DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2016.03.037

# 利用鲫鱼加工下脚料酶解制备 ACE 抑制肽的工艺优化

# Preparation of angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory peptides derived from enzymatic hydrolysate of crucian by-products

周晓晴[1]　罗丽娟[2]　黄飞龙[2]　黄赣辉[2]

*ZHOU Xiao-qing*[1]　*LUO Li-juan*[2]　*HUANG Fei-long*[2]　*HUANG Gan-hui*[2]

(1. 江西省食品检验检测研究院,江西 南昌　330001;2. 南昌大学食品学院,江西 南昌　330047)

(1. *Jiangxi Food Inspection and Testing Research Institute*, *Nanchang*, *Jiangxi* 330001, *China*;
2. *Nanchang University College of Food*, *Nanchang*, *Jiangxi* 330047, *China*)

**摘要**:以鲫鱼加工下脚料为原料,用酶解法制备 ACE 抑制肽,并以血管紧张素转化酶(angiotension converting enzyme, ACE)抑制率为指标,从碱性蛋白酶、风味蛋白酶、中性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶中筛选出最佳酶解蛋白酶为胃蛋白酶;以单因素试验为基础,应用 Box-Benhnken 中心组合设计原理和响应面分析法,探讨各自变量及其交互作用对 ACE 抑制率的影响,通过模拟得到的二次多元式方程预测模型,确定最佳酶解条件为:料液比 1∶4.4($m$∶$V$)、加酶量[E]/[S]=521 U/g、酶解时间 5.3 h。以优化条件制备的酶解产物 ACE 实际抑制率可达 75.79%,与理论预测值 76.17%相差不大。

**关键词**:鲫鱼;血管紧张素转化酶;酶解;抑制率

**Abstract**: In this study, byproducts of crucian were used as the raw materials to prepare angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory productsthrough enzyme hydrolysis. On the basis of the inhibitory rate of hydrolysate, pepsin was identified as the optimal enzyme from alkaline protease, flavor protease, neutral protease, trypsin, papain, and pepsin. On the basis of single factor experiment, the optimal hydrolysate conditions of crucian were obtained through Box-Benhnken central combination design and RSM. Simulating the prediction model of quadratic equation, the optimal enzymatic hydrolysate conditions were liquid-material ratio of 1∶4.4($m$∶$V$), hydrolysis concentration of [E]/[S]=521 U/g, hydrolysis time of 5.3 h. Under the optimal conditions, the ACE inhibitory rate of enzymatic hydrolysate reached up to 72.34%, it was in close agreement with the predicted values of 76.17%.

**Keywords**: crucian; angiotensin converting enzyme; enzymolysis; inhibitory rate

**作者简介**:周晓晴(1988—),女,江西省食品检验检测研究院。
E-mail:nczhouxiaoqing@163.com

**收稿日期**:2015-12-15

中国是世界上内陆淡水总面积最大的国家之一。中国内陆水域总面积约 17.47 万 $km^2$,内陆可养殖的水面面积为 6.75 万 $km^2$[1]。2014 年,中国水产品年产 6 461.52 万 t,其中淡水产品年产 3 165.30 万 t,鱼类占 2 770.31 万 t[2]。鱼品在加工过程中,会产生大量的下脚料,如鱼头、鱼皮、鱼鳍、鱼尾、鱼骨及残留鱼肉等,其重量约占原料鱼的 40%~55%[3]。该副产物极易腐败变质,如何充分利用这些副产物,提高鱼类资源的综合加工利用率、减少浪费和环境污染,是值得深入研究的课题。

资料[4]表明,世界各国高血压平均发病率为 10%~20%,全球每年因高血压而死亡的人数达 1 200 万。中国高血压患者已超 1.6 亿。ACE 抑制剂和血管紧张素受体阻滞剂可拮抗血压升高,具有降血压的功效。合成的降压药物如卡托普利、赖诺普利等虽具有良好的降压效果,但存在一定副作用[5]。从天然食物中分离的 ACE 抑制肽降压效果虽没有合成 ACE 抑制剂明显,但其无毒副作用、安全性高等优点备受人们关注[6]。

