

甲鱼肽的分离纯化及补血活性研究



李溢真, 刘延新, 张金华, 刘飞, 陈磊, 刁梦奇, 张林军, 张艳艳

糖及糖复合物高效制备及应用山东省工程研究中心, 山东省糖及糖复合物药物重点实验室,
山东省药学科学院 (济南 250101)

【摘要】目的 研究甲鱼肽的分离纯化及补血活性。方法 采用酶解法制备甲鱼肽, 利用 ÄKTA 蛋白质层析纯化系统对其进行分离纯化, 通过水分测定仪测定甲鱼肽中的水分含量, 采用二喹啉甲酸法检测总肽含量, 使用凝胶渗透色谱法分析分子量分布, 并借助斑马鱼模型评价其补血活性。结果 分离纯化后共获得 PPSP1、PPSP2、PPSP3、PPSP4、PPSP5 5 个甲鱼肽组分。其中, PPSP3 的得率较高, 为 34.76%; PPSP2 和 PPSP4 的水分含量较低, 分别为 5.03% 和 4.95%; 总肽含量 PPSP1 和 PPSP3 较高, 分别为 90.2% 和 87.4%; PPSP3 和 PPSP4 中小分子肽段 (< 1 000 Da) 占比最高, 分别为 92.94% 和 93.11%。5 个组分均具有补血活性, 其中 PPSP5 的补血活性显著优于其他组分。结论 甲鱼肽经分离纯化获得的 5 个组分虽理化性质各异, 但均表现出补血活性, 其中 PPSP5 的活性尤为显著。

【关键词】 甲鱼肽; 分离; 纯化; 补血活性

【中图分类号】 R284; R285

【文献标识码】 A

Study on the separation, purification and hematopoietic activity of *Pelodiscus sinensis* peptides

LI Yizhen, LIU Yanxin, ZHANG Jinhua, LIU Fei, CHEN Lei, DIAO Mengqi, ZHANG Linjun, ZHANG Yanyan

Shandong Engineering Research Center for Efficient Preparation and Application of Sugar and Sugar Complex, Shandong Provincial Key Laboratory of Sugar and Sugar Complex Drugs, Shandong Academy of Pharmaceutical Science, Jinan 250101, China

Corresponding author: LIU Fei, Email: lfshwu@163.com

【Abstract】 Objective To study the separation, purification and hematopoietic activity of *Pelodiscus sinensis* peptides. Methods The *Pelodiscus sinensis* peptides were prepared by enzymatic hydrolysis and purified using ÄKTA protein purification system. The moisture content was measured using a moisture analyzer, and the total peptide content was detected using the bicinchoninic acid assay method. The molecular weight distribution was analyzed by gel permeation chromatography, and its hematopoietic activity was evaluated by zebrafish model. Results After separation and purification, 5 turtle peptide components (PPSP1, PPSP2, PPSP3, PPSP4, and PPSP5) were obtained. The yield of PPSP3 was the highest (34.76%); PPSP2 and PPSP4 had relatively low moisture contents at 5.03% and 4.95%, respectively; PPSP1 and PPSP3 had relatively high total peptide contents at 90.2% and 87.4%, respectively; PPSP3 and PPSP4 had the

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202601034

基金项目: 山东省重点研发计划 (竞争性创新平台) 项目 (2025CXPT035)

通信作者: 刘飞, 研究员, 博士研究生导师, Email: lfshwu@163.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

highest proportion of small molecular peptides (< 1 000 Da), accounting for 92.94% and 93.11%, respectively. All 5 components had hematopoietic activity, with PPSP5 had significantly better hematopoietic activity than other components. **Conclusion** Although the 5 components of soft-shelled turtle peptides obtained through separation and purification have different physical and chemical properties, they all exhibit hematopoietic activity, with PPSP5 showing particularly significant activity.

