

响应面法优化核桃降压肽的酶解工艺研究

卢 娣¹, 吴庆智², 毛晓英^{1,*}, 陈国刚¹, 邵 理¹

(1. 石河子大学食品学院, 新疆石河子 832000;

2. 石河子开发区神内食品有限公司, 新疆石河子 832000)

摘 要:本研究以低温脱脂核桃粕为原料, 采用碱溶酸沉提蛋白后, 分别用碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶和风味蛋白酶制备核桃多肽, 以血管紧张素转化酶(Angiotensin-I-Converting Enzyme, ACE)抑制率和水解度为指标, 选出酶解效果最好的酶, 并且对其底物质量浓度、加酶量、酶解温度、酶解时间和 pH 进行单因素实验, 在此基础上采用响应面实验优化其制备核桃降压肽的最佳水解工艺。结果表明: 在底物质量浓度 30g/L、加酶量 8000U/g、酶解温度 57℃和 pH8.6 的条件下水解 3h, ACE 抑制率可达 64.32%, 此时酶解液的水解度为 21.57%。

关键词:核桃粕, 碱性蛋白酶, ACE 抑制肽, 酶解, 响应面分析

Optimization of enzymatic hydrolysis of ACE in inhibition peptides from walnut protein by response surface method

LU Di¹, WU Qing-zhi², MAO Xiao-ying^{1,*}, CHEN Guo-gang¹, SHAO Li¹

(1. Food College, Shihezi University, Shihezi 832000, China;

2. Shennei Food Limited Company, Shihezi Development Zoon, Shihezi 832000, China)

Abstract: In this paper, walnut protein, extracted from defatted walnut meal and then was separated by alkaline extraction - isoelectric precipitation technique, was hydrolyzed by four protease (alkaline protease, neutral protease, papain and flavor protease) for production of antihypertensive peptides. As an index, ACE inhibitory rate and the degree of hydrolysis were determined to select the proper enzyme with best enzymatic effect. Then single factor experiments were carried out to research the effects of the factors such as substrate concentration (g/L), enzyme dosage (U/g), hydrolysis time (h), hydrolysis temperature (°C) and pH. The response surface methodology was used to optimize conditions of the enzymatic hydrolysis. The results showed that the optimum conditions were substrate concentration 30g/L, enzyme dosage 8000U/g, temperature 57°C, pH8.6 and time of enzymatic hydrolysis 3h. The ACE inhibition rate could reach 64.32% and the degree of hydrolysis was 21.57%.

Key words: walnut meal; alkaline protease; ACE inhibition peptide; enzymatic hydrolysis; response surface methodology

中图分类号: TS229

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2015)11-0233-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.11.039

高血压是一种常见的心脑血管疾病, 会引起心血管、大脑、肾脏的病变^[1]。降压肽是一种 ACE 抑制剂, 通常用于高血压患者的治疗^[2]。目前, 对高血压患者的治疗通常使用化学合成的药物, 然而, 这些合成药物有一些副作用, 包括咳嗽和皮疹^[3]。食源性降压肽来源于天然植物, 无副作用, 易被人体吸收^[4]。不同的植物来源, 降压功效作用也是不同的。

目前, 研究者已经从不同的食物中利用发酵、酶解等方法提取了不同序列的降压肽, 如: 玉米、大豆、

花生、米糠、杏仁等, 在一定程度上起到了降血压的作用^[5-7]。但是对以核桃粕为原料提取降压肽的研究较少。实验以核桃粕为原料, 制备降压肽, 在一定程度上拓展了食源性降压肽原料的来源, 其降压活性也很显著。核桃粕是核桃经过提取油后的副产物, 含有 29.65% 蛋白质, 提油后的核桃粕多数被用作饲料, 资源造成了一定的浪费, 酶解核桃粕蛋白制备降压肽可以促进核桃粕的深加工, 实现资源的综合利用。研究采用酶法水解蛋白质, 其条件温和, 对多

收稿日期: 2014-10-08

作者简介: 卢娣(1990-), 女, 在读硕士, 研究方向: 果蔬加工及贮藏。

* 通讯作者: 毛晓英(1976-), 女, 博士, 研究方向: 农产品加工与贮藏。

基金项目: 石河子大学优秀青年项目(2013ZRKXYQ14)。

肽活性的影响较小,过程容易控制^[8-9]。本实验以脱脂核桃粕为原料,以水解度和 ACE 抑制率为指标,首先通过比较四种商业化蛋白酶对核桃蛋白的酶解效果确定最佳用酶,然后用响应面法对其工艺进行优化。本研究为核桃粕的综合利用和核桃的深加工提供了一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

