

# 鲈鱼 (*Lateolabrax japonicus*) 蛋白抗氧化肽的酶解制备及结构鉴定

赵翊君, 郑淋, 蔡勇建, 赵强忠

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 为了制备具有较强抗氧化活性的鲈鱼蛋白肽段, 采用风味蛋白酶、复合蛋白酶、Alcalase 2.4 L、中性蛋白酶及木瓜蛋白酶等 5 种商业蛋白酶在其最适宜作用条件下水解鲈鱼鱼肉蛋白, 比较分析了鲈鱼酶解产物的水解度 (DH)、蛋白回收率和抗氧化活性 (氧自由基吸收能力和 ABTS 自由基清除能力), 用超高压液相色谱串联质谱 (UPLC-MS/MS) 分离鉴定具有较好抗氧化活性酶解产物的肽段结构, 并进一步合成肽段验证其活性。结果发现: 鲈鱼蛋白的木瓜蛋白酶酶解产物不仅具有最高的 DH 和蛋白回收率, 分别为 25.61% 和 78.71%, 同时具有最强的抗氧化活性, 其 ORAC 值为 783.56  $\mu\text{mol TE/g}$ , TEAC 值为 734.55  $\mu\text{mol TE/g}$ 。采用 UPLC-MS/MS 分析鉴定木瓜蛋白酶酶解产物, 共得到 9 条肽段, 其中 3 条肽段具有显著抗氧化活性, 分别是 EYGTVVVFQ, HRDRLCVVQ 和 GGGAGMLLK, 且 EYGTVVVFQ 抗氧化活性最强, 其 ORAC 值和 TEAC 值分别为 1.43  $\mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$  和 2.34  $\mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$ 。本研究结果为深入研究开发鲈鱼抗氧化肽和海洋蛋白资源提供了更多理论基础。

**关键词:** 鲈鱼; 酶解; 抗氧化; 多肽; 质谱法

文章编号: 1673-9078(2018)06-168-173

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.6.023

## Enzymatic Preparation and Structural Identification of Antioxidant Peptides from Bass Protein

ZHAO Yi-jun, ZHENG Lin, CAI Yong-jian, ZHAO Qiang-zhong

(College of Food Science and Technology, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** In order to prepare the bass protein peptide with strong antioxidant activity, bass proteins were hydrolyzed by flavorzyme, protamex, alcalase 2.4 L, neutrase and papain under appropriate condition. The degree of hydrolysis (DH), protein recovery rate and antioxidant activity (oxygen radical absorbance capacity and 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) free radical scavenging capacity) of the hydrolysate of bass proteins were determined by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The peptide structure of the hydrolyzed product with good antioxidant activity was analyzed and identified, and the peptide was further synthesized to verify its activity. The results showed that the papain hydrolysate of bass protein not only exhibited the highest DH (25.61%) and protein recovery rate (78.71%) among five hydrolysates, but also revealed the most potent ORAC and TEAC values of 783.56 and 734.55  $\mu\text{mol TE/g}$ , respectively. UPLC-MS/MS analysis was applied for structural identification of papain hydrolysate. A total of 9 peptides were found by searching in the Uniprot, and 3 of them showed antioxidant activity, which were EYGTVVVFQ, HRDRLCVVQ and GGGAGMLLK. EYGTVVVFQ possessed the most potent ORAC and TEAC values of 1.43 and 2.34  $\mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$ , respectively. This study provided theoretical guidance for the development and utilization of bass antioxidant peptides as well as marine proteins.

**Key words:** bass; enzymatic hydrolysis; antioxidant; peptides; mass spectrometry

蛋白质经不同蛋白酶酶解后, 可以得到生物活性肽。近年来许多研究表明, 活性肽具有易吸收, 高活性, 低分子量等特点<sup>[1]</sup>, 可广泛应用于食品、化妆品

收稿日期: 2017-12-04

基金项目: 广东省省级科技计划项目 (2014B020204001)

