

鲐鱼蛋白酶解工艺优化及酶解物的抗氧化活性测定

王雪芹^{1,2}, 邢荣娥¹, 刘松¹, 于华华¹, 李鹏程¹

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东青岛 266071) (2. 中国科学院大学, 北京 100039)

摘要: 本文以水解度为指标, 采用胰蛋白酶、酸性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶、中性蛋白酶对鲐鱼鱼肉和下脚料最佳用酶进行筛选和优化, 测定酶解液的氨基酸组成和抗氧化活性。结果表明: 风味蛋白酶为最佳用酶; 优化条件为: 鱼肉: 加酶量 1200 U/g, 物料比 1:15, pH 值 5.5, 48 °C 酶解 6.5 h, 水解度为 37.8%; 下脚料: 加酶量 1200 U/g, 物料比 1:8, pH 值 6.0, 48 °C 酶解 6.5 h, 水解度为 37.1%。两者酶解液的抗氧化活性表明, 羟自由基的 EC₅₀ 值分别为 0.58 mg/mL 和 0.28 mg/mL, 均具有较强的还原能力, 酶解液经喷雾干燥得黄色粉末, 氨基酸种类齐全, 必需氨基酸含量为 38.53% 和 43.17%。本实验为鲐鱼的开发利用提供了理论依据。

关键词: 鲐鱼; 酶解; 风味蛋白酶; 水解度; 抗氧化; 氨基酸

文章编号: 1673-9078(2013)5-1023-1028

Optimization of Enzymolysis Technology and Antioxidant Activity from Protein of *Pneumatophorus japonicus*

WANG Xue-qin^{1,2}, XING Rong-e¹, LIU Song¹, YU Hua-hua¹, LI Peng-cheng¹

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

(2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: The effects of trypsin, acid protease, papain, flavor protease and neutral protease on the degree of hydrolysis of *Pneumatophorus japonicus* meat and by-products (heads, tails and viscera) were studied. The results showed the flavor protease was the most suitable protease and the hydrolysis conditions were optimized by orthogonal test. The optimal hydrolysis conditions of meat were enzyme dosage 1200 U/g, liquid-to-solid ratio 1:15, pH 5.5, temperature 48 °C and time 6.5 h, under which the degree of hydrolysis was 37.8%. The optimal hydrolysis conditions of by-products were the enzyme concentration 1200 U/g, liquid-to-solid ratio 1:8, pH 6.0, temperature 48 °C and time 6.5 h, under which the degree of hydrolysis was 37.1%. In vitro antioxidant activity test showed that the meat and by-products hydrolyzate exhibited obvious reducing power and hydroxyl radical scavenging activity, with the EC₅₀ of 0.58 mg/mL and 0.28 mg/mL, respectively. The freeze-drying products of meat and by-products were yellow powder and contained variety of amino acids, with the essential amino acids of 38.53% and 43.17%, respectively. The study provided theory basis for exploring *Pneumatophorus japonicus*.

Key words: *Pneumatophorus japonicus*; enzymolysis; flavor protease; degree of hydrolysis; antioxidant activity; amino acids

鲐鱼, 又名青鲐鱼, 是海洋中上层低值鱼类, 在我国各海域均有分布, 尤以东海产量最多。鲐鱼是我国重要的加工鱼种, 每年加工成各类冷冻鱼片和鱼罐头数量达数万吨^[1]。然而, 鲐鱼的经济价值未得到充分利用, 如何高值利用鲐鱼成为亟待解决的问题, 已引起高度关注。

酶解法制备蛋白的研究一直是热点, 其水解效率高, 水解条件温和可控, 在营养成分的保留上具有无可比拟的优点, 适于生产鱼类水解蛋白^[2,3]。张健雄^[4]利用鲐鱼内脏蛋白酶来分解鲐鱼头尾下脚料得到了浓

缩鱼蛋白, 裘迪红^[5]采用双酶水解鲐鱼鱼肉, 得到了低分子肽。付春燕^[6]以鲐鱼头为原料优化了酶解条件。然而, 目前对鲐鱼的研究多停留在酶解优化阶段, 对鲐鱼不同部位酶解产物的区别及酶解条件的优化, 酶解产物的活性研究较少, 其中对其抗氧化活性方面研究未见报道。

