

沙棘蛋白和多肽的提取及功能活性研究进展

王迪, 李文霞, 姚瑜, 袁芳廷, 袁木荣, 彭强

Research Progress on Extraction and Functional Activity of Sea Buckthorn Protein and Polypeptides

WANG Di, LI Wenxia, YAO Yu, YUEN Michael, YUEN Hywel, and PENG Qiang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021020130>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

夏枯草多糖的研究进展

Research Progress in Polysaccharides of *Prunella vulgaris* L.

食品工业科技. 2019, 40(18): 334-339,347

2种新疆沙棘中黄酮、多酚及其抗氧化活性分析

Analysis of the Flavonoid, Polyphenol and Its Antioxidant Activity of 2 Kinds of Sea Buckthorn from Xinjiang

食品工业科技. 2020, 41(18): 51-57

沙棘多酚提取纯化工艺研究

Study on Extraction and Purification Process of Sea buckthorn Polyphenols

食品工业科技. 2021, 42(3): 108-114

动物肝脏蛋白资源开发利用的研究进展

Research progress in development and utilization of animal liver protein resources

食品工业科技. 2017(19): 311-315

虾加工副产物蛋白肽提制及其生物活性研究进展

Research Progress of Protein Polypeptides Extraction and Bioactivities from Shrimp Processing By-products

食品工业科技. 2021, 42(17): 432-438

沙棘原浆冷冻浓缩工艺的响应面优化

Optimization of sea buckthorn juice freeze concentration process

食品工业科技. 2018, 39(1): 143-148,155



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

王迪, 李文霞, 姚瑜, 等. 沙棘蛋白和多肽的提取及功能活性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 447-455. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021020130

WANG Di, LI Wenxia, YAO Yu, et al. Research Progress on Extraction and Functional Activity of Sea Buckthorn Protein and Polypeptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(3): 447-455. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021020130

· 专题综述 ·

沙棘蛋白和多肽的提取及功能活性研究进展

王 迪¹, 李文霞², 姚 瑜¹, 袁芳廷², 袁木荣², 彭 强^{1,*}
(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西咸阳 712000;
2. 青海伊纳维康生物科技有限公司, 青海西宁 810000)

摘 要: 沙棘是一种生命力极强的落叶灌木, 属于药食同源的植物。沙棘叶及种子中含有大量蛋白质, 属于优质植物蛋白资源。沙棘蛋白或沙棘原料经过酶解、电解、酸碱催化等一系列操作后可得到肽。文章归纳整理了已有文献与资料, 对沙棘蛋白与多肽不同提取方法的原理及特点进行分析比较, 并分析了其蛋白和多肽的氨基酸组成、分子量等内容, 介绍其具有的降血糖、抗氧化、醒酒抗炎等活性。总结发现沙棘蛋白和多肽虽然具有多种活性, 但是复合法制备蛋白和多肽的应用较少, 结构和活性的研究还不够深入, 应从以上方面加大研究力度, 促进沙棘蛋白资源的开发与利用。

关键词: 沙棘蛋白, 沙棘多肽, 提取, 生物活性, 结构分析

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)03-0447-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021020130

本文网刊:



Research Progress on Extraction and Functional Activity of Sea Buckthorn Protein and Polypeptides

WANG Di¹, LI Wenxia², YAO Yu¹, YUEN Michael², YUEN Hywel², PENG Qiang^{1,*}

(1. School of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Xianyang 712000, China;
2. Puredia Limited, Xining 810000, China)

Abstract: Sea buckthorn is a deciduous shrub with strong vitality, which belongs to the plant with homology of medicine and food. According to previous studies, sea buckthorn has a large amount of protein in its leaves and seeds, which belongs to high-quality plant protein resources. Peptides can be obtained from sea buckthorn protein or raw materials through a series of operations such as enzymatic hydrolysis, electrolysis, acid-base catalysis and so on. This paper summarizes the existing literature and data to compare the principles and characteristics of different extraction methods of sea buckthorn protein and polypeptide, analyzes the amino acid composition and molecular weight of protein and polypeptide, and introduces their hypoglycemic, antioxidant, sobering and anti-inflammatory activities. Although sea buckthorn protein and polypeptide have many kinds of activities, the application of compound method to prepare protein and polypeptide is less, and the research of structure and activity is not deep enough. It's necessary to strengthen the research from above aspects to promote the development and utilization of sea buckthorn protein resources.

Key words: sea buckthorn protein; sea buckthorn polypeptide; extract; biological activity; structural analysis

沙棘属胡颓子科沙棘属, 是一种非豆科固氮植物。由于具有喜光、耐寒、耐酷热、耐风沙等生活特性, 在我国的生长范围广泛, 多分布于内蒙、山西、陕西、甘肃、青海、四川等温带地区向阳的山脊、谷地、

干涸河床以及砂质土壤或黄土上。沙棘果常见为橙黄色或桔红色^[1-2]。沙棘各个部位都含有大量蛋白质, 而且沙棘叶和果中还含有大量的非蛋白氮^[3]。根据已有文献报导, 沙棘对于细胞保护、抗应激、免疫

收稿日期: 2021-02-20

基金项目: 西宁市科技计划项目 (2021-Y-15); 西北农林科技大学大学生创新创业训练计划项目 (S202010712424)。

作者简介: 王迪 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物开发, E-mail: 452720847@qq.com。

* 通信作者: 彭强 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品化学与营养, 天然产物开发, E-mail: pengqiang@nwsuaf.edu.cn。

调节、肝保护、放射防护、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤、抑制微生物生长和组织再生等方面也有着积极作用^[2,4-7]。

据检测,沙棘叶中含有 15%~20% 的蛋白质,沙棘籽粕中含有约 30% 的蛋白质^[8-10]。而且蛋白中氨基酸种类丰富,含有 18 种氨基酸,天冬酰胺为主要氨基酸,沙棘蛋白中必需氨基酸含量高,是一种相对优质的植物蛋白资源。虽然沙棘中含有大量的这种优质蛋白,但是目前对于蛋白利用研究较少,对于这一部分资源的浪费较大。

沙棘多肽为蛋白的水解产物。一般将分子量段在 50~5000 Da 之间的才能称为肽。分子量在 5000~10000 Da 之间的称为大肽。分子量段在 50~1000 Da 之间的称为小肽、寡肽、低聚肽,这些小分子量的肽大部分都具有很好的生物活性,可将其称之为生物活性肽。生物活性肽一般含有 2~50 个氨基酸残基,在生物体内组成特定的结构来发挥活性作用^[11]。目前,越来越多的研究证明,生物活性肽具有降血压、降血糖、抗氧化、抗菌、抗炎、调节免疫等作用^[12-16],但在已有的沙棘多肽生物活性的研究中,还有许多活性没有被报导研究,因此,在将来对沙棘研究中或许可以将此作为重点。本篇综述主要介绍了沙棘蛋白及肽的制备工艺、结构特性以及功能特性,从而拓宽沙棘的应用范围。