核桃粕 康福寿核桃油加工有限公司;2709 碱性蛋白酶(Alcalase)和中性蛋白酶 均购于北京博奥拓达科技有限公司;木瓜蛋白酶和风味蛋白酶 均购于 sigma 公司;FAPGG(呋喃丙烯酸酯三肽) 购于 sigma 公司;ACE(血管紧张素转换酶) 购于 sigma 公司;正己烷、盐酸、浓硫酸、氢氧化钠等均为分析纯。实验用水均为去离子水。

快速恒温数显水浴锅 金坛市医疗仪器厂;PHS-3 C 雷磁 pH 计 上海精科仪器;BS 2000 S 电子天平 北京赛多利斯科学仪器有限公司;FDU-1200 冷冻干燥机 北京四环科学仪器厂;ELx 808 酶标仪 Thermo 公司;SH 21-1 磁力搅拌器 上海梅颖浦仪表制造有限公司;DNP-9272 电热恒温培养箱 上海精宏实验设备有限公司。

1.2 技术路线

低温脱脂核桃粕→过 60 目筛→脱脂→提取核桃蛋白→酶解用酶的优化→碱性蛋白酶酶解条件的优化→核桃 ACE 抑制肽酶解液

1.3 核桃脱脂粉的制备

核桃粕经粉碎后过 60 目筛,用正己烷以 1:5 (g/mL)的料液比在磁力搅拌器上提取 1h 后进行抽滤,取滤渣重复用正己烷提取至滤液无色透明时收集滤渣,然后用恒温干燥箱烘干溶剂,置于冰箱 4℃ 冷藏备用。

1.4 核桃蛋白的提取

采用碱溶酸沉法提取核桃蛋白。参照毛晓英^[10]的方法,略改。以核桃脱脂粉为原料,通过 95% 醇洗(1:10, g/mL),过滤,把滤饼置恒温干燥箱烘干溶剂。然后用去离子水配制蛋白质溶液(1:26, w/v),用 2.0mol/L 氢氧化钠溶液调节蛋白液的 pH 到 11.0,置磁力搅拌器上 53℃ 搅拌 1.5h 后 7000r/min 25℃ 离心 15min,取上清液,用 2.0mol/L 盐酸溶液调节 pH 至 4.5,搅拌 1h,7000r/min 25℃ 离心 15min,水洗沉淀,调节 pH 至中性后用冷冻干燥机冻干,置于冰箱 4℃ 冷藏备用。

1.5 酶解工艺

称取一定量核桃蛋白,加去离子水配制成一定浓度的水解底物于水浴锅中 90℃ 10min 处理后,调至最适的 pH,加入一定量蛋白酶,调至最适温度于水浴锅中水解一段时间后于 90℃ 10min 灭酶终止反应,8000r/min 离心 15min 取上清液,测定 ACE 抑制率和水解度。

1.6 蛋白酶的筛选

分别将碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶和风味蛋白酶 8000U/g 加入浓度 20g/L 的蛋白质溶液中,按照 1.5 酶解工艺于每种酶最适的 pH 和温度下

水解 4h,测定 ACE 抑制率和水解度。

表 1 四种商业酶最适作用条件和酶活力
Table 1 The optimum hydrolysis conditions and the enzymatic activity of four commercial enzymes

酶种类	最适 pH	最适温度 (℃)	酶活力 (U/g)
碱性蛋白酶	8.5	50	7.1×10^4
中性蛋白酶	7.0	40	6.3×10^5
风味蛋白酶	6.5	50	2.0×10^4
木瓜蛋白酶	6.8	55	8.2×10^5

1.7 核桃降压肽制备的单因素实验和响应面实验设计

以核桃降压肽的 ACE 抑制率和水解度为指标分别考察温度(℃)、底物质量浓度(g/L)、加酶量(U/g)、酶解时间(h)和 pH 五个因素对核桃降压肽制备的影响,进行单因素实验。

在单因素研究的基础上,选取最优的温度(℃)、底物质量浓度(g/L)、加酶量(U/g)和 pH 四个因素为响应变量,以 ACE 抑制率为响应值,设计响应面分析实验。因素水平及编码表见表 2。