在生物体生命活动的氧化代谢过程中, 不断地产生各种活性氧自由基, 包括超氧阴离子、羟自由基、多种有机氧自由基、无机和有机过氧化物等, 其中羟自由基($\cdot\text{OH}$)是体内最活泼的活性氧, 直接或间接引起脂质过氧化, 蛋白质变性, 酶失活, DNA 链断裂, 生物膜结构损伤乃至机体病变和死亡。目前使用的抗氧化剂大多数是化学合成物, 虽然抗氧化效果好, 但会威胁人体健康, 因此, 人们逐渐把目光转向天然抗

收稿日期: 2013-01-08

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向性项目 (KZCX2-EW-Q214)

作者简介: 王雪芹 (1986-), 女, 博士, 主要从事海洋生物活性肽的研究

通讯作者: 李鹏程 (1957-), 研究员, 博士生导师

氧化剂^[7]。张敬敏等^[8]利用碱性蛋白酶水解银鲱蛋白,得到的酶解物具有明显的抗氧化活性。丁利君等^[9]利用枯草杆菌蛋白酶对鳕鱼蛋白进行酶解,得到的酶解液对羟自由基、超氧自由基有很好的清除作用。

本研究以鲈鱼为原料,以水解度为指标,研究酶解提取鲈鱼不同部位蛋白的最佳工艺参数,制得水溶性鱼蛋白质水解物,并对其抗氧化活性和氨基酸组成进行探讨,为低值鱼的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜鲈鱼采自青岛市水产批发市场,取鲈鱼鱼肉,其余组分(鱼头、鱼尾、内脏)作为下脚料,经高速组织捣碎机捣碎均匀,冷藏备用;胰蛋白酶(25万U/g),酸性蛋白酶(5万U/g),木瓜蛋白酶(10万U/g),风味蛋白酶(6.4万U/g),中性蛋白酶(10万U/g),湖北康宝泰精细化工有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

高速组织捣碎机,PHILIPS; DHG-9030A型电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司; SHZ-III型循环水真空泵,上海亚荣生化仪器厂; 冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司; 数显恒温水浴锅,国华电器有限公司; 冷冻高速离心机,上海安亭科学仪器厂等。

1.3 方法

1.3.1 成分分析方法

鲈鱼营养成分测定指标如下^[10],水分测定:常压干燥法;灰分测定:高温灼烧法;脂肪含量测定:索氏抽提法;蛋白质含量测定:半微量凯氏定氮法。

1.3.2 鲈鱼蛋白酶解液的制备流程

鲈鱼鱼糜→加入一定比例的水搅拌均匀→酶解→灭酶(沸水浴10min)→冷却→离心→取上清液→水解度测定。

1.3.3 水解度测定

以甲醛电位滴定法测定氨基氮^[11];水解度(DH)计算公式如下^[12]:

$$DH/\% = \frac{\text{酶解液中氨态氮总量}}{\text{原料中总氮含量}} \times 100$$

1.3.4 鲈鱼蛋白酶解液对体外羟自由基($\cdot\text{OH}$)的清除作用

参考文献的方法略作修改^[13]。向试管中依次加入1.0 mL不同质量浓度蛋白酶解液,0.5 mL EDTA-Fe溶液(2 mmol/L),1 mL PBS(150 mmol/L, pH 7.4),1 mL 番花红(360 $\mu\text{g}/\text{mL}$),最后加入1 mL H_2O_2 (3%),混匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴30 min,于520 nm比色。空白组用

缓冲溶液来代替样品,对照组用缓冲液代替样品和过氧化氢,同时用Vc作对照。每个浓度做平行,实验结果用清除率E来表示:

$$E(\%) = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}}$$

1.3.5 鲈鱼蛋白酶解液还原能力的测定

还原能力的测定参照 Sampath Kumar 等^[14]的方法。向试管中依次加入1.0 mL不同质量浓度蛋白酶解液,1 mL 1%铁氰化钾,混匀,50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴20 min,然后加入2 mL 10%三氯乙酸中止反应,5 min后,再加入1.25 mL 0.1%三氯化铁,放置30 min,于700 nm比色。每个浓度做平行,吸光度越大,表示还原能力越强。