作者简介: 赵翊君 (1993-), 男, 硕士, 研究方向: 食品生物技术

通讯作者: 赵强忠 (1976-), 男, 教授, 研究方向: 食品生物技术、乳品科学

和药品中。制备动物蛋白肽通常采用酶法水解, 酶法制备的产品因为生产条件温和, 水解条件容易控制, 水解产物的安全性也较高<sup>[2]</sup>。在酶法制备中, 常用的商业蛋白酶有中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶、Alcalase 2.4 L 和复合蛋白酶等。

广东淡水鱼资源丰富, 鲈鱼的产量尤其突出。鲈鱼 (*Lateolabrax japonicus*), 为真鲈科类动物。鲈鱼价格低廉, 营养丰富, 富含蛋白质, 脂肪含量低, 氨基

酸组成平衡合理, 开发潜力巨大<sup>[3]</sup>。目前对鲈鱼的研究主要集中在保鲜、繁殖和营养等方面<sup>[4-6]</sup>, 而对于酶解鲈鱼蛋白制备抗氧化肽的研究鲜见报道。因此, 利用现代食品生物技术-控制酶解技术对鲈鱼进行深度开发, 制备出具有抗氧化的富肽酶解物并开发系列保健食品, 可提高现有资源的利用率, 增加渔农的经济效益, 为鲈鱼的深度加工提供一条新的途径。

近年来, 研究人员发现相较于传统方法, 色谱-质谱联用法鉴定多肽的结构具有诸多优势。色谱-质谱联用法既发挥了现代色谱对复杂样品的高分离能力, 又应用了质谱具有的高选择性、高灵敏度以及能够准确提供化合物的分子量与结构信息的优点, 适合鉴定多肽的结构, 因此色谱-质谱联用法已经成为鉴定蛋白质和多肽的首选方法<sup>[7]</sup>。

本实验以鲈鱼肉蛋白为原料, 以体外抗氧化活性 (ABTS 和 ORAC)、水解度 (DH) 和蛋白回收率为指标, 筛选出最佳水解酶, 得到鲈鱼抗氧化肽, 并通过 UPLC-MS/MS 对鲈鱼抗氧化肽进行结构鉴定, 然后进一步合成肽段验证其抗氧化活性, 旨在探索鲈鱼深加工途径, 为鲈鱼抗氧化肽的应用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

活体鲈鱼于夏季购于广州南沙农贸市场。

风味蛋白酶 (500 LAPU/g)、复合蛋白酶 (1.5 AU/g)、中性蛋白酶 (1.5 AU/g)、及 Alcalase 2.4 L (2.4 AU/g), 丹麦 Novozymes 公司; 木瓜蛋白酶 (200000 u/g), 南宁庞博生物工程有限公司; 邻苯二甲醛 (OPA)、6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸 (Trolox)、偶氮二异丁脒盐酸盐 (AAPH)、荧光素钠、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS), 美国 Sigma 公司; 乙腈及甲醇等均为色谱纯级, 美国 Sigma 公司; 合成的肽购于南京杰肽生物科技有限公司, 包括 GGGAGMLLK、TDAETKTF、AGDSDGDGKIG、FIEEDELK、EYGTVVVFQ、ALTD AETKTF、HRDRLCVVQ、FIEEDELKLF 及 AVIDQDKSGFIEEDELK, 纯度均高于 95%。其他化学试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

UV-754N 紫外可见分光光度计, 上海佑科仪器仪表有限公司; 全波长扫描多功能读数仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 科技公司; ST 16R 高速冷冻离心机, 美国 Thermo Fisher Scientific 科技公司;

ACQUITY UPLC H-Class 超高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; Impact II 高分辨四级杆飞行时间质谱仪 (UHR-QqTOF Mass), 德国 Bruker 公司; 数显 pH 计, 上海精密科学仪器有限公司; Alpha 2-4 LDplus 真空冷冻干燥机, 德国 Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen 公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 鲈鱼的酶解