表 2 因素水平及编码表

Table 2 The table of factors and level

水平	因素			
	A pH	B 酶解温度 (℃)	C 底物质量浓度 (g/L)	D 加酶量 (U/g)
-1	8.0	50	20	6000
0	8.5	55	30	7000
1	9.0	60	40	8000

1.8 检测指标

1.8.1 水解度的测定 采用 pH-Stat 法^[11]。

1.8.2 ACE 抑制率的测定 在 96 孔酶标板上按表 3 设计添加反应物开始反应,在 340nm 波长条件下,用酶标仪测吸光值 A_1 。使其在 37℃ 的恒温培养条件下反应 30min,测量吸光度 A_2 ,作 3 组平行实验^[12]。

ACE 抑制率的计算公式如下:

$$\text{ACE 抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{\Delta A_a}{\Delta A_b}\right) \times 100$$

$$\Delta A = A_1 - A_2$$

式中: ΔA_b 为加入缓冲基质时吸光度在 30min 内的变化; ΔA_a 为加入抑制剂时吸光度在 30min 内的变化。

表 3 ACE 抑制活性的测定

Table 3 The determination of ACE inhibition activity

添加物	样品孔(μL)	空白孔(μL)
ACE(0.1U/mL)	10	10
FAPGG(1mmol/L)	50	50
ACE 抑制剂	40	0
超纯水	0	40

注:1.FAPGG(1.0mmol/L):取 3.994mg FAPGG 加基质缓冲液 2,定容至 10mL,溶解混合,置 4℃ 避光放置;2.基质缓冲液 1: pH8.3、100mmol/L 的硼酸缓冲液;3.基质缓冲液 2: pH8.3、100mmol/L 的硼酸缓冲液(含 300mmol/L NaCl)。

2 结果与讨论

2.1 水解蛋白酶的筛选

将上述的四种蛋白酶在各自的最适酶解条件下对核桃蛋白进行酶解,以 ACE 抑制率和水解度为指标,选出制备核桃降压肽的最适用酶,结果见图 1。

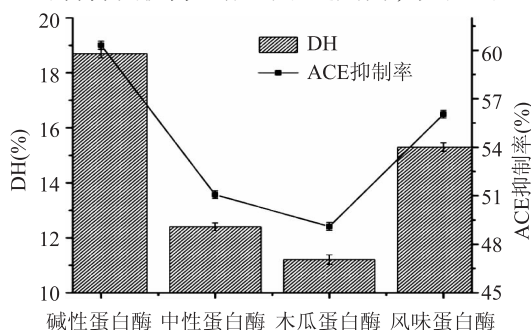


图1 四种酶解液的 ACE 抑制率及其水解度的比较

Fig.1 Comparison the four kind of enzyme solution on ACE inhibition rate and hydrolysis degree

由图 1 可以得到,不同蛋白酶对核桃蛋白的水解能力存在明显差异,这与蛋白酶的底物特异性有关^[13]。其中水解液的 ACE 抑制率和水解度相对较高的是碱性蛋白酶。ACE 抑制肽构效关系研究表明,强 ACE 抑制活性肽的 C-端氨基酸倾向于疏水性氨基酸。碱性蛋白酶的酶切位点在疏水氨基酸的 C-端,当 C-端为疏水性氨基酸时,小肽具有较强的 ACE 活性^[14]。研究报道表明,核桃脱脂粉和核桃蛋白分离组分的氨基酸组成中,以谷氨酸、精氨酸、天冬氨酸含量较高,且主要以酸性氨基酸和疏水性氨基酸为主^[10]。风味蛋白酶的作用范围较广,但是其对核桃蛋白的水解力相对较弱,中性蛋白酶主要作用于芳香族氨基酸的羧基参与形成的肽键,木瓜蛋白酶属巯基蛋白酶,具有较宽的底物特异性。研究结果表明,碱性蛋白酶对核桃蛋白的水解能力明显高于风味蛋白酶、中性蛋白酶和木瓜蛋白酶,说明核桃蛋白的结构中存在较多的碱性蛋白酶的作用位点,从而更有利于 ACE 抑制肽的释放。此外,这与宋亮等人^[5]以玉米为原料和孔令明等人^[7]以杏仁为原料酶法制备 ACE 抑制肽报道的结果比较相似。综合考虑选择碱性蛋白酶为最适酶。