1.3.6 氨基酸组成分析

取适量鲈鱼鱼肉和下脚料酶解液喷雾干燥产品,加入6 mol/L HCl,充氮气后,热融密封,110 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中水解24 h,脱酸后,用水定容至适量浓度上样测定。

2 结果与分析

2.1 鲈鱼的一般营养成分

鲈鱼的一般营养成分如表1所示,其鱼肉和下脚料水分含量分别为69.2%和70.4%。按照干基计算,粗蛋白含量分别达到38.5%和37.2%。

表1 鲈鱼的一般营养成分/%

Table 1 The basic nutritional components of *P. japonicus*

项目	水分	灰分	粗蛋白	粗脂肪
鱼肉	69.2	6.1	11.8 (38.5)	12.9
下脚料	70.4	12.4	11.0 (37.2)	7.2

注:()内为干基。

2.2 酶类的选择

选择胰蛋白酶,酸性蛋白酶,木瓜蛋白酶,风味蛋白酶,中性蛋白酶作为水解用酶,分别在各种酶最佳条件下对鲈鱼不同部位进行水解,加酶量1000 U/g,液固比10:1,酶解时间5 h,以水解度(DH)作为评价指标,结果见表2。

表2 各种蛋白酶水解效果比较

Table 2 Comparison of the hydrolysis by different proteinases

蛋白酶	最适	最适温	DH/%	
	pH	度/ $^{\circ}\text{C}$	鱼肉	下脚料
胰蛋白酶	7.5	40	7.91	16.08
酸性蛋白酶	3.0	37	4.28	9.30
木瓜蛋白酶	6.5	50	10.09	16.23
风味蛋白酶	6.5	50	17.21	28.56
中性蛋白酶	6.5	50	17.12	23.56

由表2可知,在所选的五种蛋白酶中,风味蛋白

酶对鲑鱼不同部位的水解效果较好,中性蛋白酶次之,酸性蛋白酶的水解效果最差。因此,本研究选取风味蛋白酶进行最佳的酶解条件探讨。

2.3 风味蛋白酶单酶酶解试验

2.3.1 酶解时间

选用液固比 10:1, 酶解温度 50 °C, 加酶量 1000 U/g, 分别酶解不同时间, 结果如图 1 所示。

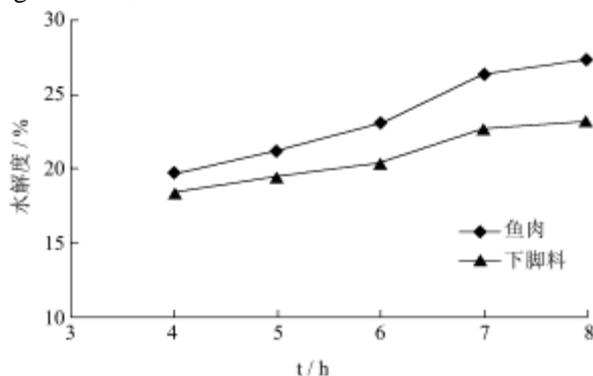


图 1 酶解时间对水解度的影响

Fig.1 Effect of hydrolysis time on the degree of hydrolysis

从图 1 可以看出,鱼肉蛋白的水解度高于下脚料,且均随着酶解时间的延长而增加,在前 7 h 水解度增加幅度较大,7 h 后水解度增加缓慢。考虑到水解时间过长会对鲑鱼酶解液的色泽和风味产生影响^[15],因此取 7 h 为适宜酶解时间。