1 沙棘蛋白及多肽的提取

1.1 沙棘蛋白提取方法

蛋白按照其溶解性可分为 7 种,分别为清蛋白、球蛋白、谷蛋白、醇溶谷蛋白、组蛋白、鱼精蛋白、硬蛋白,其中,大多数蛋白都溶于稀碱或稀酸。由此,在提取蛋白的研究中通常按照其溶解性进行提取,经常采用的沙棘籽粕蛋白提取方法为碱提酸沉法和醇法,有时为提高蛋白提取率还可以联合两种方法复合提取。在其他蛋白的提取中有时还会利用超声以及微波进行辅助提取。使用不同的提取方法,所提取出的蛋白结构及蛋白功能特性也有差异^[17]。

1.1.1 碱提酸沉法 碱提酸沉法是常用的蛋白质提取方法,利用蛋白质溶于碱而沉于酸的特性进行蛋白的提取。大致过程为将沙棘原料溶于氢氧化钠溶液,选取合适的料液比、提取时间、提取温度、pH 等条件进行提取,然后将 pH 调至沙棘蛋白的等电点使沙棘蛋白沉出,干燥之后得到沙棘蛋白。表 1 为不同条件下的蛋白提取结果。从表 1 可以看出沙棘籽粕

中的蛋白与沙棘叶蛋白相比更易提取,且在此种方法下沙棘籽粕蛋白的提取率及蛋白含量也更高。崔森等^[18]通过正交试验得到沙棘蛋白的合适提取条件为 pH11、料液比 1:14、温度 60 ℃、时间 60 min,在此条件下碱提提取率为 53.08%,得到的产品蛋白含量为 80.51%。逢治飞^[19]同样利用碱提酸沉法提取沙棘蛋白,其产品蛋白含量也高达 80.03%。其他人在提取沙棘蛋白时也采用相同方法^[20-21]。左蕾蕾等^[22]提取沙棘叶蛋白时同样采用此方法,但碱提时 pH 比他人高出许多,此时需注意安全问题,当碱浓度过高时,蛋白质中的丝氨酸、苏氨酸、胱氨酸等残基发生消除反应生成脱氢丙氨酸,而脱氢丙氨酸可和赖氨酸残基发生交联反应生成有毒物质赖丙氨酸^[23-24]。除以上所说的安全问题之外,有前人研究表明,碱提酸沉法所提取出的蛋白溶解性差,蛋白颜色较深,还可能发生蛋白变性等情况,由此,在使用此法时需考虑这些缺点,但此法具有蛋白提取率高,纯度高的优点。

1.1.2 醇法提取 醇法提取出的蛋白多为醇溶蛋白。醇法提取的过程为将沙棘原料与一定浓度的乙醇溶液混合,通过控制其沙棘渣粉碎度、乙醇浓度、添加量、提取温度和时间选择合适的提取条件。此法需要注意的是乙醇会提取出部分原花青素,在提取完成之后,必须进行分离操作。比如崔森^[18]以醇提物中的蛋白含量为指标,得到了适宜的提取条件,同时还对醇提蛋白的成分进行分析,蛋白纯度仅为 52.85%,远远低于碱提酸沉法提出的蛋白。

1.1.3 热回流法 有学者使用热回流法提取水溶性蛋白质,此方法操作简单,主要是利用一定 pH 的水溶液进行回流提取。田景民等^[25]利用响应面与工厂生产结合的方式确定了最终的提取条件,并进行氨基酸分析,发现水溶性蛋白质中谷氨酸含量较多。

1.1.4 复合法 沙棘籽粕中含有的蛋白种类很多,但是以上单一方法提取出的蛋白多为单一蛋白或少数混合蛋白,并不能将沙棘籽粕中的可提蛋白同时提取出,因此为提高产率可将多种方法复合,使其多数蛋白均被提出。已有的复合法为碱酶法和醇碱法。碱酶法是将碱提酸沉提取之后的残渣用蛋白酶酶解,这可以充分利用碱提之后的残渣提高提取率。例如有学者利用残渣进行酶解提取蛋白,通过调节其加酶量、酶解时间、酶解温度以及底物浓度等因素,最终得到了 24.13% 的提取率^[18,26-27]。由此可以看出仅

表 1 沙棘不同组织的蛋白提取条件及提取结果比较

Table 1 Comparison of extraction conditions and extraction results of protein from different tissues of seabuckthorn

原料	碱提时间(min)	碱提pH	碱提温度(℃)	料液比	提取率(%)	蛋白含量(%)
沙棘籽粕 ^[18]	60	11	60	1:14	53.08	80.51
沙棘籽粕 ^[21]	40	12	35	1:12	79.30	89.67
沙棘籽粕 ^[19]	50	12	50	1:12	78.80	80.03
沙棘叶 ^[22]	100	13	100	1:60	22.75	47.28

使用碱提酸沉一种提取方法时,沙棘中许多蛋白并未被提出,这两者结合刚好提高了其产率。此外,还有醇碱法,即将醇法与碱法提取相结合提取沙棘蛋白,此种方法脱色后产率为 11.39%,得到的产品蛋白含量提高到 84.18%^[28],与单独醇提的蛋白纯度相比提高 30% 左右,这同样表明醇碱法有助于提高产品的蛋白含量。

1.2 沙棘多肽的提取方法

肽是当前的研究热点,肽虽然与蛋白质都是由氨基酸组成的,但却有着独特的生物活性以及比蛋白更好的理化性质。目前广大学者对生物活性肽的研究越来越热衷,各类动植物肽的活性被开发。

肽的制备方法有微生物发酵法、酸法、碱法、酶解法、人工合成法和基因表达法等。在沙棘多肽的研究中,采用酶解法制备多肽的文章较多。提取方法一般分为两种,一种是将原料直接进行酶解,另一种先提取出蛋白再将蛋白进行酶解得到多肽。比如左蕾蕾等^[29]就利用沙棘叶直接进行酶解获取多肽,通过比较碱性蛋白酶、中性蛋白酶、胰蛋白酶的水解度得知,碱性蛋白酶更适宜进行沙棘叶的酶解,进而利用正交优化得出酶解最佳工艺:酶添加量 14000 U/g,料液比(m/V)1:50, pH10, 温度 45 ℃, 酶解时间 2 h, 此工艺条件下的水解度为 19.88%。这种直接对原料进行酶解的方法可以避免在碱提蛋白时过高的 pH 对蛋白特性造成的影响,还可以简化获取多肽的工艺,另由于沙棘籽粕中含有较多的纤维素、植酸、单宁等物质,所以直接酶解沙棘籽粕时,一般需要先加入纤维素酶、植酸酶、单宁酶,为之后的多肽提取提供便利条件。

相比于直接对原料进行酶解的方法来说,先将

蛋白提取出再进行酶解的方法使用者较多,图 1 即为此种方法的多肽制备流程图。逢治飞^[19]以碱提酸沉法提出的沙棘蛋白为原料,通过对中性酶、碱性酶、风味酶及木瓜酶酶解产物的 ABTS 清除率的比较,选出最优酶,对其酶解时间、复合酶比例、酶用量、底物蛋白浓度和酶解温度进行优化,确定出最优的酶解工艺,即酶解温度 52.5 ℃, 酶用量 2400 U/g, 复合酶比例 3: 2, 酶解时间 80 min , 底物浓度 3%。舒丹阳^[30]在酶解温度 55 ℃、加酶量 0.35%、时间 6 h, 酶解 pH11 的条件下使用胰酶酶解沙棘蛋白,蛋白回收率和水解度分别为 75.38% 和 13.55%。此方法与沙棘原料直接进行酶解的方法相比,虽然工艺步骤较多,但由于没有沙棘原料中其他成分的干扰,因此多肽得率高。