2.2 碱性蛋白酶的酶解工艺

2.2.1 单因素实验

2.2.1.1 pH 对水解度和酶解液 ACE 抑制率的影响

由图 2 可以看出,pH 对碱性蛋白酶水解核桃蛋白有显著影响。在 pH 为 8.5 时酶解液 ACE 抑制率和水解度达到最大值,随着 pH 的继续增大,ACE 抑制率和水解度都相对有所减小。这说明较高 pH 可能导致碱性蛋白酶的失活,不利于水解。选择最佳酶解 pH 为 8.5。

2.2.1.2 底物质量浓度对水解度和酶解液 ACE 抑制率的影响

由图 3 可知,随着底物质量浓度的增大,ACE 抑制率和水解度先增大后减小,由于酶解初期随着底物质量浓度增大多肽含量增加,故 ACE 抑制率和水解度增大,在底物质量浓度为 30g/L 时达到

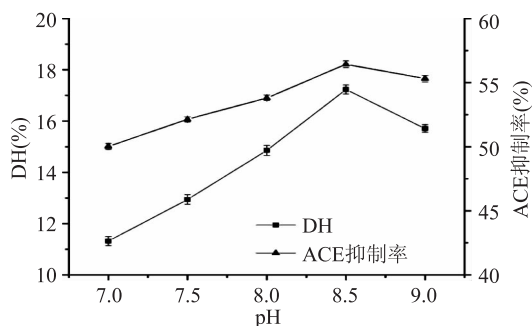


图2 pH 对酶解液 ACE 抑制率和水解度影响

Fig.2 The influence of enzyme solution ACE inhibition rate and hydrolysis degree by pH

最大值,继续增大底物质量浓度,ACE 抑制率和水解度都相对有所减小,原因可能是随着底物质量浓度的增大,酶解液的有效水分含量过低,减少了在反应过程中底物和蛋白酶间碰撞的机会,对水解产生抑制的作用^[15]。选择最适底物质量浓度为 30g/L。

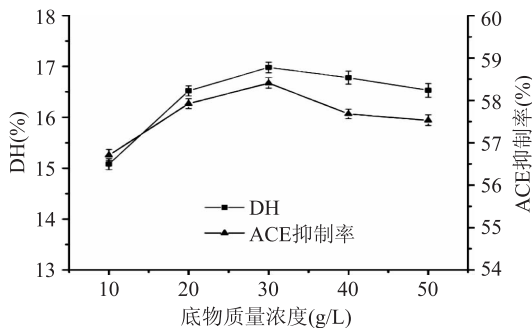


图3 底物质量浓度对酶解液 ACE 抑制率和水解度影响

Fig.3 The influence of enzyme solution ACE inhibition rate and hydrolysis degree by substrate concentration

2.2.1.3 酶解温度对水解度和酶解液 ACE 抑制率的影响

由图 4 可知,随着温度的增加,酶解液的 ACE 抑制率和水解度均呈现增大的趋势,当酶解温度为 55℃ 时达到最大值,持续升高温度反而会减小,这可能是因为是在一定的范围内随着温度的增加,有利于酶解反应的进行。当温度过高时,导致酶蛋白变性,使酶活减弱。选择最适温度为 55℃。

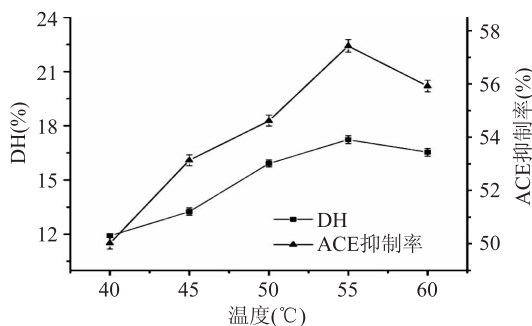


图4 酶解温度对酶解液 ACE 抑制率和水解度影响

Fig.4 The influence of enzyme solution ACE inhibition rate and hydrolysis degree by temperature

2.2.1.4 加酶量对水解度和酶解液 ACE 抑制率的影响

由图 5 可知,随着加酶量的增大,酶解液的 ACE 抑制率和水解度增大,在加酶量为 7000U/g 时 ACE

抑制率达到最大值,原因可能是随着酶浓度的增加,有利于酶与底物的结合,对酶解有促进的作用。随着加酶量的继续增大,酶解液的 ACE 抑制率和水解度略有降低,原因可能是一部分具有 ACE 抑制活性的多肽被进一步水解成不具有降压活性的小肽。故选择 7000U/g 为最适加酶量。