将新鲜鲈鱼经去头去尾去骨去皮得到鲈鱼肉, 然后通过绞肉机制成鱼糜, 取 20 g 鱼肉糜, 加入 40 mL 纯净水, 搅拌均匀, 分别加入不同蛋白酶, 加酶量为 0.5% (以鲈鱼糜计), 酶解温度为 50 °C, 在各酶的最适水解 pH 值下 (木瓜蛋白酶: pH 7.0, 复合蛋白酶: pH 7.0, 中性蛋白酶: pH 7.0, 风味蛋白酶: pH 7.0, Alcalase 2.4 L: pH 8.0) 进行酶解, 酶解时间 6 h, 酶解液经沸水浴灭酶 15 min, 4 °C, 8000 g 下离心 10 min, 取上清液, 冷冻干燥, 即为鲈鱼蛋白酶解产物。

#### 1.3.2 水解度 (DH) 的测定

水解度 (degree of hydrolysis, 简称 DH) 是指已断裂肽键所占百分比, 使用邻苯二甲醛 (OPA)<sup>[8]</sup> 方法定量分析。3 mL OPA 试剂与 400 μL 样品混匀作为样品组, 水作对照组, 0.97 mM 丝氨酸作标准组, 反应 2 min, 测定其在 340 nm 处的吸光度值。

$$DH(\%) = \frac{\text{水解的肽键数}}{\text{总肽键数}} \times 100\%$$

#### 1.3.3 蛋白回收率的测定

总氮的测定采用凯氏定氮法<sup>[9]</sup>。分别测定原料蛋白质含量和酶解液的蛋白质含量, 按以下公式计算蛋白质回收率:

$$\text{蛋白回收率}(\%) = \frac{\text{水解液中蛋白含量}}{\text{原料中蛋白含量}} \times 100\%$$

#### 1.3.4 抗氧化活性的测定

##### 1.3.4.1 ORAC 法(Oxygen radical absorbance capacity)

ORAC 的测定参照文献<sup>[10]</sup>的方法。该反应在 75 mM 磷酸钠缓冲液 (pH 7.4) 体系中进行。取 20 μL 0.1 mg/mL 样品加入 96 孔荧光板为空中, 再加入 120 μL 70 mM 荧光素溶液 (最终浓度)。将混合物 37 °C 预培养 15 min 后, 迅速用多道移液器加入 60 μL 12 mM AAPH 溶液。读数前摇晃 30 s, 每 1 min 记录一次荧光值, 记录 100 min。激发波长和发射波长分别为 485 nm 和 520 nm。空白组使用磷酸缓冲液代替抗氧化剂溶液。每个样品平行测定三次。荧光下的面积衰变曲线 (AUC) 计算为:

$$AUC = 1 + \sum_{i=1}^{i=100} \frac{f_i}{f_0}$$

注:  $f_0$  为初始荧光读数时间 0 分,  $f_i$  是荧光读数的时间  $i$  分。

对应一个样品的净 AUC 计算如下:

$$\text{net AUC} = \text{AUC}_{\text{样品}} - \text{AUC}_{\text{空白}}$$

计算出 net AUC 和 Trolox 浓度之间的线性回归方程。样品最终的 ORAC 值表示为  $\mu\text{mol}$  的 TE (Trolox 当量) /g 的抗氧化剂。

### 1.3.4.2 ABTS 自由基清除能力法 (Trolox equivalent antioxidant capacity)

ABTS 自由基清除能力的测定参照文献<sup>[11]</sup>的方法。ABTS 自由基清除能力法又称 TEAC 法。7 mM ABTS 溶液与 2.45 mM 过硫酸钾等体积混合, 在室温下放置 12~16 h 从而产生  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 。ABTS $^{\cdot+}$  溶液采用 50 mM pH=7.4 PBS 稀释至空白组  $A_{734\text{nm}}=0.70\pm 0.02$ 。在 96 微孔板中按下列方式加样后在 30 °C 下反应 30 min, 每 6 min 测定一次  $A_{734}$ 。每个样品平行测定三次。

空白组: 50  $\mu\text{L}$  PBS+150  $\mu\text{L}$  ABTS $^{\cdot+}$  溶液; 样品组: 50  $\mu\text{L}$  0.1 mg/mL 样品+150  $\mu\text{L}$  ABTS $^{\cdot+}$  溶液。

$$\text{ABTS清除率}(\%) = \left( \frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) \times 100\%$$