由于每种酶的作用位点不同,得到的多肽分子量大小也是不同的。比如使用胰蛋白酶、中性蛋白酶、胃蛋白酶、酸性蛋白酶分别对沙棘蛋白进行酶解,胰蛋白酶酶解得到的多肽分子量最小,酸性蛋白酶得到的最大。由表 2 可知,要想获得不同的活性肽需要选择不同的酶,这是由于不同的酶得到肽的分子量不同所以得到的肽的活性也有所不同,由此酶的选择尤其重要。例如:以多肽得率为指标得到效果最好的酶为 Neutrase 酶^[31];以 ABTS 自由基清除率为指标得到中性酶与碱性酶酶解结果最好^[19];陈彤^[32]为了得到具有醒酒作用的多肽,研究出使用木瓜蛋白酶的酶解液对乙醇脱氢酶的激活效果最好。根据文章可知,在得知酶的最适 pH 和时间的情况下,料液比、酶解时间、加酶量也会影响酶解效果。

由于沙棘蛋白经水解后会得到许多种类的多肽,由此必须进行分离纯化和鉴定而得到所需的肽。

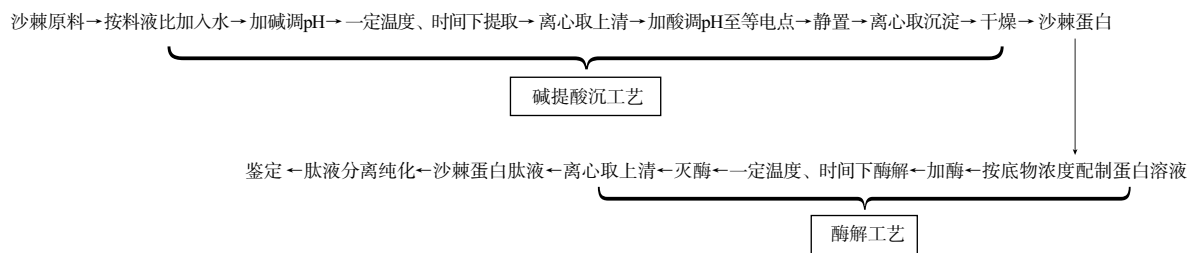


图 1 以蛋白为酶解原料的多肽的制备流程图

Fig.1 Preparation flow chart of polypeptide with protein as enzymolysis material

表 2 不同活性的沙棘多肽制备条件

Table 2 Preparation conditions of sea buckthorn polypeptides with different activities

肽	所用酶	酶解条件	得率(%)	参考文献
酪氨酸酶抑制肽	Neutrase酶	加酶量3%, 料液比1:15, 45 ℃, 1 h	4.48	[31]
醒酒肽	木瓜蛋白酶	加酶量4000 U/g, pH6.5, 50 ℃, 3.5 h	38.80	[32]
促生长发育肽	胰蛋白酶	加酶量2500 U/g, pH8.5, 37 ℃, 5 h	65.17	[33]
抗氧化肽	风味蛋白酶+中性蛋白酶	pH7, 复合酶用量2400 U/g, 比例为3:2, 底物浓度3%, 52.5 ℃, 80 min	72.07	[19]
	酸性蛋白酶	加酶量为5000 U/g, pH2.5, 50 ℃, 4 h	65.85	[33]
抑菌肽	Prote AX复合蛋白酶	加酶量3000 U/g , pH6.5, 50 ℃, 4 h	54.67	[34]
	胃蛋白酶	加酶量3000 U/g, pH2.5, 40 ℃, 3 h	40.03	
降血糖肽	胰蛋白酶	加酶量0.35%, 45 ℃, 6 h	75.38	[35]

现在常用的分离方法为凝胶过滤色谱、离子交换色谱、反相色谱、超滤法、电泳、固定化金属亲和层析、双水相萃取法等。鉴定的方法毛细管电泳、聚丙烯酰胺凝胶电泳以及等电聚焦电泳、质谱法、圆二色谱法、核磁共振^[36]。陈彤^[32]采用膜分离法对沙棘蛋白酶解液进行分离分级得到醒酒肽, KASHYAP 等^[37]利用 SDS-PAGE 进行纯化, 选用基质辅助激光解吸/电离和荧光时间分析仪进行分析鉴定, 获得沙棘抗冻肽。

2 沙棘蛋白及多肽的结构分析

2.1 蛋白组成

沙棘蛋白中含量较高的蛋白为清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白。检测对比新疆不同地区的沙棘种仁的蛋白组成, 结果发现球蛋白的含量最高, 但是由于产地的不同, 每种蛋白含量还是存在差异, 其中和田县的沙棘球蛋白含量高于其他 6 个地区^[38]。崔森^[18]采用 Osborn 的方法进行蛋白分级, 对碱提提出的沙棘籽粕蛋白组成成分进行分析得知清蛋白和球蛋白含量较多, 醇溶蛋白和谷蛋白含量相对较低, 与其他学者的研究相同。通过双向电泳-质谱体系检测出沙棘种子中的蛋白点与蛋白表达量均低于沙棘果肉蛋白, 利用不同 pH 胶条分离蛋白的结果可分析出沙棘果肉蛋白的酸性蛋白数量多于碱性蛋白, 沙棘种子蛋白中却含有较多的碱性蛋白^[39]。

2.2 氨基酸组成

氨基酸组成分析通常采用氨基酸自动分析仪、高效液相色谱等方法。沙棘蛋白中含有 18 种氨基酸, 属于完全蛋白质。由于沙棘部位的不同蛋白含量也不同, 含有的氨基酸含量也存在差异(如表 3)。沙棘籽粕碱提蛋白第一限制氨基酸为蛋氨酸+胱氨酸。张文博等^[20]和张焱等^[38]均对沙棘种仁蛋白进行氨基酸分析得知酪氨酸、谷氨酸含量较多, 色氨酸含量最低, 此外精氨酸和天冬氨酸含量也较为丰富。崔森^[18]也对其提取出的沙棘籽粕蛋白进行氨基酸分析得出, 不同蛋白提取方法提取的各种氨基酸含量也不同, 碱提蛋白氨基酸含量高于醇提蛋白, 两种方法提取出的蛋白氨基酸含量均高于沙棘籽粕中氨基酸含量, 碱提蛋白与醇提蛋白中谷氨酸含量最高, 胱氨酸含量最少, 沙棘籽粕中丙氨酸含量最少, 经提取之后, 丙氨酸含量增长最多。除沙棘籽之外, 也有学者对陕西不同地区的沙棘叶中氨基酸组成进行分析, 5 个地区样品中 18 种氨基酸总含量在 17.79%~22.51% 之间, 谷氨酸、亮氨酸、色氨酸含量较高, 与沙棘种仁氨基酸含量组成有些差异, 但已含有人体必需氨基酸且含量均不低^[10]。