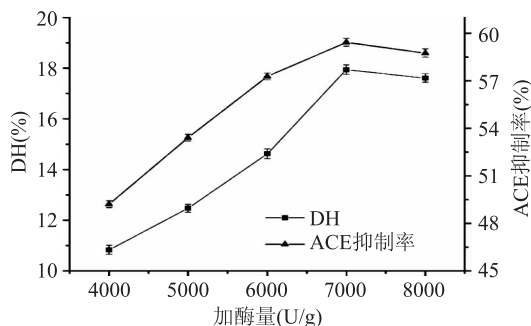


图5 加酶量对酶解液 ACE 抑制率和水解度影响

Fig.5 The influence of enzyme solution ACE inhibition rate and hydrolysis degree by enzyme dosage

2.2.1.5 酶解时间对水解度和酶解液 ACE 抑制率的影响 由图 6 可知,当酶解时间从 1.5h 开始,随着酶解时间的延长水解度和 ACE 抑制率呈逐渐增大趋势,3h 后酶解液的水解度上升缓慢,这可能是因为在反应的初始阶段,蛋白酶和底物均处于较高的浓度水平,酶解反应速率较大,随着反应的进行,碱性蛋白酶的浓度逐渐降低,酶解产物浓度增加,其竞争抑制性增强,酶的活性随着反应的进行而降低,导致在 3h 以后增加酶解时间,ACE 抑制率和水解度增加缓慢。故选择酶解时间为 3h。

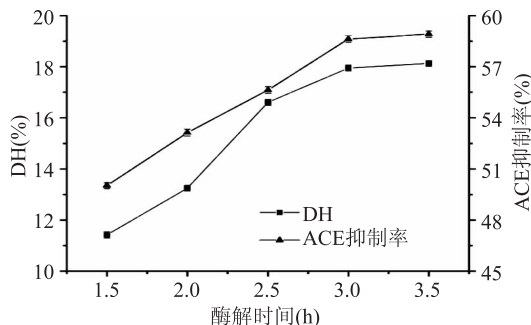


图6 酶解时间对酶解液 ACE 抑制率和水解度影响

Fig.6 The influence of enzyme solution ACE inhibition rate and hydrolysis degree by time

2.2.2 各因素之间的交互作用 实验发现在影响酶解过程的主要因素温度(℃)、底物质量浓度(g/L)、加酶量(U/g)、酶解时间(h)和 pH 中,过高或过低的温度(℃)、底物质量浓度(g/L)、加酶量(U/g)和 pH 对酶解液的 ACE 抑制率有显著影响。从酶解时间对酶解液 ACE 抑制率的影响的曲线中可以看出,当酶解时间超过 3h 时,酶解液的 ACE 抑制率和水解度增加缓慢,因此确定酶解时间为 3h,避免过长时间造成的能源消耗。故在单因素实验的基础上,以温度(℃)、底物质量浓度(g/L)、加酶量(U/g)和 pH 为响应变量,以 ACE 抑制率(%)为响应值,采用四因素三水平对核桃蛋白酶解物进行响应面分析实验,结

果见表 4。

表4 响应面实验设计及结果

Table 4 The design and results of the response surface experimental

实验号	A	B	C	D	ACE 抑制率 (%)
1	1	0	0	1	61.34
2	0	0	0	0	64.45
3	0	0	-1	1	61.47
4	-1	0	0	-1	40.49
5	-1	-1	0	0	33.72
6	0	-1	1	0	54.43
7	0	1	0	-1	55.88
8	1	0	-1	0	58.02
9	1	0	1	0	58.73
10	0	1	0	1	61.63
11	-1	0	-1	0	35.27
12	-1	0	1	0	40.85
13	0	-1	0	1	53.57
14	0	0	1	1	60.21
15	0	0	0	0	62.17
16	0	1	-1	0	50.71
17	-1	1	0	0	45.86
18	1	0	0	-1	61.62
19	0	0	0	0	62.13
20	0	-1	-1	0	45.37
21	-1	0	0	1	53.02
22	0	0	1	-1	62.33
23	1	-1	0	0	54.43
24	0	0	-1	-1	50.73
25	0	1	1	0	58.27
26	0	-1	0	-1	53.46
27	1	1	0	0	58.58

