物浓度对酶解产物活性的影响

底物浓度过低会导致底物分子与酶分子结合的几率降低, 最终影响酶促反应的速率, 使反应速度降低; 底

物浓度过高, 酶的活性部位已全部被底物分子占据, 反应速度趋于极限, 达到零级反应<sup>[14]</sup>。实际生产反应中, 底物浓度过高使水的有效浓度降低, 影响分子在溶液中的扩散运动, 对酶促反应起抑制作用, 导致水解度降低。从图 8 可知, 在酶浓度恒定条件下, 当底物浓度小于 50 mg/mL 时, 酶未被底物饱和, 这时的反应速度取决于底物浓度, 反应速度与底物浓度呈正比关系, 表现为一级反应, 水解度也逐渐增加, 当底物浓度继续增大到 7% 时, 水解度迅速下降。此外, 由图 9 可知, 底物浓度为 50 mg/mL 时, DPPH 自由基清除率达到最大值。因此选择底物浓度范围为 30~70 mg/mL。

#### 2.3 酶解条件的优化

温度、pH、加酶量是影响酶解液活性的主要因素<sup>[15]</sup>, 在单因素实验的基础上, 通过响应面分析来寻找酶解产物抗氧化最佳酶解条件。选用 Alcalase 2.4L 碱性蛋白酶水解汉麻籽蛋白, 固定底物浓度为 50 mg/mL、水解时间为 2 h, 对酶解 pH ( $X_1$ )、加酶量和底物浓度比 ( $X_2$ ) 及酶解温度 ( $X_3$ ) 进行二次回归设计试验和分析, DPPH 自由基清除率 ( $Y$ ) 为响应值。采用 Box-Behnken 设计, 因素水平编码见表 3。

表 3 因素水平表

水平	$X_1$	$X_2$	$X_3$
-1	8.5	1%	45 ℃
0	9	2%	50 ℃
1	9.5	3%	55 ℃

实验采用表 3 设置的三因素三水平分别进行 15 组实验, 响应值 ( $Y$ ) 用 Design Expert 7 软件进行分析, 分析结果见表 4。

表 4 Box-Behnken 实验设计与结果

实验点	$X_1$	$X_2$	$X_3$	DH/%	$Y$ /%
1	-1	-1	0	16.5	74.5
2	1	-1	0	17.72	80.92
3	-1	1	0	18.53	77.42
4	1	1	0	20.21	81.46
5	-1	0	-1	15.4	71.12
6	1	0	-1	18.87	72.8
7	-1	0	1	17.72	68.79
8	1	0	1	20.27	76.34
9	0	-1	-1	15.93	71.39
10	0	1	-1	17.15	73.3
11	0	-1	1	17.94	74.04
12	0	1	1	20.8	74.18
13	0	0	0	18.16	82.54
14	0	0	0	18.46	82.27
15	0	0	0	18.16	82.57

以 DPPH 自由基清除率为 ( $Y$ ) 为响应值, 经回归拟合后各实验因素对响应值的影响函数表示:

$$Y = -1304.06 + 152.5525X_1 + 21.66375X_2 + 26.1025X_3 - 1.19X_1X_2 + 0.587X_1X_3 - 0.0885X_2X_3 - 9.7X_1^2 - 1.46X_2^2 - 0.3109X_3^2$$

从表5中可以看出,用上述回归方程描述的各因子与相应值与全体自变量之间的线性关系是显著的,  $R^2 = 0.9926$ ,从统计学意义上讲,该回归方程可作为

进一步分析的依据。从表中各项的方差分析可知,方程一次项  $X_1$ 、 $X_2$  影响高度显著,  $X_3$  影响显著;二次项的影响均高度显著;交互项除  $X_1X_3$  影响高度显著外,其它2项不显著。而残差分析的不显著性又增加了方程的可信性。