2.3.2 加酶量

选用液固比 10:1, 酶解温度 50 °C, 在不同的加酶量下酶解 7 h, 结果如图 2 所示。

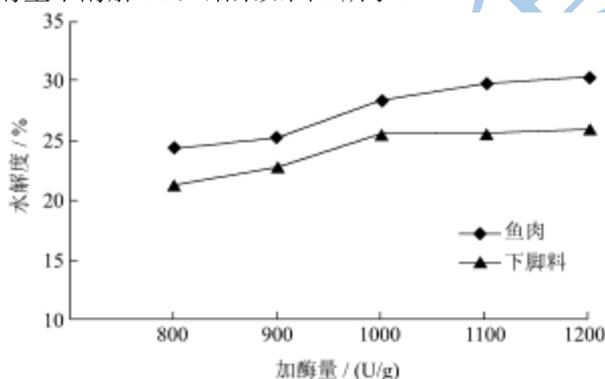


图 2 加酶量对水解度的影响

Fig.2 Effect of quantity of enzyme on the degree of hydrolysis

从图 2 可以看出,鱼肉和下脚料蛋白的水解度随着加酶量的增加而增加,在 800 到 1000 之间,增加幅度较大,此后加酶量再增加,水解度增加幅度较小。随着酶量的增加,使酶解液的颜色加深,不良气味加重^[12],综合考虑,取 1000 U/g 风味蛋白酶为最适酶量。

2.3.3 酶解温度

选用液固比 10:1, 加酶量 1000 U/g, 分别在 40、45、50、55、60 °C 酶解 7 h, 结果见图 3。

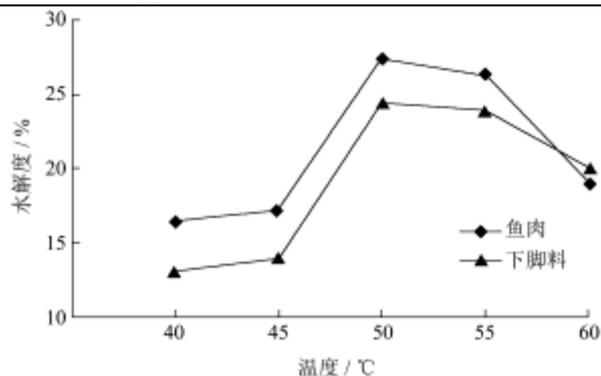


图 3 温度对水解度的影响

Fig.3 Effect of temperature on the degree of hydrolysis

从图 3 可以看出,温度对鱼肉和下脚料蛋白水解度的影响较大,两者均在 50 °C 达到最高,超过 50 °C 水解度呈下降趋势。可见,在酶解过程中,适当的提高温度可增加酶的活力,促进水解,若温度过高,鱼蛋白和酶发生变性则不利于水解。因此,选择 50 °C 为适宜的酶解温度。

2.3.4 液固比

选用加酶量 1000 U/g, 酶解温度 50 °C, 酶解时间 7 h, 选用不同的液固比, 结果如图 4 所示。

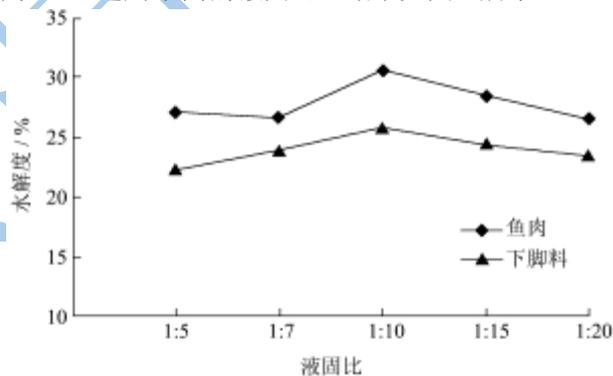


图 4 液固比对水解度的影响

Fig.4 Effect of liquid-to-solid ratio on the degree of hydrolysis

液固比较小时,底物浓度过高,从而会影响酶催化速度及产物分子的扩散,故水解度较低;液固比过大的话,酶的浓度下降,也对蛋白水解造成不利影响^[12]。从图 4 可见,液固比在 10:1 时,鱼肉和下脚料蛋白的水解度最高,因此取 10:1 为适宜的液固比。

2.3.5 pH 值

选用加酶量 1000 U/g, 酶解温度 50 °C, 酶解时间 7 h, 液固比 10:1, 选取不同的 pH 值, 结果如图 5 所示。

图 5 所示, pH 值对鲑鱼下脚料水解度的影响较大,而对鱼肉水解度的影响较小,不同 pH 值之间并无显著性差异,在 pH 值为 6.5 时,两者水解度最高,因此取 pH 值 6.5 进行下一步分析。