将沙棘籽粕蛋白和大豆蛋白进行比较可知, 沙棘籽粕碱提蛋白中必需氨基酸指数仅低于大豆蛋白 4.59%, 且沙棘籽粕碱提蛋白总必需氨基酸 346.8 mg/g, 非常接近 FAO/WHO 模式的标准蛋白的 350 mg/g, 除此之外, 沙棘蛋白与大豆蛋白必需氨

表 3 沙棘不同组织氨基酸组成比较分析

Table 3 Comparative analysis of amino acid composition in different parts of sea buckthorn

氨基酸种类	沙棘叶 ^[10] (%)	沙棘籽粕 ^[18, 40] (%)	沙棘种仁 ^[20] (%)
苏氨酸	—	3.41	3.05
色氨酸	11.63	3.10	0.31
缬氨酸	2.28	4.89	2.61
蛋氨酸	1.32	1.02	0.73
异亮氨酸	5.41	3.95	1.42
亮氨酸	8.75	7.09	4.00
苯丙氨酸	5.82	4.01	2.20
赖氨酸	6.93	4.42	2.62
精氨酸	3.69	14.64	11.15
组氨酸	3.29	2.94	1.20
天门冬氨酸	11.23	11.43	9.10
丝氨酸	4.35	5.88	3.51
谷氨酸	10.67	24.50	16.8
丙氨酸	4.55	0.14	3.16
酪氨酸	6.98	2.61	18.30
甘氨酸	4.65	4.53	2.00
胱氨酸	1.32	0.52	0.60
脯氨酸	2.48	4.09	2.11
冬氨酸	4.10	—	—

注: “—”表示为未检测。

基酸种类构成比例十分接近^[40], 由此可以看出沙棘蛋白是一种优质的植物蛋白资源。

2.3 分子量

沙棘蛋白及肽的分子量的测定多采用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳法(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)和高效凝胶色谱法。对印度 Ladakh 地区 17 个种类沙棘的叶、果实、种子中的蛋白进行 SDS-PAGE, 得到蛋白分子量大小根据沙棘种类不同而不同, 但是所有种类的蛋白分子量均集中在 96~88 kDa^[9], 熊朝伟^[39]采用 TCA-丙酮法获取沙棘种子和果肉蛋白, 利用 SDS-PAGE 测定沙棘种子及果肉的分子量范围, 沙棘种子蛋白的分子量大都集中在 45~9.5 kDa 之间, 沙棘果肉蛋白分子量大都集中在 66~20 kDa 与 14.4~6.5 kDa 之间。刘洪霞等^[41]采用高效凝胶色谱法对碱提酸沉得到的蛋白分子量进行分析得出: 分子量在 5~10 kDa 的蛋白较多, 占比达到 40.91%, 其次是分子量大于 10 kDa 的组分百分比达到了 26.14%。几篇文章所报导结果存在很大差距, 主要是由于所用沙棘种类和部位以及蛋白的提取方法不同所致。

舒丹阳^[30]对比了蛋白与蛋白酶解后的分子量变化, 酶解前蛋白分子量主要在 14.3~20.1、22~29、30~37 kDa, 酶解变为肽之后, 分子量小于 1 kDa 的比例由 15% 上升至 23.07%, 在 1~5 kDa 区间的蛋白肽比例由 17.95% 上升至 21.6%, 而大于 10 kDa 的蛋白肽的比例下降了 33.4%, 由此可看出, 酶解使蛋白的分子量大大降低。陈彤^[32]利用木瓜蛋白酶水

解沙棘籽得到酶解液,将酶解液分离纯化得到活性较强的醒酒肽,利用 SDS-PAGE 的方法测定得到活性强的醒酒肽的分子量在 3.3 kDa 以下。分子量为 2.5~3 kDa 的肽与 5~20 kDa 的肽相比,2.5~3 kDa 具有更好的提高免疫力的能力^[42]。由以上结果可知,生物活性较好的肽的分子量均较小。但目前研究中的不足是,对于肽的结构研究并不具体,也尚未确定具体的多肽分子组成。

3 沙棘蛋白及多肽的生物活性

3.1 降血糖

高血糖是现在的常见疾病。中国有许多的高血糖患者,到现在为止数量还在逐渐上升。由表 4 可知,刘洪霞等^[41]将沙棘蛋白分成高中低剂量组对小鼠进行灌胃 8 周,测量每组小鼠的血糖与体重,发现喂食沙棘蛋白的小鼠血糖水平低于 db/db 糖尿病模型小鼠,由此可以看出沙棘蛋白可以降低糖尿病小鼠体内的血糖含量。同样,其他学者研究沙棘蛋白对糖尿病小鼠作用时也得到了相同结果^[35, 43-44]。还可从糖尿病小鼠的炎症因子的水平变化解释沙棘籽蛋白的降血糖机理,沙棘籽蛋白通过调节糖尿病小鼠血清中 C 型反应性蛋白(C-reactive Protein, CRP)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6)、核转录因子- κ B (Nuclear factor- κ B, NF- κ B)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平,使肝脏组织中腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)和沉默信息调节因子 1 (silence information regulator 1, SIRT1)活性增强,进而降低葡萄糖-6-磷酸酶 (Glucose-6-phosphate, G-6-P)、糖原合成酶激酶-3

(Glycogen synthase kinase-3, GSK-3)、肉毒碱棕榈酰转移酶 1- α (Carnitine palmitoyltransferase 1- α , CPT1- α)的表达量下降,抑制胰岛素抵抗,因此小鼠的糖尿病症状得到改善^[43]。除此之外,从微生物的角度也能够解释沙棘蛋白对血糖水平的影响,沙棘蛋白处理组的肠道微生物中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌较糖尿病模型组均有显著的增加,球形梭菌则明显减少,由此来调节肠道菌群平衡,增快血糖的分解,使其能量代谢恢复到正常水平^[44]。YUAN 等^[12]的研究也证实了沙棘蛋白可增加糖尿病小鼠肠道优势菌群的种类及数量,从而缓解糖尿病症状。

3.2 抗冻活性

沙棘是一种抗冻耐寒的植物,从沙棘中提取的抗冻蛋白可以限制冰晶的形成,保护植物免受冻害。SHARMA 等^[45]分析得知从沙棘叶中提取出的 41、39 kDa 的蛋白和沙棘浆果中分离纯化出的 41 kDa 蛋白具有抗冻活性。国外研究报道沙棘种子中纯化的 IV 类几丁质酶在绿豆低温保存中对绿豆的品质变化有积极作用,使用此几丁质处理的绿豆冷冻后,滴失量和电解漏失量均降低以及对豆膜的完整性和冻融之后的气味成分的保存均有保护作用^[37]。除此之外,从沙棘中分离出的 I 类几丁质酶也同样具有耐寒性,可以保护生物免受冷冻胁迫,降低生物冷冻过程中的品质伤害,学者认为 I 类几丁质酶可能是参与了 CBF/ERF 依赖的冷应激信号通路^[46]。

