

鳕鱼酶解液苦味肽的纯化鉴定

解铭, 侯虎, 张姝妹, 步琳, 常钰菲, 张朝辉, 李八方

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要: 本文利用 DA201-C 大孔树脂对鳕鱼肉碱性蛋白酶酶解液进行脱盐后, 用 SP Sephadex C-25 阳离子交换层析和反相高效液相色谱等方法对鳕鱼酶解液进行分离纯化, 最终得到了浓度较高的两种苦味肽。将得到的苦味肽采用液相色谱-飞行时间串联质谱(LC-TOF-MS/MS)技术对多肽结构进行鉴定, 确定其氨基酸序列分别为: HWPWMK(His-Trp-Pro-Trp-Met-Lys)和 AVVLII(Ala-Val-Val-Leu-Ile-Ile)。同时本文采用感官评定与多肽 Q 值相结合的方法对苦味进行评价, 通过氨基酸分析仪对苦味样品进行氨基酸组成的测定, 得出具有苦味的 C7 和 S9 组分的 Q 值分别为 6.03 kJ/mol 和 6.79 kJ/mol, 通过感官评定得出其苦味强度为: 9 ± 0.8 和 8.2 ± 1.6 。鉴定得到的苦味肽 S9_{purity} 和 S10_{purity} 的 Q 值分别为: 8.85 kJ/mol 和 8.53 kJ/mol, 苦味强度为: 9.4 ± 0.8 和 8.9 ± 0.9 。本文从鳕鱼肉酶解液中分离纯化得到的苦味肽为苦味肽家族增添了新成员, 为下一步的研究提供了原料和实验基础。

关键词: 鳕鱼; 苦味肽; 分离纯化; Q 值

文章编号: 1673-9078(2016)2-190-195

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.2.029

Purification and Identification of Bitter Peptides from Codfish Hydrolysate

XIE Ming, HOU Hu, ZHANG Shu-mei, BU Lin, CHANG Yu-fei, ZHANG Zhao-hui, LI Ba-fang

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Alkaline protease hydrolysate was isolated from codfish muscle, desalinated using DA201-C macroporous resin, and purified using SP Sephadex C-25 ion-exchange chromatography and reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). The final product comprised of two bitter peptides at a relatively high concentration. Peptide structures were characterized by liquid chromatography/time-of-flight tandem mass spectrometry (LC-TOF-MS/MS), while bitterness intensity was evaluated by a combination of sensory evaluation and Q value. Their amino acid sequences were determined using an amino acid analyzer as HWPWMK (His-Trp-Pro-Trp-Met-Lys) and AVVLII (Ala-Val-Val-Leu-Ile-Ile). The amino acid composition of bitter fractions C7 and S9 was also analyzed; their Q values were determined as 6.03 and 6.79 kJ/mol, while their bitterness intensities were determined by sensory evaluation as 9 ± 0.8 and 8.2 ± 1.6 , respectively. Q values of the purified bitter peptides S9_{purity} and S10_{purity} were 8.85 kJ/mol and 8.53 kJ/mol, while their bitterness intensities were 9.4 ± 0.8 and 8.9 ± 0.9 , respectively. The bitter peptides isolated and purified from the codfish hydrolysate in this study are new members of the bitter peptide family and provide data for further study.

Key words: codfish; bitter peptides; isolation and purification; Q value

鳕鱼(codfish)是一种营养丰富的深海鱼种, 是我国水产品加工的重要原料之一, 主要分布在北太平洋, 我国的鳕鱼主要产于黄海和东海北部, 资源丰富。鳕鱼肉中含有丰富的蛋白质和有益于人体的多种维生素和矿物质^[1]等营养组分。鳕鱼肉经过酶解后具有抗氧化等多种生理活性^[2], 但是蛋白质酶解后易产生苦味, 影响其在食品市场中的应用。

收稿日期: 2015-04-25

基金项目: 国家自然科学基金 (31401476, 31471606)