【Keywords】 *Pelodiscus sinensis* peptides; Separation; Purification; Hematopoietic activity

甲鱼即中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*), 又称鳖、团鱼、脚鱼, 隶属于鳖科 (*Trionyx chidae*) 鳖属 (*Trionyx sinensis*)。在我国, 甲鱼主要分布于长江中下游地区, 尤以江西、江苏、湖南、湖北、安徽等省产量较高, 此外在朝鲜、日本、越南、菲律宾等国家亦有分布^[1]。甲鱼肉具有滋阴补肾、清热消瘀、健脾健胃等功效^[2]。现代营养学表明, 甲鱼肉质鲜美, 营养丰富, 富含优质蛋白和钙、磷、铁等多种矿物质及维生素, 是制备生物活性肽的理想材料^[3]。生物活性肽是由蛋白质经酶解或微生物发酵后释放出的特定氨基酸序列, 具有易吸收、安全性高及多靶点调节等特点, 近年来在功能性食品与天然药物开发领域备受关注^[4]。生物活性肽具有抗氧化^[5]、增强免疫力^[6]、降血糖^[7]、降血脂^[8]、抗衰老^[9]、补血养血^[10]等功效, 而甲鱼肽的补血活性却鲜有报道。本文拟以甲鱼为原料, 选用2种蛋白酶对其进行分级酶解, 并对酶解产物进行纯化, 制备出具有补血活性的纯化甲鱼肽 (purified *Pelodiscus sinensis* peptides, PPSP), 以期为甲鱼的精深加工提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

Waters2414 型 ÄKTA 蛋白质层析纯化系统 (GE Health Care); B5002 型天平 (上海良平仪器仪表有限公司); Biofuge 型台式冷冻离心机 (美国 Thermo 公司); 250DE 型超声仪 (昆山超声仪器有限公司); YXQ-LS 型高压灭菌锅 (上海博迅医疗生物仪器); HC103 型水分测定仪 (瑞士梅特勒-托利多公司); Infinite M200PRO 型酶标仪 (瑞士 Tecan 集团公司); ZB-ID 型水浴摇床 (天津市鑫洲科技有限公司); RE-2000e 型旋转蒸发器 (郑州科泰实验设备有限公司); 18N 型冷冻干燥机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); LC-20AT 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司);

SZX16 型体式荧光显微镜 (日本 Olympus 公司); Forma 311 型水套式二氧化碳培养箱 (美国 Forma 公司)。

1.2 主要药品与试剂

甲鱼购自维尔康水产批发市场, 依据商品名及外观判断为中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*), 均为体重 (500 ± 50) g 的成年个体; 木瓜蛋白酶 (批号: 24111501) 和中性蛋白酶 (批号: 25031602) 购自南宁庞博生物工程有限公司; 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid assay, BCA) 试剂盒 (批号: 20240730) 和 PBS 缓冲液 (批号: 2409008)、细胞色素 c (分子量: 12 384 Da, 批号: 5230816002)、杆菌酶 (分子量: 1 423 Da, 批号: 24230818001) 均购自北京索莱宝科技有限公司; 抑肽酶 (分子量: 6 512 Da, 批号: JS248159)、乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸 (分子量: 451 Da, 批号: JB247813)、乙氨酸-乙氨酸-乙氨酸 (分子量: 189 Da, 批号: M19IS215675) 均购自上海源叶生物科技有限公司; 苯肼 (美国 Thermo Fisher 公司, 批号: A0442040, 纯度 97%); 丹参素 (上海源叶生物科技有限公司, 批号: F101B206826, 纯度 98%); 邻联茴香胺 (阿拉丁化学试剂网, 批号: E2527658); 乙腈为色谱纯; 其余试剂均为分析纯; 水为纯化水。

1.3 动物

健康野生型 AB 系斑马鱼由山东省科学院生物研究所斑马鱼药物筛选平台提供, 28 °C 条件下控光培养。

1.4 方法

1.4.1 PPSP 的制备

将甲鱼宰杀, 清洗干净, 沥干水分后称质量。按甲鱼质量加入 1% 木瓜蛋白酶, 并加水使甲鱼完全浸没, 于 121 °C 下高温高压处理 30 min。将甲鱼肉及肉汤于 4 °C 静置过夜, 刮去上层油脂, 甲鱼肉粉碎成肉泥, 称质量, 并按质量比 0.5% 加入中性蛋白酶, 于 50 °C 水浴振荡 3 h。酶解结束

后, 升温至 90 °C, 保温 10 min 以灭活酶。将酶解液离心 (7 800×g) 20 min, 取上清液, 于 60 °C 下旋转蒸发至原体积的 1/3, 最后冷冻干燥得到 PPSP [11]。