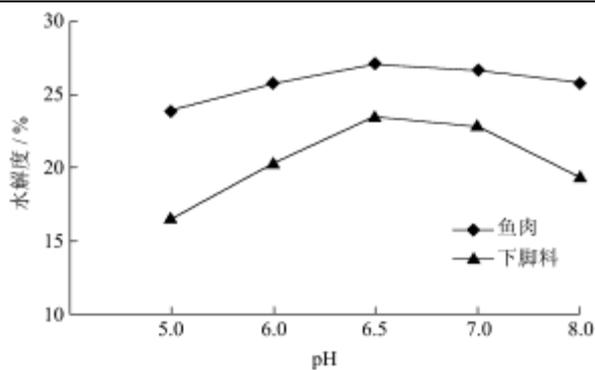


图5 pH值对水解度的影响

Fig.5 Effect of pH on the degree of hydrolysis

2.4 风味蛋白酶酶解正交试验

2.4.1 正交试验因素水平的选取

考虑到各因素之间的相互影响,在单因素研究的基础上,获得条件较好的实验参数范围后,选取加酶量、酶解温度、酶解时间、pH值和液固比五个因素进行优化,每个因素四个水平。实验因素和水平设计见表3。

表3 正交试验因素水平表

Table 3 The levels and factors of the orthogonal test

因素	水平			
	1	2	3	4
X ₁ [加酶量/(10 ³ U/g)]	900	1000	1100	1200
X ₂ (酶解温度/°C)	48	50	52	55
X ₃ (酶解时间/h)	5.5	6.0	6.5	7.0
X ₄ (pH值)	5.5	6.0	6.5	7.0
X ₅ (液固比)	6:1	8:1	10:1	15:1

2.4.2 正交试验设计及结果

从表4可以看出,影响鱼肉蛋白水解度的因素顺序依次是 B>C>E>A>D,即酶解温度影响最大,其次为酶解时间、料液比、加酶量、pH值,最佳组合为 A₄B₁C₃D₁E₄,即鱼肉蛋白水解的最适条件为:加酶量1200 U/g,物料比1:15,pH值5.5,48 °C酶解6.5 h,在此条件下进行验证,鱼肉蛋白的水解度为37.8%。

由表4还可知,影响下脚料蛋白水解度的因素顺序依次是 D>B>E>C>A,即pH值影响最大,其次为酶解温度、料液比、酶解时间、加酶量,最佳组合为 A₄B₁C₃D₂E₂,即下脚料蛋白水解的最适条件为:加酶量1200 U/g,物料比1:8,pH值6.0,48 °C酶解6.5 h,在此条件下进行验证,下脚料蛋白的水解度为37.1%。

2.5 鲈鱼蛋白酶解液的抗氧化作用

2.5.1 鲈鱼蛋白酶解液对体外羟自由基(·OH)的清除作用

·OH是化学性质最活泼的一种活性氧分子,是活性氧中对生物体毒性最强、危害最大的一种自由基

[16]。许多研究者报道过蛋白酶解液具有清除羟自由基的能力[17]。

表4 正交试验设计及结果

Table 4 The design and result of the orthogonal test

试验号	试验因素及水平					水解度/%	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	鱼肉	下脚料
1	1	1	1	1	1	25.8	20.3
2	1	2	2	2	2	24.7	30.7
3	1	3	3	3	3	27.4	28.5
4	1	4	4	4	4	26.8	28.6
5	2	1	2	3	4	32.5	34.6
6	2	2	1	4	3	18.8	25.6
7	2	3	4	1	2	23.8	20.9
8	2	4	3	2	1	22.5	29.3
9	3	1	3	4	2	29.7	36.9
10	3	2	4	3	1	18.6	17.3
11	3	3	1	2	4	21.4	25.9
12	3	4	2	1	3	27.6	23.6
13	4	1	4	2	3	33.9	35.8
14	4	2	3	1	4	34.6	25.0
15	4	3	2	4	1	25.0	27.0
16	4	4	1	3	2	23.8	29.0

鱼肉	K ₁	26.18	30.48	22.45	27.95	22.98	
	K ₂	24.40	24.18	27.45	25.63	25.50	
	K ₃	24.32	24.40	28.55	25.58	26.93	
	K ₄	29.32	25.18	25.78	25.08	28.83	
	R	26.18	30.48	22.45	27.95	22.98	