作者简介: 解铭 (1989-), 女, 硕士研究生, 硕士学位, 研究方向: 海洋活性物质

通讯作者: 李八方 (1953-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 海洋活性物质

研究表明, 对于蛋白质酶解后产生的苦味主要是由于蛋白质酶解产生了具有苦味的多肽引起的, 目前已有不少从动植物蛋白水解物中分离纯化出苦味肽的研究报道^[3,4]。对于苦味肽的分离纯化, 目前常用的方法有: 超滤、萃取、凝胶色谱、离子交换色谱和高效液相色谱等方法。分离纯化后的多肽需要进行结构的鉴定, 常用的多肽结构鉴定的方法有质谱法、Edman降解法、放射性同位素标记法、红外光谱测定等方法。目前国内外对于多肽的鉴定一般采用质谱法, 常用的测定多肽的质谱主要有: 电喷雾质谱、飞行时间质谱、离子阱质谱以及多种质谱连用的方法。

目前对于苦味评定的方法主要有: 人的感官评

定、动物的感官评定、钙成像以及电子舌的方法。相对于其他方法,人的感官评定具有方法简单便捷、反应方式直观的特点,仍然是对于苦味评定最常用的方法。对于苦味肽的研究,早在1971年,Ney提出了用Q值作为衡量苦味的一种方法。Q值是指氨基酸侧链从乙醇相转移到水相过程中自由能的该变量。

本文将Q值作为苦味衡量的一个指标,与人的感官评定相结合作为苦味评定的标准,对多肽的苦味进行评定。该方法具有人的感官评定的直观形象的特点,又具有将苦味强度进行具体的数字化,达到了但一种苦味评定方法所不具备的优点,突出苦味的强度。此种方法对苦味进行评定,较但一种方法优点联合的特点。

本文利用阳离子交换层析、反相高效液相色谱等纯化技术从鳕鱼肉酶解物中分离纯化出苦味肽,应用高效液相-飞行时间串联质谱(LC-TOF-MS/MS)技术,对苦味肽进行结构鉴定。这不仅可以完善苦味肽家族成员,还可以为研究苦味机理及脱苦提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 原料

1.1.1 主要原料和试剂

鳕鱼购于青岛团岛农贸市场;碱性蛋白酶购于南宁庞博生物有限公司;SP Sephadex C25 离子层析柱填料(Pharmacia 公司);乙腈购于美国天地公司;乙醇、氯化钠、盐酸、氢氧化钠等均为分析纯。

1.1.2 主要仪器设备

PHS-3C 型 pH 计(上海精密科学仪器有限公司);DS-1 高速组织捣碎机(上海标本模型厂);SHA-B 双数显水浴恒温振荡器(常州国华电器有限公司);BR4i 型冷冻离心机(法国 Jouan 公司);UV2102PC 型紫外分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司);电脑紫外检测器(常州国华电器有限公司);电导率仪(上海沪西实验仪器有限公司);HL-2 恒流泵(上海沪西分析仪器厂);自动分离收集器(上海青浦沪西仪器厂);高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);高效液相-质谱联用仪(美国 Thermo 公司);L-8900 自动氨基酸分析仪(日立公司)。

1.2 方法

1.2.1 酶解液的制备

I. 鱼糜的制备:将购买的新鲜鳕鱼去头尾、内脏。去皮后取肉,用组织绞碎机将其搅成鱼糜备用。

II. 酶解方法的确定:取一定量的鱼糜加入到锥

形瓶中,加入缓冲液(肉:缓冲液为1:4),按照一定的酶活加入适量的碱性蛋白酶,将锥形瓶放入到恒温水浴摇床进行酶解反应,反应结束后加热灭酶(沸水浴,15 min),离心(4000 r/min, 25 min),取上清液。

1.2.2 苦味的评定

采用感官评定的方法对水解液进行苦味的评定^[5,6]。将鳕鱼肉水解液 pH 调至中性,挑选6名品尝者(身体健康,无感官评定的问题)对样品进行感官评定。评定员参照标准品(表1)对样品进行打分评定,取平均值表示苦味的程度。评定员要求在感官评定前2 h 禁水禁食,样品在室温条件下进行感官评定,两次样品进行苦味评定的中间间隔5 min,防止两次感官评定的样品之间相互影响。