其中,  $A_0$  为空白组的吸光度值,  $A_s$  为样品组的吸光度值。

以不同浓度 (20~180  $\mu\text{M}$ ) 的 Trolox 与 ABTS 清除率做标准曲线, 样品的 ABTS 清除率代入标准曲线方程, 求得的相当于 Trolox 浓度的值就是 TEAC 值。

### 1.3.5 UPLC-MS/MS 鉴定肽结构<sup>[12]</sup>

将酶解产物溶于超纯水中, 浓度为 0.1 mg/mL, 进样到在线连接 RP-UPLC T3 柱 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ) 的电喷雾质谱仪。进样量 5  $\mu\text{L}$ , 流动相 A 为水-甲酸 (1000:1, V/V), 流动相 B 为乙腈, 所采用的梯度洗脱流程如下: 0~1 min, 0% B; 1~9 min, 0%~30.0% B (线性梯度); 9~10 min, 30.0% B (等量洗脱); 10~13 min, 30.0%~0% B (线性梯度); 13~15 min, 0% B; 流速: 0.50 mL/min; 检测波长: 220 nm。样品以 100  $\mu\text{L}/\text{min}$  的流速进入质谱仪, 采用正离子扫描模式, 雾化气和干燥气为高纯氮气, 扫描范围为质/核比 100~2000 u。

### 1.3.6 数据分析

所有的测定均重复三次, 结果以平均值 $\pm$ 标准偏差表示。数据采用 IBM SPSS Statistics 20.0 (SPSS Inc., Chicago IL, USA) 进行单因素方差分析, 并以 Duncans 多重比较法进行显著性差异的分析 ( $p < 0.05$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 鲈鱼蛋白酶解产物的酶解制备

#### 2.1.1 不同蛋白酶酶解鲈鱼的酶解产物的水解度 (DH)

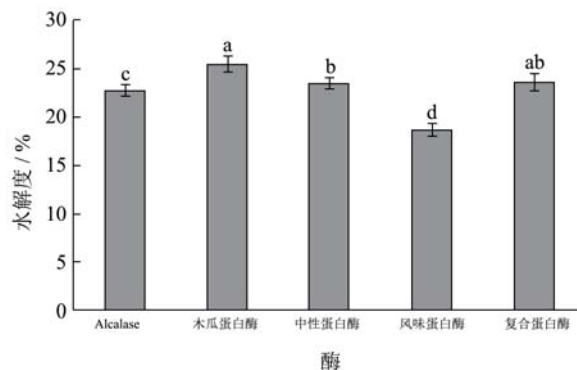


图1 不同蛋白酶酶解鲈鱼的酶解产物的水解度

Fig.1 DH values of different enzymatic hydrolysates of bass

注: 图中的不同字母表示在  $p < 0.05$  水平上差异显著, 下同。

5 种蛋白酶酶解鲈鱼得到的酶解产物水解度如图 1 所示, 木瓜蛋白酶的水解度最高, 为 25.61%, 但与复合蛋白酶 (23.63%) 无显著性差异, 明显高于 Alcalase 2.4 L 和风味蛋白酶 (分别为 22.85% 和 18.70%)。木瓜蛋白酶与复合蛋白酶水解度高有可能是由于这两种酶的酶切位点比较广, 可以更好地水解鲈鱼蛋白, 水解过程当中产生了更多小分子肽以及游离氨基酸<sup>[13]</sup>。

