

淡水鱼生物活性肽及其生物活性研究进展

柯勤勤, 钟海霞, 李美良*

四川农业大学食品学院, 雅安 625014

摘要: 淡水鱼生物活性肽是以淡水鱼为原料, 采用酶解等方法从淡水鱼蛋白质中得到的具有独特理化特性和生物学活性的小肽物质。目前, 从淡水鱼中已分离出多种具有生物活性的肽段, 但关于淡水鱼源肽的结构和活性之间关系的报道尚不多。本文综述了淡水鱼生物活性肽的种类、制备与纯化和应用前景, 并对未来进行了展望, 以为淡水鱼活性肽的进一步研究和开发利用提供参考。

关键词: 淡水鱼生物活性肽; 制备; 纯化; 应用

中图分类号: TS254.9

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.7.029

Review on Bioactive Peptides of Freshwater Fish

KE Qin-qin, ZHONG Hai-xia, LI Mei-liang*

College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

Abstract: Bioactive peptides of freshwater fish are some small peptides material with unique physical and chemical properties and biological activity, which were obtained from the enzymatic hydrolysis of freshwater fish protein. At present, multiplicate bioactive peptides have been extracted from freshwater fish protein, however, few studies on the relationship between the activity and structure of bioactive peptides from freshwater are reported. The research on bioactive peptides was summarized including the kinds of bioactive peptides, its preparation, purification and application prospect so as to offer relative references for further research and application of freshwater fish bioactive peptides.

Key words: freshwater fish bioactive peptide; preparation; purification; application

我国地域辽阔, 鱼类资源丰富, 尤其淡水鱼养殖量已经跃居世界首位, 并且淡水鱼具有种类繁多、营养丰富、肉质细嫩等特点, 已经成为大众喜爱的健康食品。我国水产品加工发展迅速, 加工过程中产生了大量下脚料, 利用这些加工废弃物提取生物活性肽, 已经逐渐成为国内外学者研究的热点。淡水鱼及其下脚料是新型活性物质的巨大来源, 具有很大的开发潜能^[1]。生物活性肽是指有利于生命机体活动和健康, 能够优化机体代谢环境的小肽类物质^[2]。这些存在于蛋白质氨基酸序列中的小肽本身没有生物活性, 但是用蛋白酶进行体外水解后就会被释放出来并具有生物活性。不同氨基酸的组成和排序决定了活性肽的不同生物功能^[2]。近年来人们已经从淡水鱼、淡水鱼加工中的副产物中提取了多种生物活性肽, 它们不仅能为人们提供营养成分, 而且还具有许多生物学功能, 如抗氧化、降血压、

降血脂、抗菌等^[3-6]效果。随着消费者在饮食与健康方面意识的提高, 人们对功能性食品成分和保健营养品的认知和需求也逐渐增加, 来源于淡水鱼和淡水鱼加工下脚料的生物活性肽, 因为其具有安全、无毒副作用、来源广泛等优点在功能性食品的开发中极具潜力。同时也降低了水产品加工副产物随意抛弃而对自然环境造成的污染压力, 而且有利于提高产品附加值。本文综述了淡水鱼的各种生物活性肽在国内外的研究进展及其制备分离纯化等情况, 并进一步阐述了它们的应用前景, 为进一步开展淡水鱼研究应用提供参考。

1 淡水鱼生物活性肽的种类

1.1 抗氧化肽

1956年 Harman 提出了衰老的自由基理论之后, 越来越多的人认识到人体内因氧化产生的自由基与人的衰老和许多疾病有关^[7]。自由基在人体内可攻击 DNA、蛋白质、脂肪等大分子物质, 从而加速机体的衰老, 对人体造成伤害。而抗氧化剂按其来源分为天然抗氧化剂和合成抗氧化剂, 但是合成

的抗氧化剂对人体存在毒副作用,因而使其应用受到限制。随着消费者对食品安全和抗氧化剂安全使用意识的提高,人们将目光逐渐转向天然抗氧化剂的研发。而来源于食品原料中的抗氧化肽就是近年来学者热衷研究的对象之一,也是淡水鱼中研究较多的生物活性肽^[8-12]。