ACE 抑制肽来源有植物食品、动物食品和发酵食品[7]。目前,制备 ACE 抑制肽多以草鱼、鲢鱼、鳙鱼、鲳鱼、罗非鱼等肉为原料。本课题拟采用蛋白酶水解鲫鱼加工下脚料制备 ACE 抑制肽,并优化制备工艺,为水产品下脚料的综合利用,及制备天然 ACE 抑制肽提供试验数据。

## 1　材料与方法

### 1.1　材料与仪器

鲫鱼加工下脚料:江西某水产品加工厂;

胃蛋白酶(≥3 000 U/mg)、胰蛋白酶(≥2 500 U/mg)、

木瓜蛋白酶(≥3 U/mg):上海晶纯生化科技股份有限公司;

风味蛋白酶(15 U/mg)、中性蛋白酶(2 000 U/mg)、碱性蛋白酶(2 000 U/mg):南宁庞博生物工程有限公司;

血管紧张素转化酶(ACE)、马脲酰—组氨酰—亮氨酸(HHL)、马尿酸(Hip)标准品:美国 Sigma 公司;

乙腈:色谱纯,德国 MERCK 公司;

三氟乙酸:色谱纯,上海晶纯生化科技有限公司;

硼酸、氢氧化钠等试剂均为分析纯;

反相高效液相色谱(RP—HPLC):1260 型,美国 Agilent 公司;

色谱柱:ODS HYPERSIL $C_{18}$ 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),美国 Thermo Fisher Scientific 公司;

恒温数显水浴锅:HH-6 型,国华电器有限公司;

台式离心机:0421 型,上海手术器械厂;

高速组织捣碎机:JJ-2 型,江苏金坛白塔新宝仪器厂;

电子天平:JT2003 型,浙江余姚金诺天平仪器有限公司;

可见分光光度计:722N 型,上海精密科学仪器有限公司;

电热恒温鼓风干燥箱:DHG-9070 型,上海市三发科学仪器有限公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 酶解法制备 ACE 抑制肽工艺流程

鲫鱼加工下脚料→组织捣碎机匀浆 2 min→调节料液比→调节 pH 值→加酶,在预定条件下酶解→100 ℃灭酶 10 min→4 000 r/min 离心 20 min→抽虑→酶解液 ACE 抑制率、水解度、多肽浓度测定

1.2.2 蛋白酶解工艺的优化 以不同酶分别在其最适条件下(见表 1)对鲫鱼加工下脚料进行酶解,测定 ACE 抑制肽抑制率,筛选得到最适酶。

选择最适蛋白酶在酶解过程中,分别控制反应体系的加酶量[E]/[S]=200 U/g,酶解温度 37 ℃,反应时间 3 h,反应 pH 值 2.0,料液比 1∶4(*m*∶*V*),探究料液比、加酶量、酶解时间、酶解温度对 ACE 抑制率的影响。

根据 Box-Benhnken 的中心组合试验设计原理,在单因素的基础上,选择影响 ACE 抑制率的 3 个主要影响因素:液料比、加酶量、酶解时间进行组合。试验因素及水平编码见表 2,数据处理采用 Design expert 8.0.6 程序进行分析。

**表 1 各蛋白酶的水解条件†**

Table 1 Enzymatic hydrolysis conditions of different proteases

| 酶名称 | pH 值 | 温度/℃ |
|---|---|---|
| 风味蛋白酶 | 7.0 | 50 |
| 碱性蛋白酶 | 8.0 | 50 |
| 中性蛋白酶 | 7.0 | 50 |
| 木瓜蛋白酶 | 7.0 | 50 |
| 胃蛋白酶 | 2.0 | 37 |
| 胰蛋白酶 | 8.0 | 37 |