#### 2.1.2 不同蛋白酶酶解鲈鱼的酶解产物的蛋白回收率

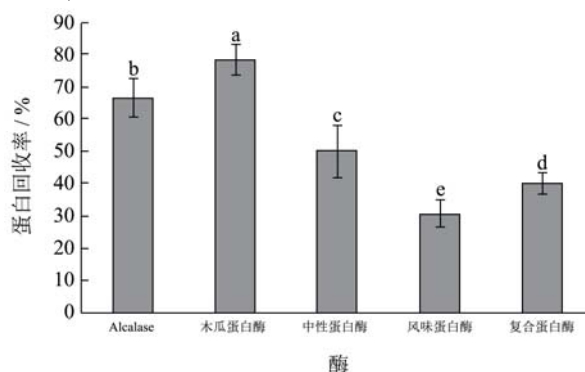


图2 不同蛋白酶酶解鲈鱼的酶解产物的蛋白回收率

Fig.2 Protein recovery rates of different enzymatic hydrolysates of bass

从图 2 可以看出, 不同蛋白酶酶解得到的酶解产物蛋白回收率有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。其中酶解产物蛋白回收率从高到低依次所用的酶是木瓜蛋白酶>Alcalase 2.4 L>中性蛋白酶>复合蛋白酶>风味蛋白酶。由于酶自身的特异性, 使之与蛋白底物的作用位点存在较大区别, 因而各自水解得到的多肽数量有

较大差别<sup>[14]</sup>。

### 2.1.3 不同蛋白酶酶解鲈鱼的酶解产物的抗氧化活性

#### 2.1.3.1 不同蛋白酶酶解鲈鱼的酶解产物的 ORAC 值

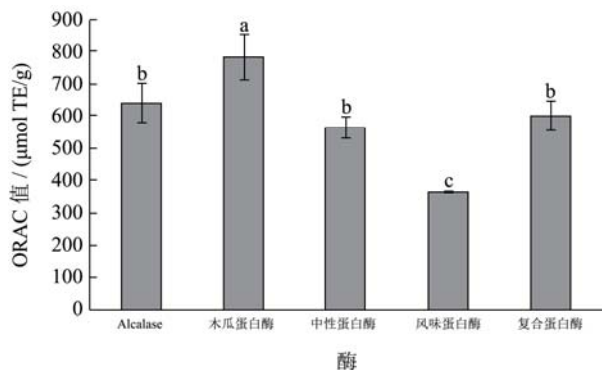


图3 不同蛋白酶酶解鲈鱼的酶解产物的 ORAC 值

Fig.3 ORAC values of different enzymatic hydrolysates of bass

从图3可知,不同蛋白酶对酶解产物的ORAC值有显著性差异( $p < 0.05$ ),五种蛋白酶酶解得到的酶解产物均有一定的ORAC值,说明蛋白酶可有效水解鲈鱼中的蛋白,释放多肽,使之展现良好的抗氧化活性。其中,木瓜蛋白酶的ORAC值最高,为783.56 μmol TE/g,明显高于风味蛋白酶、复合蛋白酶、中性蛋白酶及Alcalase 2.4 L。

#### 2.1.3.2 不同蛋白酶酶解鲈鱼的酶解产物的 TEAC 值

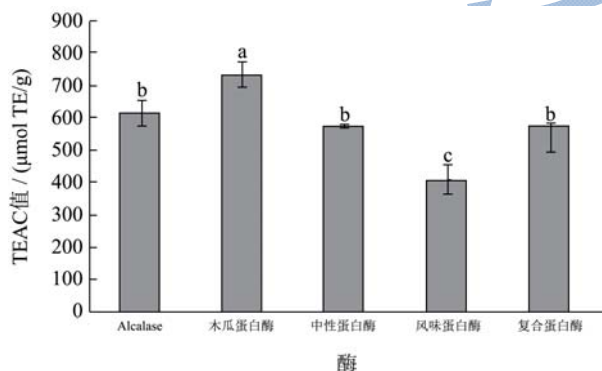


图4 不同蛋白酶酶解鲈鱼的酶解产物的 TEAC 值

Fig.4 TEAC values of different enzymatic hydrolysates of bass

从图4可知,5种蛋白酶酶解鲈鱼得到的鲈鱼多肽均具有一定的TEAC值,木瓜蛋白酶的TEAC值最高,为734.55 μmol TE/g,明显高于风味蛋白酶、复合蛋白酶、中性蛋白酶及Alcalase 2.4 L。

木瓜蛋白酶酶解鲈鱼得到的鲈鱼多肽的抗氧化活性最高,这个可能是由于木瓜蛋白酶酶解鲈鱼产生了更多含有抗氧化氨基酸的肽段,此外,木瓜蛋白酶的DH也为最高,表明抗氧化活性和DH有关,因为鲈鱼鱼肉蛋白本身的结构使得其只有很小的抗氧化性,而酶水解后打断了这种紧密地结构,使得具有抗氧化性的活性氨基酸残基以及肽链暴露在外边,大大增强