任娇艳等^[13]利用超滤、离子交换色谱、高效逆流色谱以及凝胶过滤色谱等系列分离纯化技术从草鱼蛋白酶解产物中分离纯化出抗氧化活性肽,分离过程中发现相对分子质量 1~3 kD 的组分抗氧化活性最强,并最终借助反相高效液相色谱在线连接的电喷雾质谱结合氨基酸分析鉴定出一种抗氧化肽,其一级结构序列为 PSKYEPFV。庄永亮等^[14]利用中性蛋白酶和碱性蛋白酶连续水解罗非鱼鱼皮胶原蛋白水解液,并将该水解液依次通过 SephadexG-25 凝胶色谱柱、SP SephadexC-25 阳离子交换色谱柱、Sephadex G-15 凝胶色谱柱和反向高效液相色谱(RP-HPLC)进行分离纯化,得到了一种氨基酸序列为 EGL 的抗氧化肽,其分子量为 317.33 Da,并具有羟基自由基清除能力。丁利君等^[15]采用枯草杆菌碱性蛋白酶酶解非洲鲫鱼蛋白,以酶解液清除羟基自由基的效果为分析指标,得出最佳酶解条件为:pH8.0,温度 60 °C,肉水比 1:8(质量分数),酶解时间 4h。此条件下酶解物对羟基自由基的清除率为 52.63%。许多研究表明,抗氧化肽具有清除自由基、抑制脂质氧化、金属螯合能力、激活机体本身内在抗氧化防御系统等功效;同时抗氧化肽也具有好的溶解性、高抗氧化活性、低粘度和低疏水性等特点,易于体内吸收。另一方面,抗氧化活性的大小与其小肽的氨基酸组成、含的疏水性氨基酸有关。经酶解后的淡水鱼蛋白,含疏水氨基酸的肽大量释放出来,参与到酶解物的抗氧化进程中,使其具有较强的抗氧化作用;小肽中含有相关氨基酸会表现出较好的抗氧化活性,例如,吡咯环可以提供质子,使得含有脯氨酸的小肽螯合金属离子,清除过氧化氢自由基和活性态氧自由基。对于酸性或碱性氨基酸则通过侧链的羰基或氨基来螯合金属离子而起到抗氧化作用,比如:天冬氨酸和谷氨酸等酸性氨基酸以及精氨酸、赖氨酸等碱性氨基酸^[16-18]就是这样起作用的。淡水鱼及其下脚料作为一种新型的天然抗氧化剂的原料,具有很大的市场前景,有望成为传统合成抗氧化剂的替代品。

1.2 降血压肽

高血压是全球最常见的心血管疾病,它不仅患病率高,而且也是诱发冠心病、肾功能衰竭及心肌梗塞的因素之一。目前我国临床上常用的抗高血压药物都是一些合成药物,包括利尿药、 β 受体阻滞剂、血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 II 受体阻滞剂、钙拮抗剂等五大类。但这些药在降压的同时会引起头痛、水肿、咳嗽、面色潮红等副作用^[19]。而来源于食品的降血压肽由于其具有天然、安全、健康、营养等优点逐渐引起人们广泛的关注。目前国内外相关的报道大多集中在海产品、牛乳蛋白、大豆蛋白、乳酪蛋白、乳清蛋白,很少有学者对淡水鱼降血压肽进行报道,可能是因为鱼降血压肽中灰分含量较高,限制了其在食品中的应用,同时在降血压肽合成中,许多杂质显示出与目标产物相类似的性质,可能也会给降血压肽的分离纯化造成一定的困难^[19,20]。

早年黄艳春^[21]研究了不同淡水鱼、不同部位鱼肉酶解产物的 ACE 抑制效果。发现用风味蛋白酶水解鲢鱼、鳙鱼、草鱼、鳊鱼、鲫鱼和鲤鱼时,其水解产物均有一定程度的 ACE 抑制活性,其中鳊鱼酶解液的抑制活性最高,草鱼稍次之,鲢鱼和鳙鱼比较接近,鲫鱼和鲤鱼的抑制活性最低;鲢鱼鱼背部白肉、红白混合肉和两侧白肉的抑制活性最高,鱼皮和红肉次之,腹部活性最低。

近些年随着降血压肽在药用业和功能性食品方面的应用,来源于丰富淡水鱼资源的降血压肽越来越引起人们的关注。胡娟^[22]等用碱性蛋白酶水解罗非鱼鱼鳞明胶,并测定了水解产物的 ACE 抑制活性。通过超滤处理富集了具有较高活性的 ACE 抑制肽。并得出了鱼鳞明胶水解物的 ACE 抑制活性主要是来源于 C 末端含脯氨酸、羟脯氨酸和色氨酸的寡肽的结论。林利美^[23]学者用高效液相色谱检测草鱼活性肽体外 ACE 抑制活性,得出草鱼肽对 ACE 抑制活性的 IC_{50} 为 0.26 mg/mL,并以原发性高血压大鼠和正常血压京都大鼠为模型,对草鱼肽体内降血压效果进行评价,实验证明草鱼肽具有降血压作用,降血压机制与 RAS(肾素-血管紧张素系统)和 NO(缓激肽-氧化氮系统)的调节有关。Chen J^[24]等用碱性蛋白酶水解草鱼蛋白,分离纯化后得到一种 ACE 抑制肽氨基酸序列:VAP,并模拟体外胃肠消化草鱼蛋白过程,发现其水解液中含有的 ACE 抑制肽具有稳定性。因此从淡水鱼蛋白水解

液中获得降血压肽可以用来预防高血压和开发降血压药品,为患者提供安全、无副作用的药物。

1.3 抗菌肽

抗菌肽是生物界中广泛存在的一类生物活性肽,它具有抗菌活性强、抗菌谱广、杀菌快和不易产生耐药性等优点。目前由于抗生素的长时间使用,自然界中微生物的抗药性也不断增强。在人和动物身上已发现了能抵抗所有现有抗生素的耐药菌株,由此也引发了一系列的安全问题,如药物残留和耐药性等问题^[25]。因此人们致力于研发新型的,满足用药安全、无副毒作用等优点的新型抗菌剂。淡水鱼长期生活于富含各种各样微生物的水环境中,为了适应生存使其形成了有效防御功能的抗菌肽。鱼类抗菌肽是鱼体天然免疫的重要组成部分,是一类小分子蛋白质。