下脚料	K ₁	27.03	31.90	25.20	22.45	23.48	
	K ₂	27.60	24.65	28.98	30.43	29.38	
	K ₃	25.93	25.58	29.93	27.35	28.38	
	K ₄	29.20	27.63	25.65	29.53	28.53	
	R	3.28	7.25	4.73	7.98	5.90	

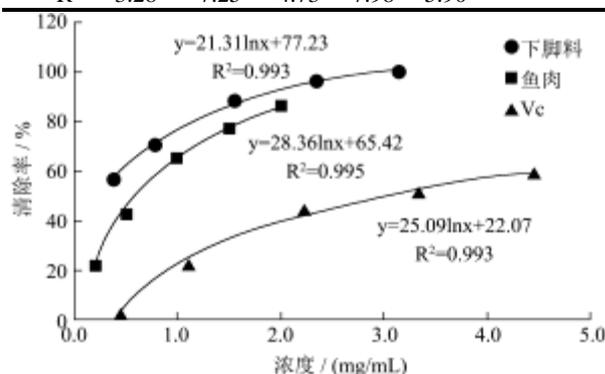


图6 蛋白酶解液对羟自由基清除能力的比较

Fig.6 Scavenging effect of protein hydrolysate on hydroxyl radical

由图6可知,鲈鱼鱼肉和下脚料蛋白酶解液

对·OH的清除能力随着质量浓度的增加而增加,清除能力与质量浓度呈现较好的对数回归关系,相关系数分别为0.993和0.995。其中下脚料对·OH的清除能力高于鱼肉,由回归曲线推出蛋白酶解液的EC₅₀值(清除50%已生成自由基的有效质量浓度)分别为0.58 mg/mL和0.28 mg/mL,同理,V_c的EC₅₀值为3.04 mg/mL。可见,鲑鱼蛋白酶解液具有较强的清除羟自由基的能力,高于部分研究者所研究的鱼类蛋白酶解液对羟自由基的清除能力^[18,19]。因此,鲑鱼蛋白酶解液可作为潜在的抗氧化剂应用。

2.5.2 鲑鱼蛋白酶解液还原能力的测定

还原能力的大小可以反映抗氧化活性的大小。在Fe³⁺-Fe²⁺反应体系中,700 nm处的吸光度越大,表明还原能力越强^[20]。

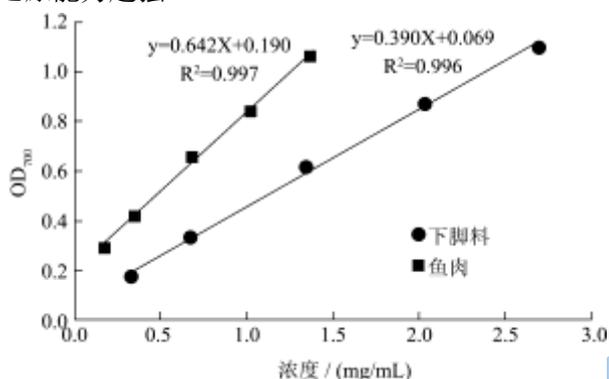


图7 蛋白酶解液还原能力的测定

Fig.7 Reductive power of protein hydrolysate

由图7可见,鲑鱼蛋白酶解液具有一定的还原能力,且还原能力随着质量浓度的增大而提高,两者均呈较好的线性关系,相关系数分别为0.996和0.997,这与一些研究报道一致^[4,21]。当鱼肉和下脚料蛋白酶解液的质量浓度为1 mg/mL时,吸光值分别为0.832和0.459,相当于约34 μg/mL和12 μg/mL BHT在这个反应体系中的还原能力(图8)。