了其抗氧化能力。

不同蛋白酶均能有效水解鲈鱼,所得酶解产物的抗氧化活性不同,这可能是由于不同的蛋白酶酶切位点有差异,酶解得到的多肽分子量和序列不同,所以活性也会不一样<sup>[18]</sup>。其中木瓜蛋白酶所得酶解产物抗氧化活性最优。因而,本文进一步采用UPLC-MS/MS分析鉴定木瓜蛋白酶酶解产物的结构,并验证所得肽段的抗氧化活性。

### 2.2 鲈鱼抗氧化肽的结构鉴定

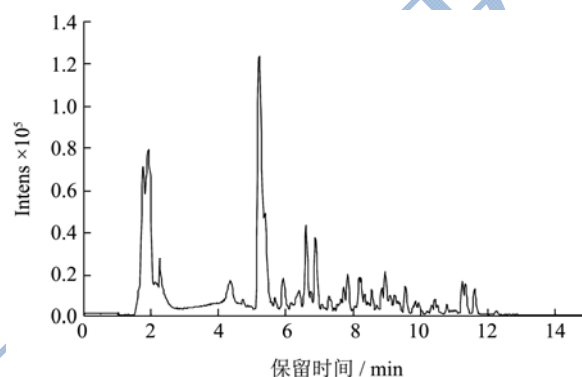


图5 木瓜蛋白酶酶解产物的BPC谱图

Fig.5 Base peak chromatogram (BPC) of papain enzymatic hydrolysates

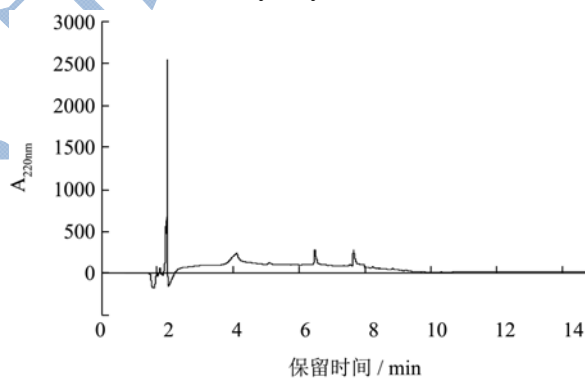


图6 木瓜蛋白酶酶解产物的UV谱图

Fig.6 UV chromatogram at 220 nm of papain enzymatic hydrolysates

将木瓜蛋白酶酶解得到的鲈鱼酶解产物通过UPLC-MS/MS进行结构鉴定。图5和图6呈现了木瓜蛋白酶酶解产物的BPC (base peak chromatogram)谱图及在220 nm处的UV谱图。UV谱图中2 min处有一个主峰,经后续质谱鉴定这个峰是Tyr。由于Tyr含有苯环,在紫外区有很强的吸收,从而会对其他在紫外区响应较弱的物质造成掩蔽效应。游离的Tyr也具有一定的抗氧化活性,可能对木瓜蛋白酶酶解产物的抗氧化活性有贡献。

搜索MASCOT数据库,得到的鲈鱼酶解肽序列如表1所示。搜库一共得到9条肽段,最短为8肽,

最长为 17 肽，其中 6 条肽段来源于小清蛋白，2 条肽段来源于肌球蛋白轻链，1 条肽段来源于  $\alpha$ -肌动蛋白。

表 1 搜库得到的鲈鱼酶解肽序列

Table 1 The sequence of peptides contained in the bass protein hydrolysates

观测质量	理论质量	质量差	序列	来源
802.39	802.44	-0.04	GGGAGMLLK	$\alpha$ -肌动蛋白
911.43	911.42	0.01	TDAETKTF	小清蛋白
990.43	990.43	0.00	AGDSDGDGKIG	小清蛋白
1021.50	1021.50	0.00	FIEEDELK	小清蛋白
1040.51	1040.52	-0.01	EYGTVVVFQ	肌球蛋白轻链
1095.55	1095.54	0.01	ALTDAETKTF	小清蛋白
1124.58	1124.59	-0.01	HRDRLCVVQ	肌球蛋白轻链
1281.65	1281.65	0.00	FIEEDELKLF	小清蛋白
1934.95	1934.95	0.00	AVIDQDKSGFIEEDELK	小清蛋白