† 加酶量 300 U/g,酶解时间 3 h,料液比 1∶4(*m*∶*V*)。

**表 2 响应面试验因素水平编码表**

Table 2 Factors and levels of response sueface experiments

| 水平 | A 料液比(*m*∶*V*) | B 加酶量/(U·g$^{-1}$) | C 酶解时间/h |
|---|---|---|---|
| −1 | 1∶4 | 400 | 4.00 |
| 0 | 1∶5 | 500 | 5.00 |
| 1 | 1∶6 | 600 | 6.00 |

1.2.3 原料基本成分的测定

(1) 水分含量:参照 GB/T 5009.3—2010《食品中水分的测定》。

(2) 蛋白质含量:参照 GB/T 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》。

(3) 脂肪含量:参照 GB/T 5009.6—2003《食品中脂肪的测定》。

(4) 总糖含量:参照 GB/T 9695.31—2008《肉制品 总糖含量的测定》。

(5) 灰分含量:参照 GB/T 5009.4—2010《食品中灰分的测定》。

1.2.4 ACE 抑制肽抑制率的测定 采用反相高效液相色谱法。参照文献[8]略做修改:取 20 μL ACE(溶解于含 0.3 mol/L NaCl 的 0.1 mol/L 硼酸盐缓冲液中,pH 8.3,活力 0.05 U/mL)和 10 μL 酶解液(预调 pH 同 ACE,并稀释 2.5 倍)于 37 ℃保温 5 min,加入 50 μL HHL(溶解于 ACE 相同缓冲液,6 mmol/L),37 ℃下反应 30 min,加入 85 μL 1 mol/L HCl 溶液终止反应,过 0.22 μm 膜待测。ACE 抑制率按式(1)计算:

$$R = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

$R$——ACE 抑制率,%;

$A_0$——空白对照马来尿酸峰面积;

$A_1$——样品马来尿酸峰面积。

色谱条件:色谱柱:ODS HYPERSIL $C_{18}$ 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流速:0.4 mL/min;检测波长:228 nm;进样量 20 μL;柱温:30 ℃;流动相:12%乙腈(含 0.1% TFA)。

1.2.5 温度对水解度、多肽浓度及抑制率的影响 参加反应总氮测定采用 GB/T 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》;游离氨基酸态氮采用甲醛滴定法[9];多肽含量采用福林—酚法测定。其中,水解度按式(2)计算:

$$DH = \frac{N_1}{N_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

$DH$——水解度,%;

$N_0$——参加反应总氮,g/100 g;

$N_1$——游离氨基酸态氮,g/100 g。

## 2　结果与讨论

### 2.1　原料基本组分含量

经分析,鲫鱼加工下脚料基本组分中蛋白质含量较高,达到 18.217%,可作为功能性多肽水解原料;灰分含量偏高,达到 2.427%,是由于下脚料里含有鱼鳞、鱼骨等矿物质含量高的组分;脂肪含量低于 1%,对蛋白质酶解效果影响小,去除脂肪的步骤可省去。

### 2.2　蛋白酶的选择

6 种蛋白酶水解鲫鱼加工下脚料得到的水解液对 ACE 的抑制率见图 1。由图 1 可知,未加蛋白酶的水解液中也有 ACE 抑制活性肽,可能是由于蛋白质自溶分解成具有一定抑制活性的肽或内源性酶酶解蛋白质的结果。在各自最佳酶解条件下,胃蛋白酶酶解液 ACE 抑制率最高,因此选取胃蛋白酶来水解鲫鱼加工下脚料制备 ACE 抑制肽。