3.3 醒酒活性

人体摄入乙醇后,大部分乙醇在肝脏中代谢,最后成为二氧化碳和水,一小部分乙醇在肺和肾中代

表 4 沙棘蛋白及多肽降血糖机理
Table 4 Hypoglycemic mechanism of sea buckthorn protein and polypeptides

序号	实验原料	实验模型	实验结果	作用机理	参考文献
1	沙棘籽蛋白	高脂饮食诱导胰岛素抵抗和肥胖+链脲佐菌素注射液	沙棘蛋白可以抵消糖尿病引起的小鼠体重减轻;饲喂沙棘蛋白组小鼠的空腹血糖水平显著低于糖尿病小鼠;蛋白治疗组小鼠与糖尿病对照组小鼠相比双歧杆菌、乳酸杆菌、类杆菌数量增多,类梭状芽胞杆菌数量减少;沙棘蛋白处理后,小鼠肠道菌群有一定程度的恢复。	改善小鼠肠道优势菌群数量,调节肠道菌群平衡,增加血糖分解。	[12,44]
2	沙棘籽蛋白肽(胰酶酶解所得)	SPF级db/db糖尿病模型小鼠	患病组小鼠与其他组相比行动迟缓,排泄量大,毛发粗糙甚至出现掉毛现象,沙棘蛋白肽处理之后现象有所改善且治疗组小鼠体重增加;经过沙棘蛋白肽治疗后除了肾脏丙二醛外,血清肌酐、血清尿素氮、血清尿酸、尿蛋白的含量与患病未治疗组小鼠相比均降低;通过组织形态分析可知,沙棘蛋白肽治疗可以改善糖尿病引起的肾小囊挤压性萎缩、基底膜变厚、系膜区变宽等问题。	沙棘蛋白肽可缓解由糖尿病造成的肾小球滤过率下降、通透性增加和减轻脂质过氧化等问题,从而来减轻糖尿病症状。	[35]
3	沙棘籽粕蛋白	SPF级db/db糖尿病模型小鼠	患病小鼠饮水量增加,精神萎靡、眼神涣散、毛发粗糙甚至脱落,体重增长缓慢,沙棘蛋白治疗的小鼠毛发顺滑,精神和饮食状态变好,沙棘蛋白处理高剂量组小鼠体重增长最多;沙棘蛋白治疗组小鼠血糖水平明显低于患病未治疗的小鼠,血糖曲线下面积也显著低于患病未治疗组小鼠。	沙棘蛋白可明显提高糖尿病小鼠的葡萄糖敏感性,减少葡萄糖的吸收	[41]
4	沙棘籽蛋白	高脂高糖饲料喂养+STZ注射	沙棘蛋白处理的小鼠体重水平逐渐接近于正常组;沙棘蛋白处理组与模型组相比,血清胰岛素水平和胰岛素抵抗指数水平显著降低,各脏器指数降低,总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇水平降低,高密度脂蛋白胆固醇水平升高;模型组小鼠血清中CRP、IL-6、TNF- α 、NF- κ B含量最高,经蛋白喂养后以上炎症因子的水平均降低;沙棘蛋白治疗小鼠后小鼠肝脏中的AMPK活性增强,SIRT1水平提高,G-6-P、CPT1- α 、GP和GSK-3的基因表达量降低。	改善模型小鼠胰岛素抵抗及小鼠血脂水平,调节糖尿病小鼠抗炎因子的水平以及与糖代谢相关酶的基因表达来减缓糖尿病症状	[43]

谢,通过呼吸和尿液排出。当酒精摄入过量时,会进入血液中,使身体机能产生变化。多肽可提高血液中亮氨酸和丙氨酸浓度和乙醇脱氢酶的活性,由此加快乙醇的代谢。研究表明木瓜蛋白酶酶解的沙棘多肽具有激活乙醇脱氢酶活性作用,使用多肽喂养小鼠时,小鼠血液中的乙醇含量明显低于醉酒模型组的小鼠,且醉酒时间也有减少^[32],证实可将沙棘多肽作为解酒的辅助品。

3.4 抑菌活性

根据已报道的文章可知沙棘叶、根、茎和种子均具有抑菌活性,但研究认为其抑菌活性是因为乙醇粗提物中含有酚类物质的原因^[47],但是随着对沙棘蛋白及多肽的研究增多,近年来有学者研究发现沙棘蛋白酶解物对一些细菌具有抑制作用,并且这些抑制作用与酶解沙棘蛋白使用的酶种类以及多肽的分子量大小有关。通过体内与体外抑菌实验得知,胃蛋白酶和中性蛋白酶 B 的沙棘酶解物对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌的生长具有抑制作用,利用 Prote AX 复合蛋白酶酶解得到的酶解物对绿脓杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌具有抑制作用,Prote AX 复合蛋白酶的酶解产物的抑菌效果比胃蛋白酶强,酸性蛋白酶酶解多肽则对以上四种菌均有抑制作用。此外,根据已有的研究多肽分子量在 500~2000 Da 范围内时抑菌效果较好^[32-34, 42]。虽有文章证实了沙棘多肽具有抗菌作用,但对于沙棘多肽抑菌研究的菌种多为细菌,而且沙棘多肽抑菌原理尚不明确,还需要进一步研究。

3.5 抗氧化活性

早在 2005 年已有学者发现沙棘叶醇提物具有对缺氧诱导的 C-6 胶质瘤细胞氧化应激的保护和抗氧化作用。沙棘叶醇提物能更好地抑制低氧诱导的细胞毒性、线粒体完整性损伤、活性氧簇产生和 DNA 损伤,并维持细胞抗氧化水平,但当时并未对其活性成分进行细致研究^[48]。到目前为止,已有许多研究证明沙棘多肽具有抗氧化活性^[31-33, 49-50]。多肽类的抗氧化性与多肽的分子量大小、氨基酸的组成以及酶的种类等有关,当多肽链中酪氨酸、色氨酸、组氨酸、脯氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸等氨基酸含量多时,肽的抗氧化性也会提高,有研究发现这些氨基酸可以与过氧化物结合生成亚胺或羟基衍生物^[19, 51-52]。多肽分子量为 1~2 kDa 时抗氧化活性较强,酸性蛋白酶水解多肽的抗氧化能力强于木瓜蛋白酶和胰蛋白酶,这是由于酸性蛋白酶酶解得到的多肽分子量处于 1~2 kDa 附近。利用酸性蛋白酶制备出的抗氧化肽喂养小鼠 8 周,大剂量喂养多肽的小鼠体内过氧化氢酶和谷胱甘肽水平与未喂养抗氧化肽的小鼠相比均有提高,丙二醛含量下降,此结果很好的证明了此多肽具有抗氧化活性^[33]。