表1 苦味强度的感官评定标准

Table 1 Standard for sensory evaluation of bitterness intensity

咖啡碱浓度	0.03%	0.08%	0.15%
苦味强度	2	5	10

1.2.3 水解液脱盐方法

利用大孔树脂 DA201-C 对样品进行脱盐处理^[7]。鳕鱼肉碱性蛋白酶酶解产物用 DA201-C 大孔树脂进行脱盐处理。将预处理过的 DA201-C 大孔树脂缓慢的装入 2.6 cm×40 cm 的层析柱中,用超纯水平衡柱子后,在室温的条件下,将调节至中性的鳕鱼肉碱性蛋白酶酶解液以 1 mL/min 的流速上样,在 220 nm 紫外条件下检测流出液的吸光值。上样结束后先用超纯水对层析柱进行洗脱,测定其电导率,当电导率值保持不变后,用浓度为 50%~100% 的乙醇进行洗脱,收集样品旋转蒸发后冻干备用。

1.2.4 苦味肽的分离纯化

将脱盐后的鳕鱼肉酶解液用 SP Sephadex C-25 阳离子交换柱(2.6 cm×30 cm)进行法分离纯化^[8],平衡液为 20 mmol/L 的醋酸缓冲液(pH=4.0),用含有 NaCl(0~1 mol/L)的醋酸缓冲液进行线性梯度洗脱,洗脱速度为 2 mL/min,检测波长 220 nm,收集不同峰,利用大孔树脂对其进行脱盐处理后进行感官评定。

将苦味强度最高的样品用反相高效液相色谱 C₁₈ 半制备柱(9.4 mm×250 mm)进行纯化,以体积分数为 5%~30% 的乙腈梯度洗脱 30 min,洗脱速度 1 mL/min,柱温 35 °C,在 220 nm 下收集峰,检测其苦味强度。将苦味强度最高的组分继续利用反相高效液相色谱 C₁₈ 半制备柱进行多次分离纯化,最终得到纯度较高的高苦味强度的多肽组分。

1.2.5 多肽结构的鉴定

对于经过反相高效液相分离纯化出的苦味肽进行多肽结构采用美国 Thermo 公司的液相色谱-四级杆

-飞行时间质谱(LC-Q-TOF-MS/MS)技术进行测定^[9]。采用甲醇和水作为体系的流动相,将样品溶解于超纯水中,过0.22 μm微孔滤膜后上样10 μL,以0~40%的甲醇流动相进行线性洗脱40 min,检测波长为220 nm。质谱采用正离子模式下进行扫描。收集样品的质谱图,通过MaxQuant1.5.2.8与多肽质谱谱库进行对照,得到苦味肽的结构。通过一级质谱确定多肽的精确分子量,通过二级质谱确定多肽的氨基酸序列。

1.2.6 Q值的测定

1971年,Ney提出了Q-规则作为衡量苦味大小的一种方法。多肽平均疏水度Q的计算公式为:

$$Q = \sum \Delta Q_i = \sum \frac{AA_i / M_i}{\sum AA_i / M_i} \times \Delta f_i$$

其中:Q-代表多肽的平均疏水性,kJ/mol;ΔQ_i-某种氨基酸的疏水性,kJ/mol;AA_i-多肽溶液中各种氨基酸的含量,g;M_i-某种氨基酸的摩尔质量,g/mol;Δf_i-氨基酸侧链的疏水性,kJ/mol。

对于分子量低于6000 u的多肽,当Q>5.86 kJ/mol时表示多肽有苦味,当Q<5.44 kJ/mol时表示多肽没有苦味,对于介于5.44 kJ/mol和5.86 kJ/mol之间,则不能判断多肽是否具有苦味。