1.4.2 PPSP 的分离纯化

采用 1×PBS 缓冲液将 PPSP 配制成 70 mg/mL 的溶液, 取 1 mL 经 0.22 μm 滤膜过滤后, 使用 ÄKTA 蛋白质层析纯化系统分离纯化, 于 280 nm 处测定吸光度 (A) 值, 并用分部收集器收集样品溶液。将收集的样品溶液冷冻干燥至完全, 称重后于干燥条件下保存 [12]。

ÄKTA 分离纯化条件: 层析柱为 Superdex peptid, 洗脱液为双蒸水 (ddH₂O), 流速为 0.5 mL/min, 洗脱体积为 1.5 倍柱体积。

1.4.3 PPSP 的水分测定

取 PPSP 组分粉末 1.50 g, 均匀平铺在一次性托盘中, 确保各部位厚度一致, 随后放入水分测定仪进行检测。上述步骤重复测定 3 次, 取 3 次测定结果的平均值作为样品的水分含量。

1.4.4 PPSP 的总肽含量测定

取 PPSP 组分溶于超纯水, 配制成 0.5 mg/mL 的待测溶液; 以试剂盒中自带牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 为标准品, 同样配制成 0.5 mg/mL 的标准溶液, 每组设置 3 个复孔。按照 BSA 检测试剂盒说明书操作, 使用酶标仪在 562 nm 波长处测定反应液的 A 值。绘制标准曲线, 并根据标准曲线计算 PPSP 的总肽含量 [13]。

1.4.5 PPSP 的分子量测定

参照《GB 31645-2018 食品安全国家标准 胶原蛋白肽》附录 A 中高效体积排阻色谱法 (gel permeation chromatography, GPC) [14], 称取 PPSP 组分 125 mg, 转移至 25 mL 量瓶中, 用流动相定容至刻度, 超声处理 (功率: 200 W, 频率: 40 kHz) 15 min, 经 0.22 μm 有机滤膜过滤后, 取滤液用于分子量测定。分子量校正曲线所用对照品包括细胞色素 c、抑肽酶、杆菌酶、乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸和乙氨酸-乙氨酸-乙氨酸。色谱条件: 色谱柱为 TSKgel G2000 SWXL (300 mm × 7.8 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水-三氟乙酸 (40: 60: 0.5); 检测波长为 220 nm; 流速为 0.5 mL/min; 柱温为 30 °C; 进样体积为 10 μL。

1.4.6 PPSP 的补血活性评价

采用苯肼诱导斑马鱼贫血模型。将发育至

56 hpf (受精后 56 h) 的健康野生型 AB 系斑马鱼随机分为空白对照组、模型组、阳性对照组和 PPSP 高、中、低剂量组, 每组 10 尾。空白对照组给予养殖水; 其余各组均加入 0.1 μg/mL 的苯肼进行造模处理。造模同时, 阳性对照组加入 10 μmol/L 的丹参素溶液, PPSP 各剂量组分别加入 20、40、80 μg/mL 3 个不同浓度的 PPSP 组分。所有斑马鱼继续孵育至 3 dpf (受精后第 3 天)。随后, 采用邻联茴香胺染色法对各组斑马鱼的红细胞进行染色, 于显微镜下拍照, 并使用 ImageJ 软件测量红细胞染色的积分光密度值 [15]。

1.5 统计学分析

采用 Microsoft Excel 软件进行原始数据整理及基础计算, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 运用 IBM SPSS 23.0 软件进行统计学分析。两组比较 (模型组 vs. 空白对照组、阳性对照组 vs. 模型组) 采用独立样本 *t* 检验; 多组与模型组比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 及 Dunnett's 事后检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。使用 GraphPad Prism 8.0 软件绘制柱状图。

2 结果

2.1 PPSP 的分离纯化结果

PPSP 经 ÄKTA 系统分离纯化后, 其分离曲线 (图 1) 显示共分离出 5 个多肽组分, 依次记为 PPSP1、PPSP2、PPSP3、PPSP4、PPSP5。分别收集洗脱液并冷冻干燥后, 计算其得率依次为 0.51%、25.46%、34.76%、0.23%、1.11%, 其中 PPSP2 与 PPSP3 的得率远高于其他组分。