吴林泽^[25]从草鱼下脚料中纯化出了具有高活性的抗菌肽,其对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有一定的抑制作用。黄平^[26]从草鱼肠道中提取出抗菌肽,并通过实验证明其对致病性大肠杆菌、鱼致病性沙门氏菌、鱼致病性嗜水气单胞菌、鱼害粘球菌、巴氏杆菌、链球菌均有较强的抑制或杀灭作用。Marie R^[27]等用复合蛋白酶水解罗非鱼下脚料,发现罗非鱼下脚料水解液存在抗菌性,其抗菌肽对芽孢杆菌、鼠疫杆菌和爱德华菌属有一定的抑菌作用。本团队陈海^[28]等对鲢鱼半胱氨酸蛋白酶抑制因子 Cystatin 进行 Ni^{2+} -NTA 镍离子亲和层析,得到纯化后的蛋白酶抑制因子 Cystatin 对铜绿假单胞菌存在明显抑菌效果,并呈剂量依赖关系。抗菌肽多数具有水溶性好、强碱性、抗菌活性高、热稳定、广谱抗菌及不易引起病原产生耐药性等优点,所以抗菌肽在替代抗生素方面有着重要意义^[25]。有研究报道抗菌肽的这种特点可以与食品包装材料结合一起,制造出新型的食品包装材料从而延长食品的货架期,达到保藏食品,保障食品安全的目的^[29]。

人们从不同水产食品原料中鉴定出具有各种不同功能的生物活性肽,包括抗氧化肽、抗菌肽、降血压肽、抗衰老肽、抗疲劳肽、增强免疫肽等^[29-34]。目前研究的热点都聚集在这几种生物活性肽上,有学者^[35]利用 D-半乳糖致衰小鼠模型,观察了鳙鱼肽对衰老模型小鼠免疫器官指数及吞噬能力的影响,以及对小鼠血清、肝脑组织中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)

及单胺氧化酶(MAO-B)等的影响,得出鳙鱼肽具有抗衰老和免疫调节的功能。任娇艳^[36]从草鱼蛋白源中鉴定分离出的抗疲劳生物活性肽,具有缓解疲劳的功效。本团队刘玲^[37]发现鲢鱼卵 gHMW CPI-b-2-14 能有效的抑制 Ishikawa 细胞的增殖、迁移、粘附和克隆形成。于志鹏^[38]等人从蛋清中分离出的抗糖尿病活性肽具有抑制淀粉酶和葡糖苷酶的作用,是一种潜在抗糖尿病抑制剂。说明食品原料中存在着很多功能不同的生物活性肽,这为以后分离出更多种类的生物活性肽提供参考价值。

2 生物活性肽的制备及纯化

目前提取淡水鱼活性肽最常用的方法就是酶法提取和微生物发酵法。由于酸碱提取法会产生有毒物质,因此在活性肽的研究中用得很少。酶法提取过程中,酶的选择、酶的工艺条件如酶解时间、温度、pH 等都是影响多肽得率的重要因素,许多学者在酶解蛋白优化工艺上颇有研究^[43,44,46]。而采用微生物发酵法制备淡水鱼生物活性肽的报道较少。

2.1 生物活性肽酶法制备工艺

由于酶水解法具有条件温和、无刺激性、易于控制、安全性高等特点,已经成为食品和制药工业的首选方法。采用酶解方法生产淡水鱼生物活性肽,一是可以生产大量小肽且成本低;二是反应底物、反应剂和反应环境没有危害,酶水解包括单一酶水解和多种酶复合水解^[39]。

酶法生产活性肽的研究中,蛋白酶是水解蛋白质的关键。此类蛋白酶包括胃蛋白酶、胰蛋白酶等动物蛋白酶和木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶等植物蛋白酶,另外还有包括枯草杆菌蛋白酶、嗜热菌蛋白酶等在内的微生物蛋白酶。酶类的选择和酶解方式不一样会给蛋白水解带来不一样的结果,这是由于酶本身的特性,即使对于同一种蛋白质,不同的酶类会产生不同的酶解效果。如胰蛋白酶能特异性切掉赖氨酸和精氨酸残基上的羧基,而复合风味蛋白酶系中含有多种酶,兼具内切酶和外切酶两者的特点。此外,在酶解过程中温度、时间、pH 等因素也将对产物造成很大的差异^[40]。如慕现敏^[41]通过研究了胃蛋白酶、胰蛋白酶和风味蛋白酶的单一酶和分步酶解方式对罗非鱼鱼鳞的水解效果,得出三种酶分步酶解时,鱼鳞肽的钙离子结合活性最高(1.04 mmol/g),其水解度为 22.24%。此条件下的鱼鳞钙离子结合活性肽具有较好的补钙效果。Wald M^[42]等研