1.2.7 氨基酸组成测定

取冻干的样品约15 mg(精确至0.01 mg),置于安瓿瓶中,用10 mL 6 mol/L的盐酸(含1%的巯基乙醇)在110 °C的条件下水解22 h,冷却后将水解液定容到50 mL,取1 mL于旋蒸瓶中,加入超纯水旋蒸排酸3次,最后用0.02 mol/L的HCl定容至5 mL,将样品过0.22 μm的水系膜后利用自动氨基酸分析仪对样品中的氨基酸进行分析^[10]。

1.2.8 数据分析

实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据处理采用SPSS Statistics和Excel软件。

2 结果与讨论

2.1 SP Sephadex C-25 阳离子层析结果

鳕鱼肉酶解液经过脱盐处理后,酶解液的苦味没有降低。因此将脱盐后的酶解液用阳离子柱进行分离纯化,经过SP Sephadex阳离子层析柱后分离纯化得到了7个峰(图1),分别标记为C1-C7,通过感官评定不同组分的苦味强度可以得出,第7个峰(C7)显示出的苦味强度最高(图2),其苦味值为9±0.8,与C7组分的苦味强度进行对比发现,其他组分的苦味强度

都表现出显著性或者极显著性差异。因此对C7组分利用反相高效液相色谱进行分离纯化。

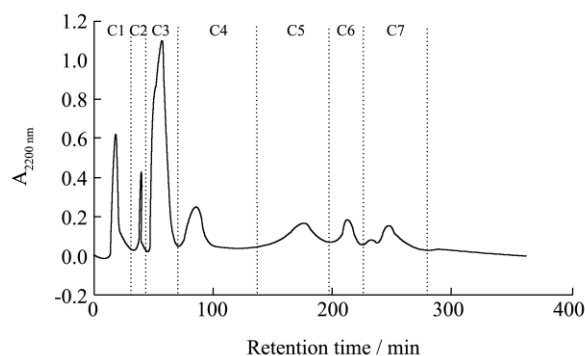


图1 SP Sephadex C-25分离纯化图

Fig.1 Isolation and purification using SP Sephadex C-25

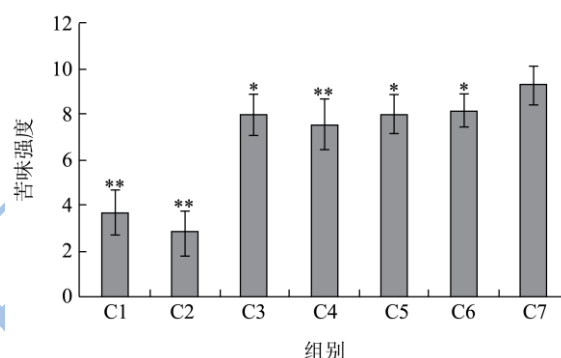


图2 SP Sephadex C-25分离纯化组分的苦味值

Fig.2 Bitterness values of the fractions from SP Sephadex C-25

注:与苦味强度最强的C7组分相比,*代表具有显著性差异($p < 0.05$),**代表具有极显著性差异($p < 0.01$)。

2.2 高相液相色谱对苦味组分C7的分离纯化

对得到的苦味较重的C7组分采用反相高效液相色谱C18半制备柱继续分离纯化,由于C7组分的多肽的种类和含量都较为复杂,因此第一次反相液相分离的结果表现出较强的复杂性,因此从第10 min开始收集样品,每隔10 min作为一组,分为11组,分别标记为S1-S11组分如图3(A)所示。将S1-S11组分两次冷冻干燥后用超纯水溶解后进行感官评定,结果如图3(B)所示,其中S9、S10和S11组分的苦味强度最强,分别为8.2±1.6、8.5±1.3和8.2±1.4。对S9、S10和S11组分进行多次高效液相分离纯化,得到S9和S10得到的苦味强度较S11组分明显,但由于S11组分进行下一步液相分离纯化时苦味较为分散,因此就针对于S9和S10组分进行多次的反相液相的分离纯化,最终得到纯度较高的S9_{purity}和S10_{purity}的苦味值分别为9.4±0.8和8.9±0.9。