### 2.3 鲈鱼酶解肽的抗氧化活性验证

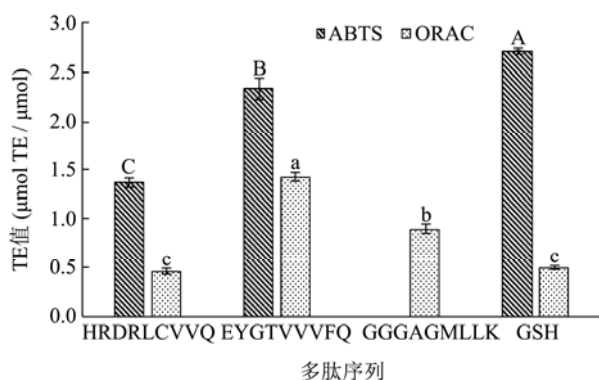


图 7 搜库得到的多肽序列的抗氧化活性

Fig.7 Antioxidant activity of the synthetic peptides

搜库得到的 9 条肽段中，有 6 条肽段没有抗氧化活性，只有 3 条肽段展现出显著的抗氧化活性，分别为 EYGTVVVFQ，HRDRLCVVQ 和 GGGAGMLLK，其抗氧化活性如图 7 所示。对比这 3 条肽段和谷胱甘肽（GSH）的抗氧化活性，发现：GSH 的 TEAC 值最高，为 2.72  $\mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$ ，EYGTVVVFQ 次之，为 2.34  $\mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$ ，HRDRLCVVQ 再次之，为 1.38  $\mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$ ，GGGAGMLLK 没有 ABTS 自由基清除能力；3 条肽段的 ORAC 值都高于 GSH。对比 Trolox 可以看出，3 条肽段的 TEAC 值都强于 Trolox ( $>1.0 \mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$ )；对于 ORAC 值，EYGTVVVFQ 高于 Trolox ( $>1.0 \mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$ )，HRDRLCVVQ 和 GGGAGMLLK 比 Trolox 低。

EYGTVVVFQ 中 Tyr 因含酚羟基可作为氢供体，可抑制由自由基引发的过氧化链反应。HRDRLCVVQ 中 Cys 具有一个巯基 (-SH)，该基团上的氢原子非常活泼，可以直接清除自由基。GGGAGMLLK 中 Met 上的 S 原子可以提供电子从而被氧化成 Met 亚砷，此

外，它们由于具有共振结构而能维持抗氧化的稳定性。这些特点可能是这 3 条肽段具有抗氧化活性的原因 [15-18]。

### 3 结论

通过水解度、蛋白回收率和抗氧化活性的测定，确定制备鲈鱼酶解产物的最佳水解酶为木瓜蛋白酶。将木瓜蛋白酶水解得到的鲈鱼酶解产物通过 UPLC-MS/MS 进行结构鉴定，然后通过 UniProt 中的鲈鱼蛋白库进行搜库，得到 9 条多肽，体外合成这 9 条多肽并测定它们的抗氧化活性，其中 EYGTVVVFQ，HRDRLCVVQ 和 GGGAGMLLK 显示出一定的抗氧化活性。本实验中获得的鲈鱼酶解肽研究结果为其应用研究提供一定的科学理论依据。例如根据鲈鱼酶解肽的抗氧化性，可以将其作为天然的防止食品腐败变质的添加剂应用到食品中，以取代化学合成的防腐剂；也可将其作为抗衰老成分添加到化妆品中发挥养颜和延缓衰老的作用。

### 参考文献

[1] Siemensma A D, Weijer W J, Bak H J. The importance of peptide lengths in hypoallergenic infant formulae [J]. Trends in Food Science and Technology, 1993, 4(1): 16-21