究发现鳕鱼下脚料的酶解产物对嗜冷黄杆菌、鲑鱼肾杆菌均有一定的抑制作用,其最小抑制浓度分别为 2、5 mg/mL。顾林^[43]等研究了碱性蛋白酶对鲫鱼的水解作用及其水解液的抗氧化活性效果,得出最佳酶解条件:酶浓度 4%,底物浓度为 10%,pH 8.0,时间为 4 h。此时可以获得较高水解度,同时水解液对 DPPH 自由基和超氧阴离子自由基(O₂⁻)具有较高清除率。周贺霞^[44]利用中性蛋白酶、碱性蛋白酶、复合蛋白酶、胰蛋白酶 4 种方法分别水解巴沙鱼皮,发现复合蛋白酶的 ACE 抑制率最高,达到 73.09%,并用响应面优化鱼皮胶原蛋白抑制肽的酶解条件,得出最佳酶解条件为:酶底比为 340 U/g、酶解时间为 1.27 h、固液比为 1:7.7。在此条件酶解液的 IC₅₀ = 1.417 mg/mL 等。Chi C^[45]等用中性蛋白酶水解泥蚶肌肉蛋白,酶解所获得的两个小肽分子可作为天然的抗氧化剂和抗癌剂运用到营养食品和医药行业中去。

另一方面,超声波辅助酶法作为一种新的辅助酶解方法,可强化提取过程和加速反应,并可影响蛋白质的二级结构、疏水性、絮凝性,进而影响酶水解效果,其原理是利用超声波有波动与能量的双重属性,具有方向性好、方向性强的特点,是一种新型的非热处理技术,能够提高生物活性肽的生物活性^[46]。王军^[46]等采用超声波辅助酶解鲶鱼肉制备抗氧化肽,并通过响应面法得到鱼肉蛋白超声辅助酶法制备抗氧化肽的最佳工艺参数为:超声时间 42 min、超声温度 40 ℃、超声功率 320 W、酶解时间 5.3 h,此条件下抗氧化肽的得率为 1.13%。制备的抗氧化肽具有较强的抗脂质过氧化能力和清除 DPPH 自由基能力,其 IC₅₀ 值分别为 0.55 mg/mL 和 0.69 mg/mL。

尽管人们对酶解淡水鱼工艺条件进行了优化,其水解度却未超过 60%,多肽得率也普遍不高,而水解度能够影响酶解液的生物活性,其水解度越高活性越强,因为水解度能影响肽链长度及其末端暴露的疏水性氨基酸^[47-51],这也是以后所需要研究的一个方向。

2.2 生物活性肽微生物发酵法制备工艺

刘芳^[52]利用混合菌种发酵法发酵鳕鱼皮制取胶原多肽,其最优发酵条件为:JFOY3 + 啤酒酵母 + H-2,菌种添加比例 JFOY3:啤酒酵母:H-2 为:2:1:1,发酵时间为 30 h,在此条件下的水解度可达到 46.12%。并对不同分子量段的鳕鱼皮胶原多肽进

行了体外抗氧化活性实验,主要包括清除 DPPH 自由基、清除羟自由基和清除超氧阴离子。结果表明分子量越小清除能力越强。刘姝^[53]等将米曲霉接种于鱼鳔匀浆液中对其进行直接发酵,利用菌产蛋白酶的作用水解鱼鳔蛋白,并对所得鱼鳔多肽进行超滤,采用产 O₂⁻ 和 OH⁻ 化学模型研究其清除自由基的活性,实验结果表明:经发酵 40 h 水解度(22 ± 0.8)% 所得鱼鳔多肽体外抗氧化能力较强。此法所得鱼鳔多肽不仅对自由基具有强烈的清除作用,还能明显抑制脂质的氧化。吴海滨^[54]在利用米曲霉发酵鳕鱼皮制备生物活性肽的研究过程中,得出发酵活性肽血管紧张素转化酶抑制的 IC₅₀ 值为 2.53 mg/mL,说明鳕鱼皮活性肽具有较好的降血压作用。王云^[55]利用罗非鱼下脚料和豆粕混合发酵生产新型饲料蛋白时,发现其抗营养因子活性物质有所下降,有利于营养物质的消化吸收。

相比较酶解法,微生物发酵法尚存在一些不足,主要表现在发酵时间过长,容易杂菌污染,很多产酶菌存在安全隐患问题,而且得到的多肽均一性较差,链长度分布范围较广,造成后续分离纯化的困难^[2,53]。这可能也是目前关于水产发酵法制备活性肽报道较少的原因之一。

2.3 生物活性肽的分离与纯化

通过酶解法获得的蛋白肽相对分子质量大小、组成、结构和功能等方面各不相同,不可避免地导致了蛋白质酶解产物成分的复杂多样,从而分离纯化成了生物活性肽制备过程中必不可少的环节。目前多肽分离纯化的主要方法包括:超滤、离子交换色谱法、反相高效液相色谱法、各种低压柱层析、毛细管电泳法、聚丙烯酰胺电泳法、低压疏水交互作用色谱等。而在淡水鱼生物活性肽的分离与纯化中用得较为广泛的的就是前四种,国内外也有相关报道^[29,56-59]。