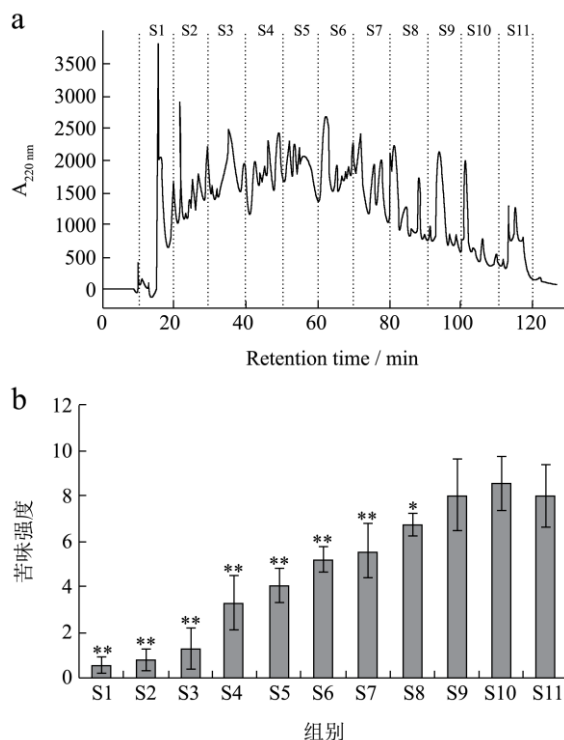


图3 C7组分的反相高效液相分离纯化结果

Fig.3 Isolation and purification of fraction C7 using RP-HPLC

注: a.反相高效液相半制备柱 C18 分离纯化图; b.反相高效液相分离纯化组分苦味值;与苦味强度最强的S10组分相比,*代表具有显著性差异(p<0.05),**代表具有极显著性差异(p<0.01)。

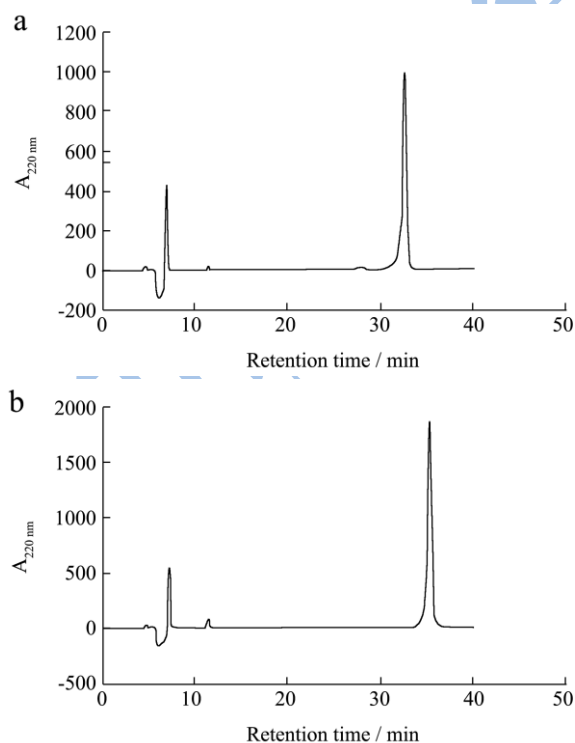


图4 S9和S10反相高效液相纯化结果

Fig.4 Isolation and purification of S9 and S10 by RP-HPLC

注: a.S9反相高效液相纯化结果图; b.S10反相高效液相

纯化结果图。

2.3 苦味组分氨基酸组成结果

表2 C7和S9组分的氨基酸组成

Table 2 Amino acid composition of fractions C7 and S9

氨基酸	摩尔质量 M/(g/mol)	氨基酸侧链疏水性/(kJ/mol)	C7中氨基酸含量/(g/100g)	S9中氨基酸含量/(g/100g)
Asp	133.1	2.25	8.99	8.65
Thr	119.1	1.85	2.99	2.22
Ser	105.1	0.17	2.63	2.42
Glu	147.1	2.3	6.82	6.00
Gly	75.07	0	2.66	1.88
Ala	89.1	3.1	1.49	1.33
Cys	121.2	4.18	-	-
Val	117.1	7.05	5.87	8.38
Met	149.21	5.45	2.24	2.21
Ile	131.2	12.4	6.67	7.09
Leu	131.2	10.1	8.88	16.92
Tyr	181.2	12	10.59	8.23
Phe	165.2	11.1	8.78	11.46
Lys	146.2	6.25	14.22	12.32
His	155.2	2.1	5.40	4.12
Arg	174.2	3.1	11.77	6.77
Pro	115.1	10.85	-	-
Trp	204.2	14.21	-	-