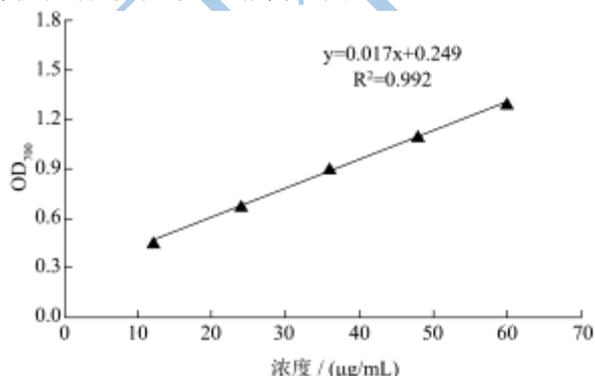


图8 BHT还原能力的测定

Fig.8 Reductive power of BHT

综上所述,鱼肉蛋白酶解液的还原能力高于下脚料蛋白酶解液,而后者却具有较好的·OH的清除能力,

可见,鲑鱼不同部位的抗氧化活性存在一定差别。

2.5.3 氨基酸组成分析

表5 鲑鱼蛋白的氨基酸组成分析

Table 5 Amino acid composition of *Pjaponicus* protein

hydrolysate					
氨基酸	含量/(10 ⁻² g/g)		氨基酸	含量/(10 ⁻² g/g)	
	鱼肉	下脚料		鱼肉	下脚料
天门冬氨酸	3.26	3.71	异亮氨酸*	2.11	2.54
苏氨酸*	1.83	2.22	亮氨酸*	3.54	3.18
丝氨酸	1.63	2.38	络氨酸	1.02	0.98
谷氨酸	5.44	6.59	苯丙氨酸*	2.05	1.99
甘氨酸	2.63	4.73	赖氨酸*	3.11	3.85
丙氨酸	2.67	3.12	组氨酸	0.95	0.53
缬氨酸*	2.50	2.73	精氨酸	3.75	5.92
蛋氨酸*	0.96	1.11	脯氨酸	1.08	1.46
∑AA	38.53	43.17	∑EAA	16.10	17.62
∑EAA/∑AA	0.42	0.41	∑EAA/∑NEAA	0.72	0.69

注:∑AA表示氨基酸总量;∑EAA表示必需氨基酸含量;∑NEAA表示非必需氨基酸含量,*表示必需氨基酸。

如表5所示,鲑鱼鱼肉和下脚料蛋白酶解液共检出16种氨基酸,两者含量最高的均是鲜味有关的谷氨酸,其次是精氨酸,此外,天门冬氨酸和亮氨酸在鱼肉蛋白酶解液中含量较高,而下脚料蛋白酶解液中甘氨酸和赖氨酸含量较高,含量最低的均是组氨酸。可见,鱼肉和下脚料蛋白酶解液氨基酸组成存在差异,由此推测,两者抗氧化活性存在差异可能与此有关。鲑鱼鱼肉蛋白酶解液中氨基酸总量为38.53%,其中必需氨基酸/总氨基酸和必需氨基酸/非必需氨基酸比值分别为0.42和0.72,鲑鱼下脚料蛋白酶解液中氨基酸总量为43.17%,比值分别为0.41和0.69,两者均高于FAO/WHO建议值0.40和0.60。说明鱼肉和下脚料蛋白酶解液营养均衡,有作为制备生物活性肽的应用前景。

3 结论

3.1 鲑鱼鱼肉和下脚料蛋白质含量较高,按照干基计算,分别达到38.5%和37.2%,是一种很好的蛋白质资源。

3.2 选择胰蛋白酶,酸性蛋白酶,木瓜蛋白酶,风味蛋白酶,中性蛋白酶五种蛋白酶水解鲑鱼鱼肉和下脚料,其中以风味蛋白酶的水解效果最好。

3.3 正交试验表明,风味蛋白酶水解鱼肉蛋白的最适条件为:加酶量1200 U/g,物料比1:15, pH值5.5, 48 °C酶解6.5 h,其水解度为37.8%。风味蛋白酶水解下脚料蛋白的最适条件为:加酶量1200 U/g,物料比

1:8, pH值 6.0, 48 °C酶解 6.5 h, 其水解度为 37.1%。鲑鱼蛋白在最适条件下酶解后, 酶解液经喷雾干燥得黄色粉状产品, 带有浓郁海鲜味。