本团队李树红^[60]等通过凝胶过滤高效液相色谱法、反相酶谱和免疫印迹法,证明草鱼肝胰粗提液中存在约 12kDa 的 Cystatin (家族 II) 的半胱氨酸蛋白酶抑制剂 CPIs;Li M^[61]等从红豆种子纯化出了含有 28kDa 亚基的蛋白质,发现其 N 端的肽序列 ASTAPLTGVIFEPFE,具有显著的铁氧化活性;Leila N^[62]等通过超滤、离子交换色谱、凝胶过滤层析和反相高效液相色谱法分离纯化巴丁鱼水解液,并用高效液相色谱和电喷雾质谱联合使用确定了三个抗氧化肽序列:GVDNPGHP, DPQHPVMPR, LVVDIPAALQA;You L^[63]等利用木瓜蛋白酶水解泥鳅

蛋白,并通过超滤、离子交换色谱、凝胶过滤层析和两步反相高效液相色谱法分离纯化其水解液,得到高浓度的抗氧化活性的肽类,最后用 on-line C-ESI-MS/MS 法确定一种抗氧化肽的氨基酸序列:PSYV (464.2 Da);Toopcham T^[64] 等通过超滤、阴阳离子交换色谱分离和气相色谱法分离纯化罗非鱼肉水解液,得到生物活性最高的降血压肽(IC₅₀ = 0.15 mg/mL),并用液相色谱串联质谱法确定了一种具有热稳定性、降血压活性高的 ACE 抑制肽:MILLFR;Ghassem M^[65] 等通过超滤、分子排阻色谱从鲤鱼蛋白水解液中分离纯化出三组降血压活性高的组分,并进一步用反相高效液相色谱和 ESI-TOF MS/MS 法确定了两组 ACE 抑制肽序列:VPAAPPK、NGTW-PEPP;但总体来看,目前大多分离纯化得到的肽类序列较少,酶水解蛋白得到的多是分子量小的混合肽,要得到单一序列纯化后的活性肽难度较高,据研究报道^[66],有学者通过磁亲和技术与反相高效液相色谱法结合,有效地从鳝鱼蛋白液中分离出一种新的降血压抑制肽,其序列为:GMKCAF,这或许为以后提取淡水鱼蛋白源活性肽提供了新的思路。另一方面经纯化得到的单一肽进行进一步研究的工作还须加强,比如其结构与功能的关系、作用机制和应用。而且分离纯化的方法有多种,并不是每一种方法都是可靠、可行的。据报道,从生产角度考虑,生物酶解液的生物活性往往是多种肽混合物共同作用的结果,当采用色谱等技术对其进行纯化可能造成活性的部分损失且成本较高,不适合工业化生产,最佳的解决方法可能还是应通过对酶解过程的控制来实现^[67]。

3 淡水鱼生物活性肽的应用前景

酶水解淡水鱼蛋白产生的小肽类物质因具有持水性、吸油性、蛋白溶解性、起泡性、胶凝活性和乳化能力等特点在食品工业上有广泛的应用。它可以作为营养食品添加剂,添加到保健食品中,能够帮助人们改善身体健康和预防疾病;也可广泛作为海鲜调料品,帮助人们提高食品营养价值。淡水鱼生物活性肽可以与其他食品基料充分混合在一起,加工成营养丰富的淡水鱼工程食品^[68]。目前国内也有相关报道:任娇艳^[36] 在水解草鱼蛋白时发现其具有抗疲劳生物活性,并研究出一款草鱼蛋白肽运动型饮料,说明淡水鱼在食品开发应用上有广阔的前景。但是目前仅有少数临床试验来测试其它它们作为功能

性食品对人体的功效,因此还需进一步做更深入的研究。

另外,生物活性肽可以应用到制药业中,开发具有降血压、免疫调节、抑菌等功能的药品。姜良萍^[69] 等研究了鲢鱼源多肽锌螯合物的抑菌效果,证明其多肽螯合物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有一定的抑菌作用,有望作为一种新型安全的天然抗菌剂。淡水鱼生物活性肽因其具有抗氧化性,因此有望作为合成抗氧化剂的替代品。而李琳^[35] 等利用 D-半乳糖致衰小鼠模型,观察了鳙鱼肽对衰老模型小鼠免疫器官指数及吞噬能力的影响,证实了鳙鱼肽具有增强非特异性免疫的功能。但是其药性在人体内研究效果较少,还需要进一步证实。

生物活性肽也可以作为一种水产养殖饲料,能够提高鱼幼苗的成活率,既避免淡水鱼下脚料的浪费,又给淡水鱼养殖业带来了经济效益。生物活性肽在促进动物的肠道发育和成熟、促进蛋白质合成和肌肉生长、增强机体免疫力等方面发挥着显著的作用。研究表明,在草鱼等水产动物日粮中添加一定的生物活性肽可促进草鱼等水产动物的生长,提高存活率、促进矿物元素的吸收和利用,初步揭示出生物活性肽在水产养殖中的应用潜力^[70]。而且它作为水产养殖饲料具有无毒、无副作用、能够促进鱼类生长等优点,这是化学药物无法比拟的,是非常有前途的化学药物替代品。