表2表示经过分离纯化得到的苦味组分C7和S9组分的氨基酸组成,利用Q值的计算公式可以计算得到:SP Sephadex C-25分离得到的苦味组分C7的Q值为6.03 kJ/mol,大于5.86 kJ/mol,根据Q-法则可以进一步的证明对于分离得到的组分C7具有苦味。对于反相高效液相分离纯化得到的苦味组分的S9组分经过氨基酸的组分分析可以得到其Q值为6.79 kJ/mol,大于5.86 kJ/mol,根据Q-法则可以进一步证明对于液相分离得到的S9组分是具有苦味的组分。同时对比C7和S9组分,其中S9组分是由C7进一步分离纯化得到的,对于S9的苦味强度较C7组分更进一步的增强。

2.4 苦味组分C7中的多肽组成分析

表3表示经过离子层析和第一次高效液相分离纯化得到的苦味组分C7和S9的多肽组成。研究表明,对于苦味较重的组分所含有各种多肽中带有疏水性氨基酸末端和碱性氨基酸末端的多肽较多,这与文献中报道的苦味的形成与疏水性氨基酸和碱性氨基酸末

端相关这一结论相符合。对于 S9 组分是由 C7 组分分离纯化得到的, 但 S9 组分中的主要多肽组成与 C7 组分有差异, 这是由于随着反相液相的进一步分离, 对于有苦味的多肽进行集中, 苦味组分中的苦味肽含量升高, 非苦味的多肽的含量和种类都降低, 苦味强度增强。

表 3 不同组分的主要多肽组成

Table 3 Main peptide composition of different fractions

C7	S9
MTQIMFETFNPAMY	NVLIFDLGGGTFDV
VAIQAVLSLYASGR	SILTIEDGIFEVK
NVLIFDLGGGTFDVSI	HWPWMK
LTIEDGIFEVK	
NDSSRFQKQK	VDFDDIQKQR
AILNPLGFSEAR	LDTLYISDQIR
HWPWMK	TLTWVALVRQAVPTK
IIAPPERK	IIAPPERK
IKIIAPPER	VSEVPVMSHR
GIQQGFKAGMGILKQR	SLTPTSGTSSSSLAFTGSR
GAVLNFDPVVLGLR	LDTLYISDQIR
AILNPLGFSEAR	MAVQHMKTLR
ECVDDLK	RLLAQCALHLR
AFGYLEVTHDITR	EVAFANMK
LGPAKQLCVCHSTQK	IEKQIQSKGPGITER
LFNQTDGVHIFQR	RFQTIYNRLDLPR
NIFMDVLARELQKR	DWPDAR
ASGVEGMDVVQLLNK	HRTDLNFENLK
DWPDAR	KVQQQVAKGNMGLTK
IQVSKDVPR	KTGKAQGAQQTEK
IDPTGGEGR	IEMELESVVPK
RLLAQCALHLR	
KERLYEAQNR	
VDFDDIQKQR	
LQAQRNRLLR	
NTGIKQIR	
LWTPYGLR	
MVXPVESPIR	
MXVPVESPIR	
VSEVPVMSHR	
KDISDNKR	
NNCLKSVPNAVR	
SPFARSQGDVMGQLEEK	
LGKVMRMLGQNPTPR	