3.6 提高免疫活性

有研究表明,将分子量为 2000~3500 Da 的沙棘

多肽添加到肉仔鸡的日粮中可提高肉仔鸡的法氏囊指数、脾脏指数和胸腺指数,由此提高了肉仔鸡的免疫能力,分子量为 500~2000 Da 的多肽可以提高肉仔鸡的生长发育,且多肽的添加量最多为 2%,不会大幅度提高饲料成本,这一研究有益于肉仔鸡的饲养^[42]。MISHRA 等^[53]研究了沙棘叶醇提物对老年组和青年组的鼠的免疫调节作用,结果发现沙棘叶醇提物的使用增加了干扰素- γ (Interferon-gamma, IFN- γ)产生、CD25 的分泌和 MHC-II 的表达,但脾细胞的增殖没有明显效果,老年鼠整体比成年鼠的免疫反应较弱。还有学者将沙棘原汁通过高温瞬时灭菌和喷雾干燥制成沙棘 Vp 粉,经检测 Vp 粉含有多种人体必须氨基酸,并发现沙棘 Vp 粉可以改善环磷酰胺造成小鼠免疫功能低下的问题,提高免疫器官功能^[54]。

3.7 抗炎活性

根据对用沙棘蛋白喂养的患有糖尿病小鼠的炎症因子的水平测定可知,沙棘籽蛋白可以抑制小鼠体内的炎症因子的表达^[43],此外还有的研究证明沙棘叶提取物具有抗炎活性^[55],使用沙棘叶的提取物对小鼠巨噬细胞进行处理,发现提取物抑制 NO、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)的表达和 TNF- α 、IL-6 和 IFN- γ 等促炎因子的生成,而对提取物进行成分分析得知提取物中蛋白质、单宁、碳水化合物含量较高^[56]。

3.8 其它活性

沙棘蛋白肽对糖尿病小鼠的肾脏具有保护作用,用沙棘蛋白肽喂养糖尿病小鼠,可改善其血细胞分布紊乱、肾小囊挤压性萎缩、基底膜增厚等肾病的病理性特征^[35]。徐刚^[57]对沙棘进行干旱胁迫,发现沙棘可调节蛋白的表达从而增强抗干旱能力,在干旱胁迫下热激蛋白的丰度增加,参与抗氧化物质合成、氮元素代谢调节、稳定细胞核结构和的细胞分裂等生命活动的蛋白质的表达增强,由此可推断出这些蛋白可能具有抗干旱活性。以沙棘为原料利用微生物生产出沙棘单细胞蛋白,将 12.8%~22.4% 的单细胞蛋白添加到长吻鮠鱼饲料中,提高饲料中氨基酸的种类以及含量,尤其是限制性氨基酸蛋氨酸的含量,提高了饲料的营养价值^[58]。此外沙棘多肽样品浓度在 5 mg/mL 时对酪氨酸酶具有 76% 的抑制作用^[31]。

4 展望

我国的沙棘生长面积广泛,但是沙棘利用率较低。随着人们对其作用认识越来越深入,沙棘的活性成分研究也逐渐增多,但是对于沙棘蛋白及肽的研究及应用还是稍微逊色,研究不够广泛,与其他动植物蛋白及肽的研究相比,关于沙棘蛋白及肽的生物活性研究文章数量也较少,还有许多活性未被研究,即便研究出的活性多肽也只有少数进行了结构表征,这并不利于拓展沙棘蛋白及肽的应用范围。根据已有的研究可知,沙棘蛋白及肽在医药、美容、保健食品等

方面均有着重要的作用, 相信在未来几年, 对于沙棘蛋白资源的研究利用会越来越多, 同时其应用范围也会越来越广泛。

参考文献

- [1] 张程慧, 祁玉霞, 程康蓉, 等. 沙棘的综合价值研究进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(22): 331–335. [ZHANG C H, QI Y X, CHENG K R, et al. Advances on research and applications of *Hippophae rhamnoides*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(22): 331–335.]
- [2] SURYAKUMAR G, GUPTA A. Medicinal and therapeutic potential of sea buckthorn(*Hippophae rhamnoides* L.)[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 138(2): 268–278.
- [3] 杜晓兰, 王旭旭, 田旭阳, 等. 沙棘综合价值的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(5): 15–16. [DU X L, WANG X X, TIAN X Y, et al. Research progress on comprehensive value of seabuckthorn[J]. Cereals & Oils, 2020, 33(5): 15–16.]
- [4] 常应九, 高庆超, 曹效海, 等. 沙棘活性成分及其对胃肠微生物影响的研究进展[J]. 包装工程, 2019, 40(21): 15–22. [CHANG Y J, GAO Q C, CAO X H, et al. Research progress on active components of seabuckthorn and their effects on gastrointestinal microorganisms[J]. Packaging Engineering, 2019, 40(21): 15–22.]
- [5] JAYASHANKAR B, MISHRA K P, GANJU L, et al. Super-critical extract of Seabuckthorn leaves(SCE200ET) inhibited endotoxemia by reducing inflammatory cytokines and nitric oxide synthase 2 expression[J]. *International Immunopharmacology*, 2014, 20(1): 89–94.
- [6] JAYASHANKAR B, SINGH D, TANWAR H, et al. Augmentation of humoral and cellular immunity in response to tetanus and diphtheria toxoids by supercritical carbon dioxide extracts of *Hippophae rhamnoides* L. leaves[J]. *International Immunopharmacology*, 2017, 44: 123–136.
- [7] OLAS B. The beneficial health aspects of sea buckthorn(*Elaeagnus rhamnoides*(L.) A. Nelson) oil[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018: 213.
- [8] 梁月, 殷丽强. 罗马尼亚沙棘可溶性蛋白含量差异性[J]. 国际沙棘研究与开发, 2010, 8(2): 41–43. [LIANG Y, YIN L Q. Differences in soluble protein content of *Hippophae rhamnoides*[J]. International *Hippophae rhamnoides* Research and Development, 2010, 8(2): 41–43.]
- [9] SINGH R, MISHRA S N. 印度 Ladakh 地区沙棘叶、果实、种子蛋白含量与叶中硝基酶活性之间的关系[J]. 国际沙棘研究与开发, 2006, 4(2): 15–19. [SINGH R, MISHRA S N. Relationship between protein content and nitrozyme activity in leaves, fruits and seeds of seabuckthorn in Ladakh, India[J]. International Seabuckthorn Research and Development, 2006, 4(2): 15–19.]
- [10] 刘安典, 秦三民, 王俊峰. 陕西不同地区沙棘叶的营养成分分析[J]. 国际沙棘研究与开发, 2004(2): 41–45. [LIU A D, QIN S M, WANG J F. Analysis of nutritional components in leaves of *Hippophae rhamnoides* in different areas of Shaanxi[J]. International Research and Development of *Hippophae rhamnoides*, 2004(2): 41–45.]
- [11] 曾齐, 蔡朝霞, 刘亚平, 等. 禽蛋源生物活性肽的研究进展[J]. *食品科学*, 2020: 1–23. [ZENG Q, CAI Z X, LIU Y P, et al. Research progress of bioactive peptides from poultry eggs[J]. *Food Science*, 2020: 1–23.]
- [12] YUAN H, SHI F, MENG L, et al. Effect of sea buckthorn protein on the intestinal microbial community in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107: 1168–1174.
- [13] SHOBAKO N, OHINATA K. Anti-hypertensive effects of peptides derived from rice bran protein[J]. *Nutrients*, 2020, 12(10): 3060.
- [14] MARYA, KHAN H, NABAVI S M, et al. Anti-diabetic potential of peptides: Future prospects as therapeutic agents[J]. *Life sciences (1973)*, 2018, 193: 153–158.
- [15] PAN X, ZHAO Y, HU F, et al. Preparation and identification of antioxidant peptides from protein hydrolysate of skate(*Rajapora*) cartilage[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 25: 220–230.
- [16] GEETHA S, SAIRAM M, SINGH V, et al. Anti-oxidant and immunomodulatory properties of seabuckthorn(*Hippophae rhamnoides*)—an *in vitro* study[J]. *Journal of ethnopharmacology*, 2002, 79(3): 373–378.
- [17] 王芳. 不同提取方法下腰果蛋白功能性与结构的关系及其蛋白的纯化探索[D]. 南昌: 南昌大学, 2016. [WANG F. Relationship between function and structure of cashew protein extracted by different methods and exploration of protein purification[D]. Nanchang: Nanchang University, 2016.]
- [18] 崔森. 沙棘籽粕蛋白的提取及其功能性质的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2011. [CUI M. Extraction and functional properties of seabuckthorn seed meal protein[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2011.]
- [19] 逢治飞. 沙棘籽粕抗氧化肽制备及其活性研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018. [PANG Z F. Preparation and activity of anti-oxidant peptides from seabuckthorn seed meal[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2018.]
- [20] 张文博, 库尔班江, 张焱. 新疆野生沙棘种仁蛋白的提取和氨基酸分析[J]. 粮油加工, 2008(8): 56–58. [ZHANG W B, KU E B J, ZHANG Y. Extraction and amino acid analysis of Xinjiang wild seabuckthorn kernel protein[J]. Grain and Oil Processing, 2008(8): 56–58.]
- [21] 赵晨伟. 沙棘分离蛋白提取工艺研究[J]. *粮食与食品工业*, 2009, 16(6): 33–35. [ZHAO C W. Study on extraction technology of seabuckthorn protein isolate[J]. *Grain and Food Industry*, 2009, 16(6): 33–35.]
- [22] 左蕾蕾, 邹丽霞, 向雪兰, 等. 碱法提取沙棘叶蛋白质工艺研究[J]. 食品科技, 2018, 43(5): 275–279. [ZUO L L, ZOU L X, XIANG X L, et al. Study on alkaline extraction of seabuckthorn leaf protein[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(5): 275–279.]
- [23] 林萌萌. 鲜味肽功能及制备安全性研究[D]. 北京: 北京理工大学, 2016. [LIN M L. Study on the function and preparation safety of delicious peptide[D]. Beijing: Beijing University of Technology, 2016.]
- [24] ZHANG Z, WANG Y, DAI C, et al. Alkali extraction of rice residue protein isolates: Effects of alkali treatment conditions on lysinoalanine formation and structural characterization of lysinoalanine