4 展望

生物活性肽来源广泛、生物功能多,在医药、食品、养殖业等行业得到了广泛的运用。但是从淡水鱼及其下脚料中提取生物活性肽的报道并不多,目前仅在少数几种淡水鱼生物中有所提取,还有很大一部分淡水鱼生物活性肽未被发现或开发出来。因此淡水鱼生物活性肽具有非常广阔的研究前景。而目前淡水鱼蛋白源活性肽的研究存在几个亟需解决的问题:一、淡水鱼生物活性肽的研究尚处于实验阶段,仅通过老鼠实验和体外实验来检测其安全性和有效性,缺乏人体内和应用方面的研究,因此需要更深入的研究。二、淡水鱼生物活性肽得率低、多为混合肽、分离纯化难。有关生物活性肽构效关系研究的报道比较少,大部分没有进一步说明分离的单一肽的结构与功能的关系,也没有进行其性质的研究。三、活性肽的分离及鉴定技术有待进一步提高,需要加强生物工程技术在活性肽方面的应用。尽管天然

生物活性肽提取工艺复杂,成本高,但是化学合成的生物活性肽同样存在着成本高昂等缺点。而从淡水鱼中分离提取出活性肽,虽然难度极大,但仍以其安全无副作用成为国内外研究热点。随着生物化学工程的迅速发展和仪器手段的不断进步,相信这些问题会被逐渐解决,更多具有特殊生物功能的淡水鱼蛋白源小肽类物质将会被发现,淡水鱼资源能得到最大程度的利用,也会更广泛服务和应用到各行各业中去。

参考文献

- Li M(李敏), *et al.* Comprehensive utilization of freshwater fish waste. *Food Nutr China* (中国食物与营养), 2007, 2: 19-22.
- Liu JP(刘建萍). Progress of bioactive peptides in feed. *Feed Husbandry*(饲料与畜牧), 2013, 8: 25-28.
- Mehdi N, *et al.* Antioxidant and cryoprotective effects of a tetrapeptide isolated from Amur sturgeon skin gelatin. *J Funct Foods*, 2014, 7: 609-620.
- Mahmoudreza O, *et al.* The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chem*, 2009, 115: 238-242.
- Huang BB, *et al.* Analysis of proteins and potential bioactive peptides from tilapia (*Oreochromis* spp) processing co-products using proteomic techniques coupled with BIOPEP database. *J Funct Foods*, 2015, 19: 629-640.
- Li JX(李吉绪). The activity detection method *in vitro* and the research on influence factors and application of silver carp peptides. Wuhan: Wuhan University of Technology (武汉工业学院), MSc. 2012.
- Li ZH(李振华), *et al.* Theresearch progress of antioxidative peptides. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2011, 32: 157-161.
- Vásquez-Villanueva R, *et al.* Identification by hydrophilic interaction and reversed-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry of peptides with antioxidant capacity in food residues. *J Chromatogr A*, 2016, 1428: 185-192.
- Dong SY, *et al.* Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Food Chem*, 2008, 107: 1485-1493.
- Zhong SY, *et al.* Antioxidant properties of peptide fractions from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) processing by-product protein hydrolysates evaluated by electron spin resonance spectrometry. *Food Chem*, 2011, 126: 1636-1642.
- Malaypally SP, *et al.* Influence of molecular weight on intracellular antioxidant activity of invasive silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) protein hydrolysates. *J Funct Foods*, 2015, 18: 1158-1166.
- Cai LY, *et al.* Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolysate of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *J Funct Foods*, 2015, 16: 234-242.
- Ren JY(任娇艳), *et al.* Isolation and identification of antioxidant peptides from hydrolyzed grass carp protein. *Food Sci* (食品科学), 2009, 30(13): 13-17.
- Zhuang YL(庄永亮), *et al.* Preparation and purification of antioxidant peptide from Tilapia skin. *J Kunming UnivSciTechnol, Nat Sci* (昆明理工大学学报, 自科版), 2014, 29(1): 87-93.
- Ding LJ(丁利君), *et al.* Antioxidative activity of protein hydrolysates from Tilapia by alcalase. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2009, 30(11): 1-5.
- Xie NN(谢楠楠), *et al.* Research advantage of aquatic antioxidant peptides. *J Zhejiang Ocean Univ, Nat Sci* (浙江海洋学院学报, 自科版), 2010, 27(1): 74-80.
- Yang L, *et al.* Enzymatic preparation and characterization of antioxidant peptides from Grass Carp scales. *Food Sci* (食品科学), 2011, 32(12): 115-119.
- Cheng X. Study on the preparation and refining processing and functional quality of the silver carp antioxidant peptide. Wuhan: Wuhan University of Technology (武汉工业学院), MSc. 2012.
- Feng M(封酶). Study on angiotensin-converting enzyme inhibitor peptide derived from grass carp protein by enzymatic hydrolysis. Wuhan: Wuhan University of Technology (武汉工业学院), MSc. 2008.
- Shen L(沈亮). Research progress in food protein-derived antihypertensive peptides. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2014, 14: 390-393.
- Huang YC(黄艳春). Preparation of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitor from freshwater fish protein by enzymatic hydrolysis. Wuhan: Huazhong Agricultural University (华中农业大学), MSc. 2004.
- Hu J(胡娟). Preparation of bioactive peptides from fish scale gelatin by enzymatic hydrolysis. Guangzhou: South China University of Technology (华南理工大学), MSc. 2010.
- Lin LM(林利美). Antihypertensive effect and absorption of grass carp bioactive peptides. Wuhan: Wuhan Polytechnic University (武汉轻工大学), MSc. 2013.
- Chen JW, *et al.* Purification and characterization of a novel angiotensin-I convertinenzyme (ACE) inhibitory peptide derived from enzymatic hydrolysate of grass carp protein. *Pep-*