2.5 苦味肽序列的鉴定

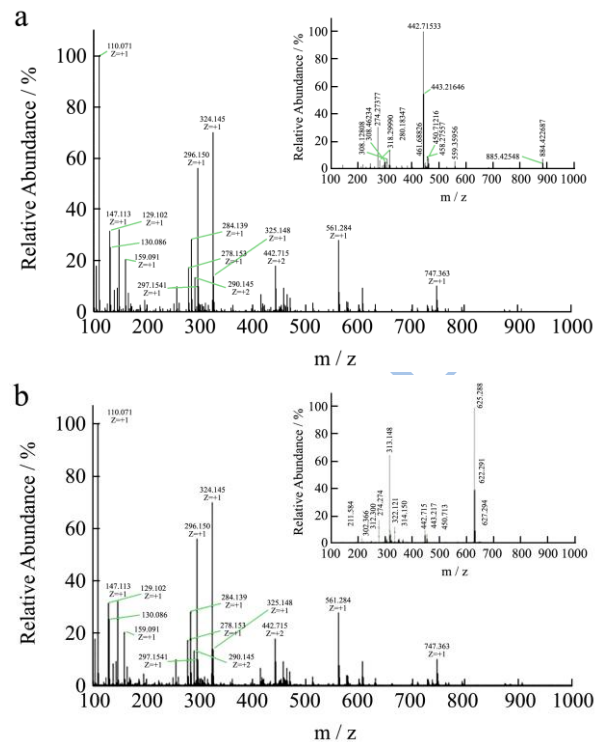


图 4 两种分离纯化苦味肽的二级质谱图

Fig.4 Product ion spectra of the two purified bitter peptides

注: a.S9_{purity} 组分的二级质谱图 and 一级质谱图; b.S10_{purity} 组分的二级质谱图 and 一级质谱图。

通过反相高效液相对分离得到的苦味肽组分 S9_{purity} 和 S10_{purity} 进行纯度鉴定可以看出其液相图表现出较高的纯度, 因此利用高效液相-飞行时间串联质谱(LC-TOF-Ms/Ms)对其进行结构鉴定。苦味肽组分 S9_{purity} 和 S10_{purity} 的一级质谱图可以得到 S9_{purity} 组分的苦味肽的精确分子量为 883.4163; S10_{purity} 组分的苦味肽的精确分子量为 626.4367。

将高效液相-飞行时间串联质谱(LC-TOF-Ms/Ms)对纯化的苦味肽 S9_{purity} 和 S10_{purity} 进行多肽结构的鉴定分析所采集的数据结果与鳕鱼肉蛋白质的质谱谱库进行对比, 表明 S9_{purity} 组分多肽的结构为 HWPWMK(His-Trp-Pro-Trp-Met-Lys), S10_{purity} 组分多肽的结构为 AVVLII(Ala-Val-Val-Leu-Ile-Ile)。

利用 Q 值的计算公式得到: 对于分离纯化得到的苦味肽 S9_{purity} 和 S10_{purity} 的 Q 值分别为 8.85KJ/mol 和 8.53 KJ/mol。对于苦味肽 S9_{purity} 和 S10_{purity} 的 Q 值均大于 5.86 KJ/mol, 经过感官评定结果具有苦味, 从两方面进一步证明了分离得到的多肽为鳕鱼肉酶解液中的苦味肽。

3 讨论

常用的脱盐方法主要是超滤脱盐, 但效率较低。利用大孔树脂脱盐具有样品量大, 效率高, 速度快的

优点,但对于亲水性的物质的损失较大。针对于鳕鱼肉酶解液是一种蛋白酶解液,在温度较高的条件下易变质,因此选用大孔树脂脱盐能够在保护样品的基础上对样品中的盐含量进行脱除。同时对于苦味肽主要是指疏水性的多肽,进行大孔树脂脱盐的同时还能起到初步分离的功效,大大提高了苦味肽纯化效率。

多肽的分离纯化一般采用的是凝胶层析、离子层析、亲和层析和反相高效液相一种或多种方法相结合的方法,将多种分离方法相结合对多肽进行分离纯化能够有效的分离得到纯度较高的多肽。本文利用阳离子交换层析与反相高效液相相结合的方法对鳕鱼肉酶解液中的苦味肽进行分离纯化,最终得到纯度较高的两组苦味肽。