对表 4 进行回归分析,以 ACE 抑制率(%)为响应值建立的二次响应面回归方程如下:

$$Y = 62.33600 + 8.62583A + 2.99583B + 2.77083C + 2.22750D - 1.99750AB - 1.21750AC - 3.20250AD - 0.37500BC + 1.41000BD - 3.21500CD - 8.84300A^2 - 5.84550B^2 - 4.53550C^2 + 0.38450D^2$$

对回归方程进行方差分析,结果见表 5。

由表 5 的方差分析可知,模型的 F 值为 35.76, $p < 0.0001$,说明该模型是极显著的,一次项 A, B, C, D 均影响极显著,说明 pH、酶解温度、底物质量浓度和加酶量对 ACE 抑制率和水解度具有极显著性影响,交互项 AD, BD, CD 的偏回归系数达到极显著水平。失拟项在 0.05 水平上不显著($p = 0.1613$),说明残差均由随机误差引起。模型校正决定系数 $R^2_{Adj} = 0.9456$,说明模型能解释 94.56% 响应值的变化;模型的复相关系数为 $R^2 = 0.9728$,说明该模型与实际拟合较好,故适用于本实验工艺条件的预测。

2.2.3 最佳条件的响应面优化 由图 7、图 8 和图 9 直观地反映了各因素的交互作用。可以看出,随着

表 5 回归模型及方差分析结果
Table 5 Decolorization regression model and analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Pr > F	显著性
模型	1987.01	14	141.93	35.76	<0.0001	**
A	892.86	1	892.86	224.99	<0.0001	**
B	107.70	1	107.70	27.14	0.0001	**
C	92.13	1	92.13	23.22	0.0003	**
D	59.54	1	59.54	15.00	0.0017	**
AB	15.96	1	15.96	4.02	0.0646	—
AC	5.93	1	5.93	1.49	0.2418	—
AD	41.02	1	41.02	10.34	0.0062	**
BC	0.56	1	0.56	0.14	0.7122	—
BD	7.95	1	7.95	2.00	0.0061	**
CD	41.34	1	41.34	10.42	<0.0001	**
A ²	507.23	1	507.23	127.82	<0.0001	**
B ²	221.64	1	221.64	55.85	<0.0001	**
C ²	133.43	1	133.43	33.62	<0.0001	**
D ²	0.96	1	0.96	0.24	0.6306	—
残差	55.56	14	3.97			
失拟误差	48.75	10	4.87	2.86	0.1613	—
纯误差	6.81	4	1.70			
总和	2042.57	28				

注: ** $p < 0.01$, 差异极显著; * $p < 0.05$, 差异显著。

底物质量浓度的增大, ACE 抑制率先增加后降低, 说明在实验实验范围内存在酶水解的最佳底物质量浓度, 当低于或高于该底物质量浓度时, 都会影响 ACE 的抑制率。同样, 对于加酶量、酶解温度和 pH 都存在适合碱性蛋白酶水解的最佳值。因此, 在实验所选择的因素水平范围中存在最优的酶解条件组合使得核桃降压肽的 ACE 抑制率达到最大。

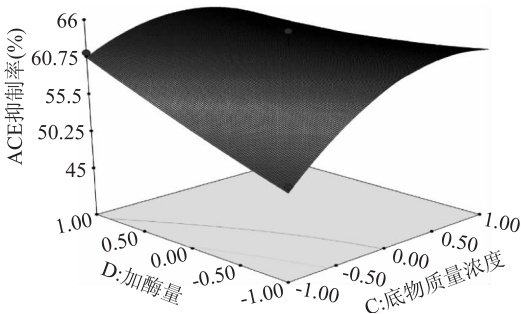


图 7 底物质量浓度和加酶量交互作用响应曲面
Fig.7 The response surface of the influence of

ACE inhibition rate by substrate concentration and enzyme dosage
2.2.4 验证实验 利用 Design-Expert 8.0 软件进行工艺参数的优化组合, 得到碱性蛋白酶酶解核桃蛋白制备 ACE 抑制肽的最佳工艺为: 底物质量浓度 28.99g/L、加酶量 8000U/g、pH8.64, 酶解温度 56.67℃, ACE 抑制率可达到 66.45%。根据实验室条件调整酶解工艺为底物质量浓度 30g/L、加酶量 8000U/g、pH8.6, 酶解温度 57℃, 得到的实际抑制率 64.32%, 相对误差 2.13%, 此时酶解液的水解度为 21.57%。