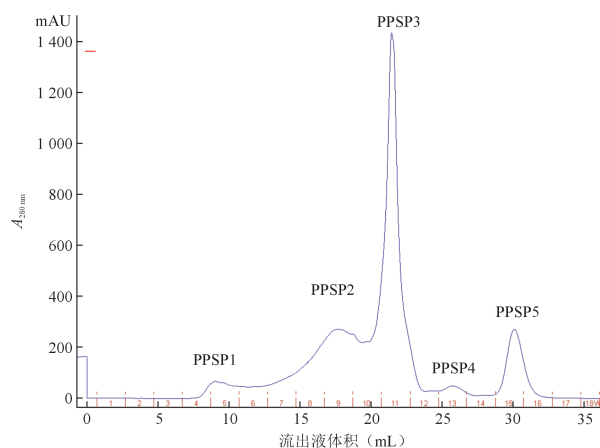


图 1 PPSP 的 ÄKTA 分离纯化曲线
Figure 1. Separation and purification curve of PPSP by ÄKTA system

2.2 PPSP的水分含量及总肽含量结果

PPSP各组分的水分含量和总肽含量结果见表1。BCA法所得总肽标准曲线方程为 $Y=1.1401X+1.1023$, $r=0.9966$, 其中 X 为标准品BSA溶液的浓度(mg/mL), Y 为对应测得的 A 值。根据样品 A 值计算总肽含量, 结果显示PPSP1的总肽含量最高, 达90.2%; PPSP3次之, 为87.4%。5个多肽组分的水分含量介于4.95%~5.15%之间, 其中PPSP4的水分含量最低。

表1 PPSP 5个多肽组分的总肽含量及水分含量测定结果(%, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1. Total peptide content and moisture content of the 5 PPSP components(%, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组分	总肽	水分
PPSP1	90.2 ± 1.1	5.14 ± 0.50
PPSP2	75.9 ± 0.6	5.03 ± 0.22
PPSP3	87.4 ± 0.7	5.15 ± 0.63
PPSP4	79.6 ± 1.2	4.95 ± 0.47
PPSP5	71.1 ± 0.9	5.08 ± 0.72

2.3 PPSP的分子量分布结果

如图2所示, 5个PPSP组分的分子量分布存在明显差异。PPSP5的平均分子量(M_w)最高, 经外推法估算约为38 kDa; PPSP1和PPSP2次之, 分别为13 568 Da和11 044 Da; PPSP4和PPSP3较小, 分别为3 715 Da和2 067 Da。

PPSP各组分的分子量检测结果见表2。结果表明, PPSP3和PPSP4的分子量分布高度集中于<1 000 Da的小分子肽段, 占比分别为92.94%和93.11%; PPSP2次之, 占比为77.31%; 而PPSP1和PPSP5的<1 000 Da肽段占比较低, 分别为46.75%和51.58%。在≥5 000 Da的大分子肽段中, PPSP5的占比最高, 达48.37%, 远高于其他组分。上述分子量分布的组间差异, 为其后续分析各组分补血活性的差异提供了理论依据。

2.4 PPSP的补血活性评价结果

各组斑马鱼红细胞染色结果及积分光密度值分别见图3和图4。与空白对照组相比, 模型组的斑马鱼红细胞染色积分光密度显著降低($P < 0.01$), 表明贫血模型构建成功。阳性对照组的红细胞染色及积分光密度值较模型组显著增加($P < 0.01$)。