- ine-containing protein[J]. *Food Chemistry*, 2018, 261: 176–183.
- [25] 田景民, 陈贵林. 响应面法优化沙棘籽渣水溶性蛋白质提取工艺研究及其氨基酸组成分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(3): 1321–1329. [TIAN J M, CHEN G L. Optimization of water soluble protein extraction from seabuckthorn seed residue by response surface methodology and analysis of its amino acid composition[J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2016, 7(3): 1321–1329.]
- [26] 凌孟硕, 崔森, 赵晨伟, 等. 沙棘籽粕蛋白的碱酶两步法提取工艺及功能性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(17): 240–244. [LING M S, CUI M, ZHAO C W, et al. Study on the alkali enzyme two-step extraction process and function of seabuckthorn seed meal protein[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2012, 33(17): 240–244.]
- [27] 崔森, 凌孟硕, 孙明奎, 等. 碱酶两步法提取沙棘籽蛋白的工艺研究[J]. 中国油脂, 2012, 37(9): 31–35. [CUI M, LING M S, SUN M K, et al. Study on extraction of seabuckthorn seed protein by alkaline enzymatic two-step method[J]. *Chinese Journal of Oil and Fat*, 2012, 37(9): 31–35.]
- [28] 龙晓燕, 龙谭, 刘玉林, 等. 沙棘籽粕中蛋白质提取工艺研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(7): 63–66. [LONG X Y, LONG T, LIU Y L, et al. Study on extraction technology of protein from seabuckthorn seed meal[J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2017, 19(7): 63–66.]
- [29] 左蕾蕾, 焦婷, 邹丽霞, 等. 沙棘叶多肽制备工艺研究[J]. 食品与发酵科技, 2019, 55(1): 30–34. [ZUO L L, JIAO T, ZOU L X, et al. Study on the preparation technology of seabuckthorn leaf polypeptide[J]. *Food and Fermentation Technology*, 2019, 55(1): 30–34.]
- [30] 舒丹阳. 沙棘籽蛋白酶解肽的抗氧化活性、对小鼠的降血糖效果及肾脏保护作用[D]. 广州: 华南理工大学, 2020. [SHU D Y. Antioxidative activity, hypoglycemic effect and renal protective effect of seabuckthorn seed protein enzymatic peptide in mice[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020.]
- [31] 黄鹏, 苏宁, 王昌涛. 沙棘生物活性肽的制备及功效研究[J]. 食品与机械, 2010, 26(6): 67–69. [HUANG P, SU N, WANG C T. Preparation and efficacy of bioactive peptides from seabuckthorn[J]. *Food and Machinery*, 2010, 26(6): 67–69.]
- [32] 陈彤. 用沙棘籽渣制备功能性多肽的研究[D]. 山西: 山西大学, 2016. [CHEN T. Study on the preparation of functional peptides from seabuckthorn seed residue[D]. Shanxi: Shanxi University, 2016.]
- [33] 连伟帅. 用沙棘籽渣制备活性肽的研究[D]. 太原: 山西大学, 2014. [LIAN W S. Study on preparation of active peptides from seabuckthorn seed residue[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2014.]
- [34] 陈彤, 王常青, 连伟帅, 等. 沙棘籽渣酶解产物的体内外抑菌作用[J]. 食品科学, 2015, 36(11): 91–94. [CHEN T, WANG C Q, LIAN W S, et al. Antibacterial activity of enzymatic hydrolysates from seabuckthorn seed residue *in vitro* and *in vivo*[J]. *Food Science*, 2015, 36(11): 91–94.]
- [35] 舒丹阳, 熊捷, 刘鹏展, 等. 沙棘籽蛋白肽对 db/db 小鼠降血糖活性及肾脏保护作用[J]. 食品工业科技, 2020, 41(21): 317–321. [SHU D Y, XIONG J, LIU P Z, et al. Hypoglycemic activity and renal protection of seabuckthorn seed protein peptide on db/db mice[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2020, 41(21): 317–321.]
- [36] 谢博, 傅红, 杨方. 生物活性肽的制备、分离纯化、鉴定以及构效关系研究进展[J]. 食品工业科技, 2020: 1–19. [XIE B, FU H, YANG F. Research progress on preparation, purification, identification and structure activity relationship of bioactive peptides[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2020: 1–19.]
- [37] KASHYAP P, KUMAR S, SINGH D. Performance of anti-freeze protein HrCHI4 from *Hippophae rhamnoides* in improving the structure and freshness of green beans upon cryopreservation[J]. *Food Chemistry*, 2020, 320: 126599.
- [38] 张焱, 高文远, 库尔班江. 新疆不同产地的野生沙棘种仁中的油脂脂肪酸和蛋白质氨基酸组分的研究[J]. 粮油加工, 2007(10): 79–82. [ZHANG Y, GAO W Y, KU E B J. Studies on the fatty acids and amino acids of oil and protein in wild *Hippophae rhamnoides* seeds from different areas in Xinjiang[J]. *Grain and Oil Processing*, 2007(10): 79–82.]
- [39] 熊朝伟. 沙棘果肉与种子蛋白双向电泳质谱体系建立[J]. 分子植物育种, 2019, 17(8): 2600–2606. [XIONG C W. Establishment of two-dimensional electrophoresis mass spectrometry system for flesh and seed proteins of seabuckthorn[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(8): 2600–2606.]
- [40] 崔彦民, 王立新, 张琳, 等. 沙棘籽蛋白与大豆蛋白的氨基酸成分分析比较[J]. 内蒙古石油化工, 2006(4): 7–8. [CUI Y M, WANG L X, ZHANG L, et al. Analysis and comparison of amino acid composition of seabuckthorn seed protein and soybean protein[J]. *Inner Mongolia Petrochemical Industry*, 2006(4): 7–8.]
- [41] 刘洪霞, 舒丹阳, 刘鹏展, 等. 沙棘蛋白的特性及其对 db/db 糖尿病小鼠的降血糖作用[J]. 食品工业科技, 2020, 41(7): 309–313. [LIU H X, SHU D Y, LIU P Z, et al. Characteristics of seabuckthorn protein and its hypoglycemic effect on db/db diabetic mice[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2020, 41(7): 309–313.]
- [42] 连伟帅, 高英, 王常青, 等. 用沙棘籽渣加工饲料级活性肽[J]. 农产品加工(学刊), 2012(12): 59–61. [LIAN W S, GAO Y, WANG C Q, et al. Processing feed grade active peptides from seabuckthorn seed residue[J]. *Agricultural Products Processing (Academic Journal)*, 2012(12): 59–61.]
- [43] 朱西平. 沙棘籽蛋白对 2 型糖尿病模型小鼠体内降血糖与炎症因子的干预作用[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016. [ZHU X P. Intervention of seabuckthorn seed protein on hypoglycemic and inflammatory factors in type 2 diabetic mice[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2016.]
- [44] 王文娟. 沙棘蛋白对糖尿病小鼠肠道微生物及脂类代谢的影响[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017. [WANG W J. Effects of seabuckthorn protein on intestinal microorganisms and lipid metabolism in diabetic mice[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2017.]
- [45] SHARMA B, SAHOO D, DESWAL R. Single-step purification and characterization of antifreeze proteins from leaf and berry of a freeze-tolerant shrub seabuckthorn(*Hippophae hamnoides*)[J]. *Journal of Separation Science*, 2018, 41(20): 3938–3945.