对于苦味的强度的鉴定,应用最多的是感官评定,具有直观形象的特点,但单一的感官评定的方法具有主观性强,数据性差的特点。本文利用感官评定与Q值相结合的方法对苦味进行评定,将直观评定与客观数据相结合,对苦味进行了更加充分的评定,结果更加精确,具有更强的说服力。

4 结论

本研究运用酶解反应得到有苦味的酶解液,利用阳离子交换层析、反相高效液相色谱等技术对酶解液中苦味肽进行分离纯化,最后用液质联用技术对苦味肽的结构进行鉴定,确定鳕鱼肉酶解液中的两条苦味肽: HWPWMK(His-Trp-Pro-Trp-Met-Lys)和 AVVLI(Ala-Val-Val-Leu-Ile-Ile)。通过在分离纯化过程中的感官鉴定与苦味组分的Q值的测定,表明对于鳕鱼肉酶解液中感官评定得出的苦味强度较强的苦味组分的Q值都大于5.86 kJ/mol。

参考文献

- [1] 于琴芳,邓放明. 鳕鱼、小黄鱼、鳕鱼和海鳗肌肉中营养成分分析及评价[J]. 农产品加工(学刊),2012,9:11-14+18
YU Qin-fang, DENG Fang-ming. Analysis and evaluation of nutritional components in muscle of silver carp, small yellow croaker, gadus macrocephalus and muraenesox cinereus [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2012, 9: 11-14+18
- [2] 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
NIU Rui, YU Jian-Sheng. Antioxidant activity and purification of pollock peptides [J]. Journal of Food

- Science and Biotechnology, 2010, 29(4): 562-566
- [3] Liu X, Jiang D, Peterson DG. Identification of bitter peptides in whey protein hydrolysate [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(25): 5719-5725
- [4] Wieser H, Belitz HD. Bitter peptides isolated from corn protein zein by hydrolysis with pepsin (author's transl) [J]. Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung, 1975, 159(6): 329-336
- [5] Maeda Y, Okuda M, Hashizume K, et al. Analyses of peptides in sake mash: Forming a profile of bitter-tasting peptides [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2011, 112(3): 238-246
- [6] Karametsi K, Kokkinidou S, Ronningen I, et al. Identification of bitter peptides in aged cheddar cheese [J]. J. Agric. Food Chem., 2014, 62(32): 8034-8041
- [7] 夏光华,申铨日,酒志强,等.大孔树脂对罗非鱼皮胶原蛋白抗氧化肽脱盐作用的研究[J].现代食品科技,2013,29(5): 1052-1056
XIA Guang-hua, SHEN Xuan-ri, JIU Zhi-qiang, et al. Desalination of macroporous absorption resin on antioxidant peptides from tilapia skin collagen [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(5): 1052-1056
- [8] 赵元晖,李八方,马敬军,等.海地瓜蛋白水解物中ACE抑制肽的分离纯化及合成[J].高等学校化学学报,2012,33(2): 308-312
ZHAO Yuan-hui, LI Ba-fang, MA Jing-jun, et al. Purification and synthesis of ACE inhibitory peptide from acaudina molpadioidea protein hydrolysate [J]. Chem. J. Chinese Universities, 2012, 33(2): 308-312
- [9] 张贵锋,刘涛,王前,等.高效液相色谱/质谱法识别不同明胶酶解产物中特征多肽[J].分析化学,2015,36(3): 367-371
ZHANG Gui-feng, LIU Tao, WANG Qian, et al. Identification of specific peptides in digested gelatins by high performance liquid chromatography/mass spectrometry [J]. Chinese J. Anal Chem., 2008, 36(11): 1499-1504
- [10] 张婷,杨波,罗瑞明,等.苦菜发酵过程中氨基酸组成与含量变化对其营养与风味的影响[J].食品工业科技,2015,36(3): 367-371
ZHANG Ting, YANG Bo, ZHANG Wei-wei, et al. Effect of amino acid composition and content on the nutritional value and flavor of Dandelion during the fermentation process [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(3): 367-371