PPSP1与PPSP2: 当PPSP1和PPSP2浓度≤80 μg/mL时, 各处理组的红细胞染色光密度值均

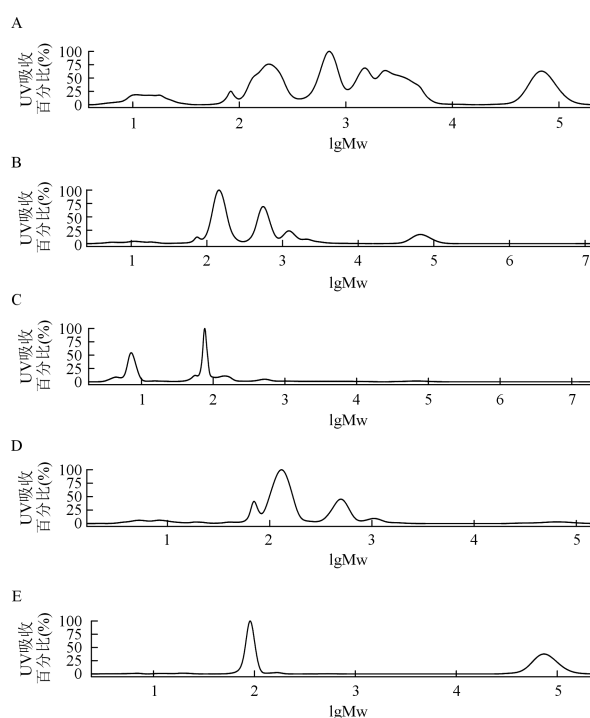


图2 PPSP各组分的分子量分布(PDA Ch1 220 nm)

Figure 2. Molecular weight distribution of PPSP components (PDA Ch1 220 nm)

注: A. PPSP1; B. PPSP2; C. PPSP3; D. PPSP4; E. PPSP5。

表2 PPSP各组分的分子量分布比例(%)

Table 2. Molecular weight distribution ratios of each PPSP component (%)

组分	分子量 (Da)			
	<1 000	1 000 ~ <2 000	2 000 ~ <5 000	≥5 000
PPSP1	46.75	11.27	20.93	17.02
PPSP2	77.31	9.06	3.60	10.03
PPSP3	92.94	4.63	0.00	2.89
PPSP4	93.11	0.00	4.46	2.43
PPSP5	51.58	0.00	0.00	48.37

略高于模型组, 但差异无统计学意义($P > 0.05$); 且随着浓度增加, 积分光密度值逐渐增大。在80 μg/mL浓度下, PPSP1和PPSP2的积分光密度值分别为115 316和123 424, 表明2者均具有一定的补血活性, 且呈剂量依赖性。PPSP1与PPSP2各处理组的积分光密度值均显著低于阳性对照组($P < 0.01$)。

PPSP3: 在所测试的浓度范围内, PPSP3各处理组的积分光密度值均高于模型组。然而, 随着浓度增加, 积分光密度值逐渐降低。其中, 20 μg/mL浓度下效果最佳, 积分光密度值达151 123, 显著高于模型组($P < 0.01$), 显示出较好的补血活性。PPSP3各处理组的积分光密度值

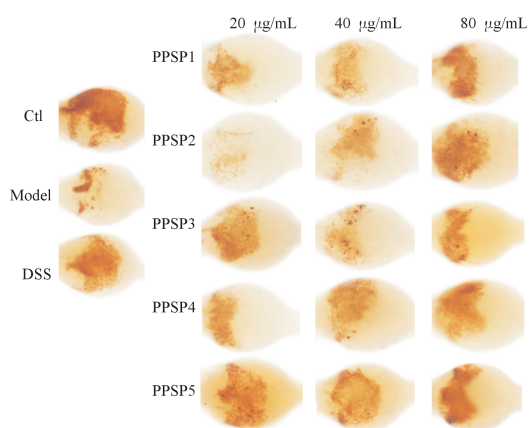


图3 PPSP处理后斑马鱼红细胞的典型染色图 (60×, 200 µm)

Figure 3. Representative staining images of zebrafish erythrocytes treated with PPSP (60×, 200 µm)

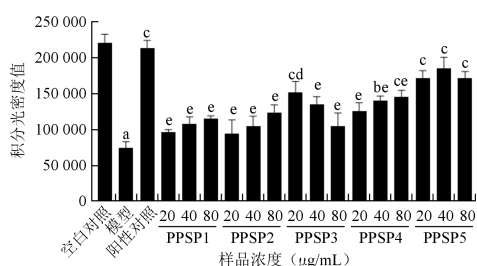


图4 各组斑马鱼红细胞染色积分光密度值 (n=10)

Figure 4. Integrated optical density value of zebrafish erythrocyte staining in each group (n=10)

注：与空白对照组比较，^a $P < 0.01$ ；与模型组比较，^b $P < 0.05$ ，^c $P < 0.01$ ；与阳性对照组比较，^d $P < 0.05$ ，^e $P < 0.01$ 。