3.4 鲑鱼鱼肉和下脚料蛋白酶解液清除羟自由基的能力较强, EC₅₀值分别为 0.58 mg/mL 和 0.28 mg/mL, 且具有一定的还原能力, 可作为潜在的抗氧化剂应用。此外, 鱼肉和下脚料蛋白酶解液含有的主要氨基酸组分的含量有所差异, 推测两者的抗氧化活性差异可能与此有关, 两者的 FAO/WHO 均高于建议值 0.40 和 0.60, 说明鱼肉和下脚料蛋白酶解液营养均衡, 有作为制备生物活性肽的应用前景。

参考文献

- [1] 包建民. 鲑鱼的营养价值及组胺中毒的预防[J]. 中国食物与营养, 2006, 3: 55
- [2] HU H, LI B F, ZHAO X, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of Alaska pollock frame for preparing protein hydrolysates with low-bitterness [J]. LWT - Food Science and Technology, 2011, 44(2): 421-428.
- [3] MOHR, V. Enzymes technology in the meat and fish industries [J]. Process Biochemistry, 1980, 15(6): 18
- [4] 张健雄, 叶清如. 利用鲑鱼下脚料加工浓缩鱼蛋白[J]. 现代渔业信息, 1991, 6(7): 22-26
- [5] 裘迪红, 周涛, 戴志远. 酶解鲑鱼蛋白制备低分子肽制品[J]. 东海海洋, 2001, 19(2): 63-68
- [6] 付春燕, 周丹璐, 路焰, 等. 响应面法优化鲑鱼头酶解条件[J]. 食品科学, 2010, 31(22): 54-58
- [7] 程云辉, 曾知音, 郭建伟, 等. 抗氧化肽的酶法制备及其构效关系的研究进展[J]. 食品与机械, 2009, 6: 174-180
- [8] 张敬敏, 吕玲玲. 银鲑酶解物抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(1): 112-114
- [9] 丁利君, 钟森辉. 鳕鱼蛋白酶解工艺优化及其酶解液抗氧化研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 398-401
- [10] 吴谋成. 食品分析与感官评定[M]. 中国农业出版社, 2002
- [11] 赵新淮, 冯志标. 蛋白质水解物水解度的测定[J]. 食品科学, 1994, 11: 65-67
- [12] 栗桂娇, 阎欲晓, 申柯, 等. 酶法制取罗非鱼水解动物蛋白的工艺研究[J]. 食品科学, 2005, 26(4): 177-182
- [13] 王巨存, 邢国胜, 胡文铎, 等. 有机锗 Ge-132 对氧自由基和羟自由基诱导的脂质过氧化的影响[J]. 中国医药杂志, 1994, 29(1): 23-25.
- [14] SAMPATH KUMAR N S, NAZEER R A, Nazeer JAIGANESH R. Purification and identification of antioxidant peptides from the skin protein hydrolysate of two marine fishes, horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) and croaker (*Otolithes ruber*) [J]. Amino Acids, 2012, 42(5): 1641-1649
- [15] 崔金会, 邢荣娥, 李荣峰, 等. 扇贝边水解蛋白制备及其抗氧化活性测定[J]. 食品工业科技, 2012, 33(13): 71-73
- [16] 李琳, 赵谋明. 鳕鱼蛋白酶解液清除自由基的研究[J]. 水产科学, 2005, 24(10): 15-18
- [17] ZHOU D Y, QIN L, ZHU B W, et al. Optimization of hydrolysis of purple sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*) gonad by response surface methodology and evaluation of in vitro antioxidant activity of the hydrolysate [J]. J Sci Food Agric, 2012. 92(8): 1694-1701
- [18] 牛瑞, 于建生. 鳕鱼多肽的抗氧化活性及其分离纯化[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(4): 562-566
- [19] ZENG M Y, GUO Y, LIU Z Y, et al. Preparation of radical scavenging peptides from *Oreochromis niloticus* skin gelatin and its antioxidative activity [J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(1): 117-123
- [20] BOUGATEF A, NEDJAR-ARROUME N, MANNI L, et al. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins [J]. Food Chemistry, 2010, 118(3): 559-565
- [21] KIOMPONG V, BENJAKUL S, KANTACHOTE D, et al. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. [J]. Food Chemistry, 2007, 102(4): 1317-1327