- [46] KASHYAP P, DESWAL R. A novel class I Chitinase from *Hippophae rhamnoides*: Indications for participating in ICE-CBF cold stress signaling pathway[J]. *Plant Science*, 2017, 259: 62–70.
- [47] MICHEL T, DESTANDAU E, LE FLOCH G, et al. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn(*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed[Z]. 2012: 131, 754–760.
- [48] NARAYANAN S, RUMA D, GITIKA B, et al. Antioxidant activities of seabuckthorn(*Hippophae rhamnoides*) during hypoxia induced oxidative stress in glial cells[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2005, 278(1): 9–14.
- [49] 李乐, 陈树俊, 康俊杰, 等. 沙棘油复合蛋白多肽液抗氧化性研究[J]. *山西农业科学*, 2016, 44(4): 474–479. [LI L, CHEN S J, KANG J J, et al. Study on antioxidant activity of seabuckthorn oil complex protein peptide solution[J]. *Shanxi Agricultural Sciences*, 2016, 44(4): 474–479.]
- [50] 王茂广. 沙棘籽蛋白酶解物抗氧化作用初探[J]. *中国粮油学报*, 2014, 29(4): 42–45. [WANG M G. Preliminary study on antioxidant activity of enzymatic hydrolysate of seabuckthorn seed[J]. *Chinese Journal of Cereals and Oils*, 2014, 29(4): 42–45.]
- [51] PENG L, KONG X, WANG Z, et al. Baijiu vinasse as a new source of bioactive peptides with antioxidant and anti-inflammatory activity[J]. *Food Chemistry*, 2021: 339.
- [52] CHEN M, NING P, JIAO Y, et al. Extraction of antioxidant peptides from rice dreg protein hydrolysate via an angling method[J]. *Food Chemistry*, 2021: 337.
- [53] MISHRA K P, MISHRA R, YADAV A P, et al. A comparative analysis of immunomodulatory potential of seabuckthorn leaf extract in young and old mice[J]. *Biomedicine & Aging Pathology*, 2011, 1(1): 61–64.
- [54] 李刚, 何彦峰, 丁学峰, 等. 沙棘 Vp 粉的制备及增强免疫功能研究[J]. *食品科学*, 2014, 35(21): 229–233. [LI G, HE Y F, DING X F, et al. Preparation of *Hippophae rhamnoides* Vp powder and its enhancement of immune function[J]. *Food Science*, 2014, 35(21): 229–233.]
- [55] JAYASHANKAR B, MISHRA K P, KUMAR M S Y, et al. A supercritical CO₂ extract from seabuckthorn leaves inhibits pro-inflammatory mediators via inhibition of mitogen activated protein kinase p38 and transcription factor nuclear factor- κ B[J]. *International Immunopharmacology*, 2012, 13(4): 461–467.
- [56] TANWAR H, SHWETA, SINGH D, et al. Anti-inflammatory activity of the functional groups present in *Hippophae rhamnoides*(seabuckthorn) leaf extract[J]. *Inflammopharmacology*, 2018, 26(1): 291–301.
- [57] 徐刚. 中国沙棘 (*Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis*) 不同种群对于干旱胁迫的响应差异与干旱诱导蛋白的分析 [D]. 成都: 中国科学院研究生院 (成都生物研究所), 2007. [XU G. Response difference of different populations of *Hippophae rhamnoides* to drought stress and analysis of drought induced proteins[D]. Chengdu: Graduate School of Chinese Academy of Sciences(Chengdu Institute of Biology), 2007.]
- [58] 贺锡勤, 代小江. 以沙棘果渣单细胞蛋白部份替代长吻鲢鱼种饲料中鱼粉的研究[J]. *水产科技情报*, 1994(3): 127–130. [HE X Q, HE X Q, DAI X J. A study on the partial replacement of fish meal in the feed for the fingerling of *Leiocassis longirostris* by the single cell protein of seabuckthorn fruit residue[J]. *Fisheries Science and Technology Information*, 1994(3): 127–130.]