表5 Y 回归方程及各项的方差分析

方差来源	平方和	自由度	平均平方和	F	$P > F$	显著性
模型	303.335 7	9	33.703 96	144.649 1	< 0.000 1	**
$X_1$	48.462 01	1	48.462 01	207.987	< 0.000 1	**
$X_2$	3.795 012	1	3.795 012	16.287 26	0.010 0	**
$X_3$	2.808 45	1	2.808 45	12.053 17	0.017 8	*
$X_1X_2$	1.416 1	1	1.416 1	6.077 552	0.056 9	
$X_1X_3$	8.614 225	1	8.614 225	36.970 13	0.001 7	**
$X_2X_3$	0.783 225	1	0.783 225	3.361 409	0.126 2	
$X_1^2$	21.713 08	1	21.713 08	93.187 17	0.000 2	**
$X_2^2$	7.870 523	1	7.870 523	33.778 34	0.002 1	**
$X_3^2$	223.058 8	1	223.058 8	957.313 3	< 0.000 1	**
残差	1.165 025	5	0.233 005	13.558 3	0.069 5	
失拟项	1.110 425	3	0.370 142			
纯误差	0.054 6	2	0.027 3			
总离差	304.500 7	14		$R^2$	0.996 2	

注: \*\* 表示高度显著,  $P < 0.01$ ; \* 表示显著,  $P < 0.05$ 。

3 因素对  $DH$  的交互作用如图10和图11所示。由图知,汉麻籽多肽对 DPPH 自由基清除率随着温度、pH 和  $[E]/[S]$  的增加先增加后减少。

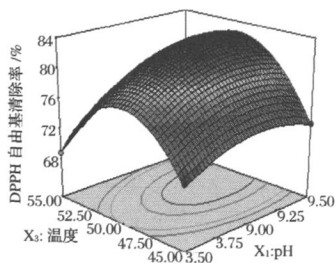
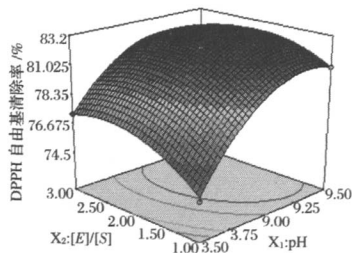


图10 pH和温度交互作用的响应面

图11 pH和 $[E]/[S]$ 交互作用的响应面

根据软件的 optimise 分析得到一组 DPPH 自由

基清除率的最优水平为 pH 9.4、温度为 50 ℃、 $[E]/[S]=2.2\%$ ,该条件下得到最大 DPPH 自由基清除率为 82.87%。验证实验得该条件下的水解度约为 20%,10 mg/mL 汉麻籽多肽对 DPPH 自由基的清除率为 82.65%。在相同浓度下,高于刘志东等报道<sup>[16]</sup>的乳清分离蛋白酶解产物的 DPPH 自由基清除率(约为 25%),于娅报道<sup>[17]</sup>的牡蛎酶解产物的 DPPH 自由基清除率(60%);陈贵堂报道<sup>[18]</sup>,花生肽在浓度为 20 mg/mL 时,对 DPPH 自由基的清除率为 82.0%。低于陈黎斌报道<sup>[19]</sup>的 5 mg/mL 醋蛋白酶解产物的 DPPH 自由基清除率(96.70%)。经过比较,可以看出汉麻籽酶解产物 DPPH 自由基的清除率还是相对较高的。

### 3 结论

水解汉麻籽蛋白的蛋白酶可选用 Alcalase 2.4L 碱性蛋白酶。通过单因素实验和响应面回归分析,得到汉麻籽蛋白酶解的优化条件为: pH 值为 9.4,  $[E]/[S]$  为 2.2%,温度为 50 ℃,时间为 2 h。在该条件下,10 mg/mL 汉麻籽多肽对 DPPH 自由基清除率为 82.65%。