由此可看出实际测出值与理论值相差不大, 说

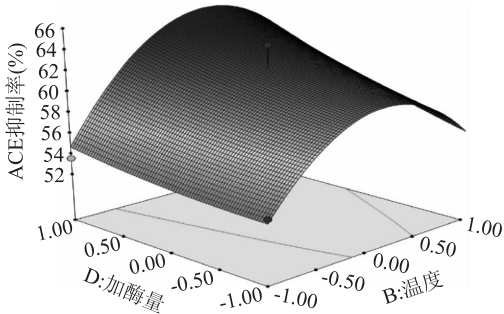


图 8 加酶量和酶解温度交互作用响应曲面
Fig.8 The response surface of the influence of ACE inhibition rate by enzyme dosage and temperature

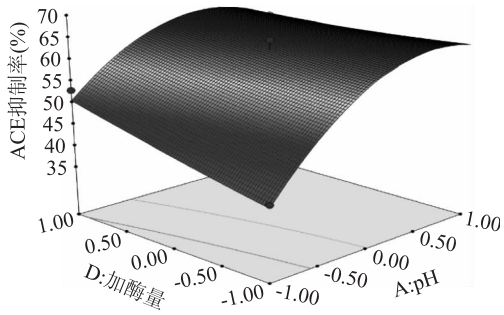


图 9 加酶量和酶解温度交互作用响应曲面
Fig.9 The response surface of the influence of ACE inhibition rate by enzyme dosage and pH value

明响应面优化对碱性蛋白酶水解核桃蛋白制备 ACE 抑制肽的工艺参数是可行的。研究人员采用不同核桃品种通过酶解制备降压肽进行了研究, 朱振宝^[16]等用 Alcalase 2.4L 酶解核桃分离蛋白, 在酶解工艺条

件为 pH7.94, 酶解温度 60℃, 底物质量浓度 30g/L, 酶与底物质量比 3.69:100, 酶解 3h 得到抑制率为 76.58% 的 ACE 抑制肽, 包怡红等^[17]用碱性蛋白酶酶解山核桃蛋白在酶解工艺条件为 pH8.2, 酶解温度 56℃, 加酶量 5800U/g, 酶解 4h 得到抑制率为 72.48% 的 ACE 抑制肽, 对比研究工艺条件和研究结果表明, 本研究中所用方法得到的 ACE 抑制肽的抑制率接近同领域研究者研究的鲜核桃制备 ACE 抑制肽的抑制率。

3 结论

本研究分别用碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶和风味蛋白酶酶解核桃蛋白制备核桃降压肽, 以 ACE 抑制率和水解度为指标, 对比结果筛选碱性蛋白酶为最适酶。

在单因素实验的基础上进行响应面实验, 以 ACE 抑制率为指标, 确定了碱性蛋白酶水解工艺的最佳参数为底物质量浓度 30g/L、酶添加量 8000U/g、pH8.6、酶解温度 57℃, 得到的酶解液的水解度为 21.57%, 实际抑制率可达到 64.32%。本研究得到了较高的 ACE 抑制率结果为核桃粕的深加工提供了一定的指导方向, 从而为进一步拓宽核桃产业提供思路和理论指导奠定了基础。

参考文献

- [1] 孙广辉. 高血压研究新进展[J]. 镇江医学院学报, 2000, 10(3): 597-599.
- [2] 陈元荣. 血管紧张素转化酶抑制剂的临床应用[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(1A): 127-128.
- [3] Abraham T Girgih, Chibuike C Udenigwe, Huan Li, et al. Kinetics of Enzyme Hydrolysis and Antihypertensive Effects of Hemp seed (*Cannabis sativa* L.) Protein Hydrolysis[J]. Journal of the America Oil Chemists Society, 2011, 88(11): 1767-1774.
- [4] Yu ZP, Liu BQ, Zhao WZ, et al. Primary and structure of novel ACE-inhibitory peptides from egg white protein[J]. Food Chemistry, 2012, 133(2): 315-322.
- [5] 宋亮, 曹龙奎, 刁静静, 等. 玉米 ACE 抑制肽水解酶的筛选

及酶解条件的优化[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 204-208.