均显著低于阳性对照组 ($P < 0.05$)。

PPSP4: PPSP4各处理组的积分光密度值均高于模型组，并呈现剂量依赖性。在40 µg/mL和80 µg/mL浓度下，积分光密度值分别为139 912 ($P < 0.05$)和145 163 ($P < 0.01$)，较模型组显著增加，表明PPSP4具有较好的补血活性。PPSP4各处理组的积分光密度值均显著低于阳性对照组 ($P < 0.01$)。

PPSP5: 在20、40、80 µg/mL浓度范围内，PPSP5处理组的红细胞染色积分光密度值呈先上升后下降的趋势。与模型组相比，各浓度组的积分光密度值均显著增加 ($P < 0.01$)，且高于PPSP1、PPSP2、PPSP3和PPSP4各组的相应值。其中，40 µg/mL浓度下效果最佳，积分光密度值高达184 564，表明PPSP5的补血活性显著优于其他组分 ($P < 0.01$)。PPSP5各处理组的积分光密度值与阳性对照组相比，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

本研究采用分级酶解结合ÄKTA凝胶过滤层析技术，从甲鱼酶解产物中分离纯化获得5个多肽组分：PPSP1~PPSP5，系统比较了其理化性质差异及补血活性规律。理化性质分析表明，各组分得率、总肽含量及分子量分布特征均不相同：PPSP3得率最高(34.76%)，PPSP1与PPSP3总肽含量分别为90.2%和87.4%，PPSP3与PPSP4的小分子肽段($< 1\ 000\ Da$)占比分别高达92.94%和93.11%，而PPSP5平均分子量最大(38 426 Da)，大分子肽段($\geq 5\ 000\ Da$)占比达48.37%。补血活性评价结果显示，5个组分均具有补血活性但作用特征各异：PPSP1、PPSP2及PPSP4呈剂量依赖性，PPSP3在20 µg/mL时活性较佳，PPSP5则在40 µg/mL时活性最强，显著高于其他组分及模型组 ($P < 0.01$)。值得注意的是，补血活性与分子量未呈现简单线性关系，小分子肽富集的PPSP3、PPSP4活性中等，而大分子占比高的PPSP5活性最强。目前关于甲鱼肽生物活性的研究主要集中于抗氧化^[9]、抗衰老^[1]、抗疲劳^[3]及免疫调节^[6]等方面，补血活性报道有限。本研究首次发现甲鱼肽中大分子组分具有突出的补血活性，提示不同来源及酶解条件下的肽类产物可能通过差异化机制发挥作用，为甲鱼肽高值化利用提供了新方向。

本研究结果表明，分子量并非决定甲鱼肽补血活性的唯一因素，为活性肽构效关系研究提供了新视角。筛选出具有显著补血活性的PPSP5组分，为开发功能性补血产品提供了原料基础。同时，针对GPC外推导致分子量偏差、补血机制及活性序列不明、斑马鱼模型外推受限等局限性，后续将采用质谱技术鉴定PPSP5肽段序列，通过小鼠贫血模型结合Western blot、ELISA及流式细胞术等方法阐明其补血机制，并进一步分离纯化活性肽段以评估其应用潜力。本研究为甲鱼肽在功能性补血产品开发中的应用奠定了基础，后续应深入解析PPSP5的构效关系与作用机制，以推动其产业化转化。

参考文献

1 Wang Q, Zhang J, Zhuang J, et al. Soft-shelled turtle peptides extend lifespan and healthspan in drosophila[J]. *Nutrients*, 2022,