- tides*, 2011, 33:52-58.
- 25 Wu LZ(吴林泽). Primary studies on antibacterial peptides from Tilapia wastes enzymatic hydrolysates. Hainan: South China University of Tropical Agriculture (华南热带农业大学), MSc. 2007.
 - 26 Huang P(黄平). The purification and isolation of antimicrobial peptides from the grass carp intestine and the research on physicochemical. Hunan: Central South University of Forestry and Technology(中南林业科技大学), MSc. 2009.
 - 27 Marie R, *et al.* Molecular characterization of peptide fractions of a Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by-product hydrolysate and *in vitro* evaluation of antibacterial activity. *Process Bio Chem*, 2015, 50:487-492.
 - 28 Chen H(陈海), *et al.* Prokaryotic expression and identification of recombinant cystatin of hypophthalmichthys molitrix and antibacterial activity on pseudomonas aeruginosa. *Food Sci(食品科学)*, 2014, 35:133-137.
 - 29 Perez Espitia P, *et al.* Bioactive peptides: synthesis, properties, and applications in the packaging and preservation of food. *ComprehenRev Food Sci Food Safety*, 2012, 11: 187-204.
 - 30 Je JY, *et al.* Amino acid composition and *in vitro* antioxidant and cytoprotective activity of abalone viscera hydrolysate. *J Funct Foods*, 2015, 16:94-103.
 - 31 Sampath Kumar NS, *et al.* Purification and biochemical characterization of antioxidant peptide from horse mackerel (*Megalaspis cordyla*) viscer protein. *Peptides*, 2011, 32: 1496-1501.
 - 32 Najafian L, *et al.* Isolation, purification and identification of three novel antioxidative peptides from patin (*Pangasius sutchi*) myofibrillar protein hydrolysates. *Lwt-Food Sci Technol*, 2015, 60:452-461.
 - 33 Lee SJ, *et al.* Purification and characterization of a nitric oxide inhibitory peptide from *Ruditapes philippinarum*. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50:1660-1666.
 - 34 Liu ZY, *et al.* Production of cysteine-rich antimicrobial peptide by digestion of oyster (*Crassostrea gigas*) with alcalase and bromelain. *Food Control*, 2008, 19:231-235.
 - 35 Li L(李琳), *et al.* Anti-Aging and immune regulation effects of peptides derived from big-head carp (*Aristichthys nobilis*) protein. *J South China Univ Technol, Nat Sci(华南理工大学学报, 自科版)*, 2006, 34:116-120.
 - 36 Ren JY(任娇艳). Study on the preparation, purification and identification of antifatigue biopeptides from grass carp protein. Guangzhou: South China University of Technology(华南理工大学), MSc. 2008.
 - 37 Liu L(刘玲). Purification and characterization of high molecular weight CPIs from Silver Carp Egg and its preliminary effect on ishikawa cell. Sichuan: Sichuan Agricultural University(四川农业大学), MSc. 2014.
 - 38 Yu ZP, *et al.* Anti-diabetic activity peptides from albumin against α -glucosidase and α -a-Mylase. *Food Chem*, 2012, 135:2078-2085.
 - 39 Liu XJ(柳小军), *et al.* The research advance of wheat bioactive peptides. *Acad Periodical Farm Prod Proce(农产品加工学刊)*, 2009, 3:81-84.
 - 40 Zhu FX(朱凤仙), *et al.* Research progress of bioactive peptides prepared by enzyme hydrolysis from aquatic animal proteins. *Food Res Dev(食品研究与开发)*, 2008, 29: 159-161.
 - 41 Mu XM(慕现敏). Study on the purification and bioavailability of calcium-binding peptides from Tilapia scale protein hydrolysate. Shangdong: Ocean University of China(中国海洋大学), MSc. 2013.
 - 42 Wald M, *et al.* Detection of antibacterial activity of an enzymatic hydrolysate generated by processing rainbow trout by-products with trout pepsin. *Food Chem*, 2016, 205:221-228.
 - 43 Gu L(顾林), *et al.* Preliminary study on enzymatic hydrolysis of crucian carp protein and its antioxidant activities. *Food Sci(食品科学)* 2007, 28:184-187.
 - 44 Zhou HX(周贺霞). Study on skin ACE inhibitory peptides preparation and its ACE inhibitory activity. Chongqing: Southwest University(西南大学), MSc. 2012.
 - 45 Chi CF, *et al.* Antioxidant and anticancer peptides from the protein hydrolysate of blood clam (*Tegillarca granosa*) muscle. *J Funct Foods*, 2015, 15:301-313.
 - 46 Wang J(王军), *et al.* Preparation of antioxidant peptides from catfish flesh by ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis. *Sci Technol Food Ind(食品工业科技)*, 2014, 35:197-206.
 - 47 Zhang YF, *et al.* Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin. *Peptides*, 2012, 38: 13-21.
 - 48 Ren JY, *et al.* Optimization of antioxidant peptide production from grass carp sarcoplasmic protein using response surface methodology. *Lwt-Food Sci Technol*, 2008, 41:1624-1632.
 - 49 Suthera K, *et al.* Antioxidative and ACE inhibitory activities of protein hydrolysates from the muscle of brownstripe red snapper prepared using pyloric caeca and commercial proteases. *Process Biochem*, 2011, 46:318-327.
 - 50 Bhaskar N, *et al.* Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource-*