[6] 于婷婷, 韩飞, 陈光. 大豆降压肽研究进展[J]. 粮油食品科技, 2008, 16(2): 27-29.

[7] 孔令明, 劳斐, 李芳, 等. 响应面法优化杏仁 ACE 抑制肽的酶解工艺研究[J]. 中国食品添加剂, 2013(1): 130-136.

[8] Wenjuan Qu, Haile Ma, Zhongli Pan, et al. Preparation and antihypertensive activity of peptides from *Porphyra yezoensis*[J]. Food Chemistry, 2010, 123(1): 14-20.

[9] Maria Rubi Segura-Campos, Luis Antonio Chel-Guerrero, David Abram Betancur-Ancona. Purification of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from a cowpea (*Vigna unguiculata*) enzymatic hydrolysis[J]. Process Biochemistry, 2011, 46(4): 864-872.

[10] 毛晓英. 核桃蛋白质的结构表征及其制品的改性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012.

[11] Adler-Nissen Jens. Enzymatic Hydrolysis of Food Protein[M]. Essex: Elsevier Applied Science Publishers LTD, 1986: 122-144.

[12] 刘治国, 吴琼, 吕玲肖, 等. 酶解米糠蛋白分离提取 ACE 抑制肽及其结构研究[J]. 食品科学, 2007, 28(3): 223-228.

[13] 张丰香, 李清华, 王霞, 等. 鱼鳞血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制肽的制备工艺研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(24): 199-204, 224.

[14] Saito Y, Wanezaki K, Kawato A, et al. Structure and activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from sake lees[J]. Bioscience Biotechnology Biochemistry, 1994, 58(10): 1767-1771.

[15] P Gonzalez-Tejero, F Camacho, E Jurado, et al. Enzymatic hydrolysis of whey protein: I kinetic models[J]. Biotechnology and bioengineering, 1994, 44(4): 523-528.

[16] 朱振宝, 周慧江, 易建华. Alcalase 2.4L 酶解核桃分离蛋白制备 ACE 抑制肽的工艺研究[J]. 中国油脂, 2013, 38(2): 40-44.

[17] 包怡红, 于阳阳, 赵若诗. 酶解山核桃蛋白制备降压肽的工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(1): 220-224.

(上接第 232 页)

参考文献

- [1] 闫丽华. 冷冻饮品清凉诱惑的背后[J]. 大众标准化, 2012, 6: 13.
- [2] 马志英. 细数冷饮添加剂[J]. 食品与生活, 2013(8): 23.
- [3] 莫言, 念浩, 春雨. 吃雪糕每天不要超过 3 支[N]. 中国质量报, 2011-07-29
- [4] 李健, 杨昌鹏, 景艳艳. 南宁市香蕉产业发展存在的问题及对策[J]. 现代农业科技, 2011(15): 381-382.
- [5] 张静, 刘菊华, 徐碧玉, 等. 香蕉的价值[J]. 热带农业科学, 2012, 31(12): 95-98.
- [6] 庄远红, 吴桂花, 黄育辉. 不同护色剂对冻藏香蕉片护色效果及品质的影响[J]. 漳州师范学院学报: 自然科学版, 2010, 23(1): 110-114.
- [7] 蒋萌蒙, 田呈瑞, 孙俊. 不同食品添加剂抑制双孢菇褐变的研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(18): 5553-5555.

[8] 庄远红, 刘静娜, 林娇芬, 等. 护色处理对冻藏香蕉片多酚氧化酶活性的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 77-80.

[9] 柳素洁. 香蕉多酚氧化酶性质及在果酒发酵中褐变控制的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.

[10] 陈亚静, 王维民, 李杰灵. 低糖马尾藻果酱加工工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(5): 239-244.

[11] 王启军. 食品分析实验[M]. 第二版, 北京: 化学工业出版社, 2012.

[12] 王启军, 吴晓萍. 食品分析实验[M]. 第二版, 北京: 化学工业出版社, 2010

[13] 吴谋成. 食品分析与感官评定[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.

[14] 谢绍萍, 欧阳学智. 香蕉加工过程酶促褐变控制的研究[J]. 电子科技大学学报, 2004, 32(6): 641-644.

[15] 卫学青. 薯条的速冻工艺研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2011.