- 14(24): 5205. DOI: [10.3390/nu14245205](https://doi.org/10.3390/nu14245205).
- 2 Li N, Qiu L, Song H, et al. Inhibition mechanism of oligopeptides from soft-shelled turtle egg against α -glucosidase and their gastrointestinal digestive properties[J]. *J Food Biochem*, 2022, 46(10): e14328. DOI: [10.1111/jfbc.14328](https://doi.org/10.1111/jfbc.14328).
- 3 Zhong H, Shi J, Zhang J, et al. Soft-shelled turtle peptide supplementation modifies energy metabolism and oxidative stress, enhances exercise endurance, and decreases physical fatigue in mice[J]. *Foods*, 2022, 11(4): 600. DOI: [10.3390/foods11040600](https://doi.org/10.3390/foods11040600).
- 4 Jia L, Wang L, Liu C, et al. Bioactive peptides from foods: production, function, and application[J]. *Food Funct*, 2021, 12(16): 7108–7125. DOI: [10.1039/d1fo01265g](https://doi.org/10.1039/d1fo01265g).
- 5 Zhang W, Hu S, Tang H, et al. Food-derived antioxidant peptides mediated multifunctional bioactivities and bioavailability-enhancing delivery strategies via the Nrf2/Keap1 signaling pathway [J]. *Food Chem*, 2026, 501: 147604. DOI: [10.1016/j.foodchem.2025.147604](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.147604).
- 6 Zhuang J, Wang Q, Shen F, et al. The mediation of the AHR/IL-22/STAT3/IL-6 axis by soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) peptide and Chinese pond turtle (*Chinemys reevesii*) peptide contributed to their amelioration effects on intestinal mucosal immunity in immunosuppressed mice[J]. *Food Funct*, 2023, 14(10): 4681–4695. DOI: [10.1039/d3fo00250k](https://doi.org/10.1039/d3fo00250k).
- 7 Cai L, Wu S, Jia C, et al. Active peptides with hypoglycemic effect obtained from hemp (*Cannabis sativa* L) protein through identification, molecular docking, and virtual screening[J]. *Food Chem*, 2023, 429: 136912. DOI: [10.1016/j.foodchem.2023.136912](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136912).
- 8 Yang F, Huang J, He H, et al. Study on the hypolipidemic activity of rapeseed protein-derived peptides[J]. *Food Chem*, 2023, 423: 136315. DOI: [10.1016/j.foodchem.2023.136315](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136315).
- 9 Wang Q, Yang Z, Zhuang J, et al. Antiaging function of Chinese pond turtle (*Chinemys reevesii*) peptide through activation of the Nrf2/Keap1 signaling pathway and its structure-activity relationship[J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 961922. DOI: [10.3389/fnut.2022.961922](https://doi.org/10.3389/fnut.2022.961922).
- 10 Wang X, Zhang M, Woloshun RR, et al. Oral administration of ginger-derived lipid nanoparticles and Dmt1 siRNA potentiates the effect of dietary iron restriction and mitigates pre-existing iron overload in Hamp KO mice[J]. *Nutrients*, 2021, 13(5): 1686. DOI: [10.3390/nu13051686](https://doi.org/10.3390/nu13051686).
- 11 史晋源. 甲鱼肽的抗氧化活性与抗疲劳作用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2021. DOI: [10.27461/d.cnki.gzjdx.2021.001487](https://doi.org/10.27461/d.cnki.gzjdx.2021.001487).
- 12 梅洁, 李芳, 王晓雯, 等. 核桃谷蛋白多肽及其肽锌螯合物的分离纯化、鉴定与结合位点分析[J]. *食品科学*, 2024, 45(22): 8–16. [Mei J, Li F, Wang XW, et al. Isolation, purification, identification and binding site analysis of walnut glutelin peptides and their zinc chelates[J]. *Food Science*, 2024, 45(22): 8–16.] DOI: [10.7506/spkx1002-6630-20231201-005](https://doi.org/10.7506/spkx1002-6630-20231201-005).
- 13 张千喜. 食品中肽含量测定方法研究[D]. 陕西咸阳: 西北农林科技大学, 2024. DOI: [10.27409/d.cnki.gxbnu.2024.002737](https://doi.org/10.27409/d.cnki.gxbnu.2024.002737).
- 14 云南中医药大学, 山东省药学院. 一种可透过血脑屏障核桃肽及在制备益智类产品中的应用: 中国专利, 202210607041.1[P]. 2025-04-25.
- 15 韩亮, 裴庆华, 李莉, 等. 基于斑马鱼模型的人参阿胶口服液对气血及免疫功能调节作用评估[J]. *安徽农学通报*, 2025, 31(5): 107–113. [Han L, Pei QX, Li L, et al. Evaluate the regulatory effects of ginseng donkey-hide gelatin solution on qi, blood and immune function based on zebrafish model[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2025, 31(5): 107–113.] DOI: [10.16377/j.cnki.issn1007-7731.2025.05.023](https://doi.org/10.16377/j.cnki.issn1007-7731.2025.05.023).

收稿日期: 2026年01月12日 修回日期: 2026年05月09日
本文编辑: 钟巧妮 沈静怡