## 参考文献

- 1 许树文,刘 华. 工业大麻的开发利用及其市场前景[J]. 纺织导报,2005,(7):62~64
- 2 Callaway J C. Hempseed as a nutritional resource: An overview [J]. Euphytica, 2004, 140(23):65~72
- 3 Sumiko Odani,Shoji Odani. Isolation and primary structure of a methionine- and cystine-rich seed protein of *Cannabis sativa*[J]. Biosci Biotechnol Biochem,1998,62(4):650~654
- 4 邵松生. 德国开展大麻研究[J]. 山东纺织科技,2000,3(1):18
- 5 Chuan-He Tang, Zi Ten. Physicochemical and functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate [J]. Agric Food Chem, 2006, 54(23):8 945~8 950
- 6 Yin Shou Wei, Tang Chuan He. Effects of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) Protein isolate [J]. Food Chem, 2007, 20(7):1~36
- 7 郭春花. 亟具发展潜力的汉麻产业——访总后勤部军需装备研究所高级工程师张建春[J]. 纺织服装周刊,2006,20(4):12
- 8 夏向东,吕飞杰,台建祥. 抗氧化剂的功效及抗氧化活性的体外分析评价[J]. 食品科学,2001,22(189):89~93
- 9 大连轻工业学院等. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,2005
- 10 Alder Nissen J. Enzymatic Hydrolysis of Food Protein [M]. London: Elsevier Applied Science Publishers, 1986. 12~14
- 11 Ting Sun, Chi Tang Ho. Antioxidant activities of buckwheat extracts[J]. Food Chemistry, 2005, 90:743~749
- 12 吴有炜. 实验设计与数据处理[M]. 苏州:苏州大学出版社,2002
- 13 彭长连,陈少薇,林植芳,等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力[J]. 生物化学与生物物理进展, 2000,27(6):658~661
- 14 王 璋,许时婴. 食品化学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2002
- 15 Alder Nissen J. Determination of degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid [J]. J Agri Food Chem, 1999, 27(6):1256~1262
- 16 刘志东,郭本恒,王荫榆,等. 乳清分离蛋白酶解物的抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2007,19(3):477~480
- 17 于 姪. 牡蛎活性肽的制备及生物活性研究[D]. 无锡:江南大学博士学位论文集,2004
- 18 陈贵堂. 花生蛋白的营养生理功能及其酶解产物抗氧化活性的研究[D]. 北京:中国农业大学博士学位论文集, 2006
- 19 陈黎斌,杨严俊,刘晓君. 醋蛋水解液抗氧化活性的研究 [J]. 食品研究与开发,2006,27(4):41~43

## Preparation of Antioxidant Peptides from Hempseed Protein by Enzymatic Hydrolysis

Zhou Xuhui<sup>1</sup>, Qian Ping<sup>2</sup>, Lu Rongrong<sup>1</sup>,

Chen Tianpeng, Shi Ling, He Jinfeng<sup>2</sup>, Wang Zhang<sup>1</sup>

1(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

2(Hemp Materials for Military Research Center, Quartermaster Equipment Institute, GLD, PLA, Beijing 100000, China)

**ABSTRACT** Hempseed protein was hydrolyzed with four different enzymes. It was found that Alcalase 2.4L alkaline protease had the best scavenging effect to DPPH ·. Using response surface regression analysis, we achieved the optimum enzyme hydrolysis conditions of Alcalase 2.4L alkaline protease as: substrate ( $[S]$ ) 50 mg/mL, time 2 h, temperature ( $T$ ) 50℃, enzyme: substrate ratio ( $[E]/[S]$ ) 2.2%, and pH 9.4. The obtained degree of hydrolysis ( $DH$ ) was about 20%, the antioxidant activity of 10 mg/mL hydrolysate was about 82.65%, which showed high antioxidant activity.

**Key words** hempseed protein, enzymatic hydrolysis, antioxidant peptide, response surface method, DPPH ·