[2] 朱凤仙,戴志远,张燕平等.酶解制备水产动物活性肽研究进展[J].食品研究与开发,2008, 29(11):159-162  
ZHU Feng-xian, DAI Zhi-yuan, ZHANG Yan-ping, et al. Research progress of bioactive peptides prepared by enzyme hydrolysis from aquatic animal proteins [J]. Food Research and Development, 2008, 29(11): 159-162

[3] 江锴.鲈鱼蛋白酶解工艺优化及活性肽的功能特性研究[D].武汉:华中农业大学,2013  
JIANG Kun. Study on the functional characteristics of bass

- protein hydrolysate and bioactive peptides [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013
- [4] 王慧敏,王庆丽,朱军莉,等. 鲈鱼在微冻贮藏下品质及优势腐败菌的变化[J]. 食品工业科技,2013,34(20): 330-335  
WANG Hui-min, WANG Qing-li, ZHU Jun-li, et al. Quality and dominated spoilage organisms changes of lateolabrax japonicus during partially frozen storage [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(20): 330-335
- [5] 赵一杰,张美昭,温海深,等. 松江鲈鱼人工繁殖关键技术[J]. 现代农业科技,2012,20:298-299  
ZHAO Yi-jie, ZHANG Mei-zhao, WEN Hai-shen, et al. Key technology of artificial reproduction of Songjiang bass [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2012, 20: 298-299
- [6] 吴燕燕,李冰,朱小静,等. 养殖海水和淡水鲈鱼的营养组成比较分析[J]. 食品工业科技,2016,37(20):348-352  
WU Yan-yan, LI Bing, ZHU Xiao-jing, et al. Comparison of nutrient composition of cultured sea bass and cultured fresh-water bass, *Lateolabrax japonicus* and *Micropterus salmoides* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(20): 348-352
- [7] Karen Fox, Alvin Fox, John Rose, et al. Speciation of coagulase negative staphylococci, isolated from indoor air, using SDS page gel bands of expressed proteins followed by MALDI TOF MS and MALDI TOF-TOF MS-MS analysis of tryptic peptides [J]. Journal of Microbiological Methods, 2011, 84(2): 243-250
- [8] Nielsen P M, Petersen D, Dambmann C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis [J]. Journal of Food Science, 2001, 66(5): 642-646
- [9] 王永华. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,2010  
WANG Yong-hua. Food Analysis [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2010
- [10] Davalos A, Gomez-Cordoves C, Bartolome B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 48-54
- [11] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26(9): 1231-1237
- [12] Richard M Caprioli, Terry B armer, Jocelyn Gile. Molecular imaging of biological samples: localization of peptides and proteins using MALDI-TOF-MS [J]. Analytical Chemistry, 1997, 69(23): 4751-4760
- [13] Lijun You, Mouming Zhao, Chun Cui, et al. Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2009, 10(2): 235-240
- [14] 胡庆玲,丛懿洁,崔春,等. 面包酵母酶解液中水不溶性沉淀的形成机理[J]. 食品与发酵工艺,2012,38(3):58-61  
HU Qing-ling, CONG Yi-jie, CUI Chun, et al. The research on the formation mechanism of water insoluble precipitate in baker's yeast hydrolyzate [J]. Food and Fermentation Industries, 2012, 38(3): 58-61
- [15] Chamila Nimalaratne, Nandika Bandara, Jianping Wu. Purification and characterization of antioxidant peptides from enzymatically hydrolyzed chicken egg white [J]. Food Chemistry, 2015, 188: 467-472
- [16] Shengwen Shen, Baljot Chahal, Kaustav Majumder, et al. Identification of Novel Antioxidative Peptides Derived from a Thermolytic Hydrolysate of Ovotransferrin by LC-MS/MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(13): 7664-7672
- [17] Rajapakse N, Mendis E, Jung W K, et al. Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its anti-oxidant properties [J]. Food Research International, 2005, 38(2): 175-182
- [18] 游丽君. 泥鳅蛋白抗氧化肽的分离纯化及抗疲劳、抗癌功效研究[D]. 广州:华南理工大学,2010  
YOU Li-jun. Study on the purification of antioxidant peptide from loach protein and its antifatigue and anticancer activities [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010