- Techn*,2008,99:335-343.
- 51 You LJ, *et al.* Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates. *Innov Food Sci Emerg*,2009,10:235-240.
- 52 Liu F(刘芳). Preparation of collagen peptides from cod skin fermentation by multi-microbes and its antioxidant properties *in vitro*. Shandong: Yantai University (烟台大学), MSc. 2014.
- 53 Liu S(刘姝), *et al.* Peptides from variegated carp (*Aristichthys nobilis*) swim bladder; fermentation production and assessment of antioxidant Properties. *Food Sci* (食品科学), 2009,30:332-334.
- 54 Wu HB(吴海滨). Studies on the production of active peptides from cod fish skin fermentation by *Aspergillus oryzae*. Shandong: Ocean University of China (中国海洋大学), MSc. 2011.
- 55 Wang Y(王云). Study on the mixed fermentation of Tilapia byproducts and soybean meal for new protein feeds. Zhanjiang: Guangdong Ocean University (广东海洋大学), MSc. 2014.
- 56 Shi L(石岭). Study on the functional properties of grass carp polypeptide powder. Jiangxi: Jiangxi Science and Technology Normal University (江西科技师范大学), MSc. 2014.
- 57 Ren JY, *et al.* Purification and identification of antioxidant peptides from grass carp muscle hydrolysates by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Chem*,2008,108:727-736.
- 58 O' Keeffe MB, *et al.* Identification of short peptide sequences in complex milk protein hydrolysates. *Food Chem*,2015,184:140-146.
- 59 Firdaousa L, *et al.* Concentration and selective separation of bioactive peptides from an alfalfa white protein hydrolysate by electro dialysis with ultrafiltration membranes. *J Membrane Sci*,2009,329:60-67.
- 60 Jiang RR(蒋然然), *et al.* Separation and identification of CPIs from Grass Carp hepto-pancreas and its activity assay. *Sci Technol Food Ind*(食品工业科技),2015,36(16):118-123.
- 61 Li ML(李美良), *et al.* Stability and iron oxidation properties of a novel homopolymeric plant ferritin from adzuki bean seeds; A comparative analysis with recombinant soybean seed H-1 chain ferritin. *BBA-Gen Subjects*,2013,830:2946-2953.
- 62 Leila N, *et al.* Production of bioactive peptides using enzymatic hydrolysis and identification antioxidative peptides from patin (*Pangasius sutchi*) sarcoplasmic protein hydrolysate. *J Funct Foods*,2014,9:280-289.
- 63 You LJ, *et al.* Purification and identification of antioxidative peptides from loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *Food Res Int*, 2010,43:1167-1173.
- 64 Toopcham T, *et al.* Characterization and identification of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from tilapia using virgibacillus halodenitrificans SK1-3-7 Proteinases. *J Funct Foods*,2015,14:435-444.
- 65 Ghassem M, *et al.* Purification and identification of ACE inhibitory peptides from Haruan (*Channa striatus*) myofibrillar protein hydrolysate using HPLC-ESI-TOF MS/MS. *Food Chem*,2011,129:1770-1777.
- 66 Lan XD, *et al.* Rapid purification and characterization of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from lizard fish protein hydrolysates with magnetic affinity separation. *Food Chem*,2015,182:136-142.
- 67 Hu WT(胡文婷), *et al.* Progress in enzymatic preparation of bioactive peptides from marine proteins. *Mar Sci* (海洋科学),2010,34(5):83-88.
- 68 Chalamaiiah M, *et al.* Fish protein hydrolysates; Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications; A review. *Food Chem*, 2012, 135: 3020-3038.
- 69 Jang LP(姜良萍), *et al.* Effects on the antibacterial activity of preparation technology for complexes of Zn^{2+} and peptides from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) proteins. *Food Sci Technol* (食品科技),2013,38:125-130.
- 70 Li Q(李清), *et al.* Progress of bioactive peptides in aquaculture. *Inland Fish* (内陆水产),2004,29(11):39-41.