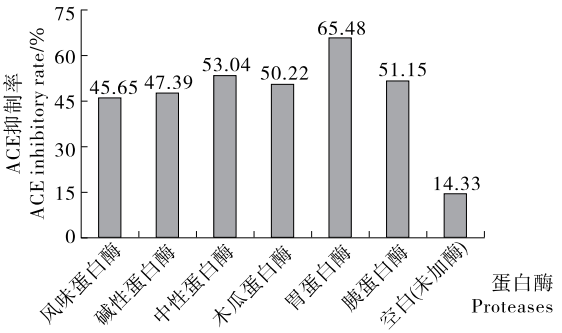


图 1　不同蛋白酶水解产物的 ACE 抑制率

Figure 1　Effects of different proteases on ACE inhibitory rate of hydrolysate

### 2.3　单因素试验结果与分析

2.3.1　料液比对酶解产物 ACE 抑制率的影响　由图 2 可知,随着反应底物浓度增加,ACE 抑制率先增加再呈缓慢下降趋势,在料液比为 1∶4($m$∶$V$)时 ACE 抑制率最高。这是由于水的比例增加,蛋白酶反应活性升高,但随水比例继续增加,水解出的有抑制活性的肽被稀释,抑制率随之降低。因此酶解时料液比控制在 1∶4($m$∶$V$)为最佳。

2.3.2　加酶量对酶解产物 ACE 抑制率的影响　由图 3 可知,随着加酶量的增加,酶解产物对 ACE 的抑制率逐渐升高,

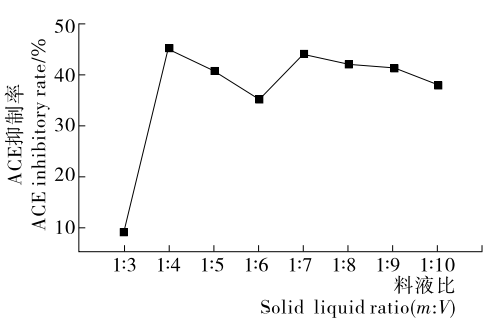


图 2　料液比对酶解物 ACE 抑制率的影响

Figure 2　Effects of solid-liquid ratio on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

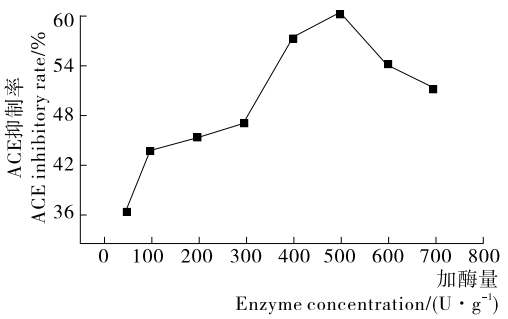


图 3　加酶量对酶解物 ACE 抑制率的影响

Figure 3　Effects of enzyme concentration on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

在加酶量[E]/[S]=500 U/g 时达到最大,之后随加酶量增加,抑制率呈下降趋势。因此胃蛋白酶加酶量定为[E]/[S]=500 U/g。

2.3.3　酶解温度对酶解产物 ACE 抑制率的影响　由图 4 可知,随温度升高,酶解产物对 ACE 的抑制率逐渐升高,并在 46 ℃时达到最高,温度再升高,胃蛋白酶的反应活性降低,蛋白酶解不充分,酶解产物对 ACE 的抑制作用降低。因此,选择酶解温度 46 ℃进行下一步试验。

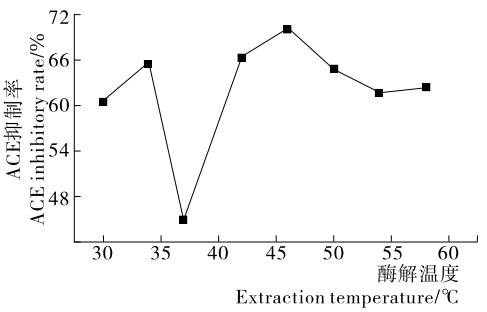


图 4　酶解温度对酶解物 ACE 抑制率的影响

Figure 4　Effects of extracting temperature on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

2.3.4　酶解时间对酶解产物 ACE 抑制率的影响　由图 5 可知,随酶解时间延长,酶解产物对 ACE 的抑制率逐渐升高,酶解 5 h 达到最高,5 h 后对 ACE 的抑制率呈下降趋势,这是由于随着时间的延长,某些对 ACE 有抑制作用的短肽被进一步酶解失去活性。因此酶解 5 h 较合适。

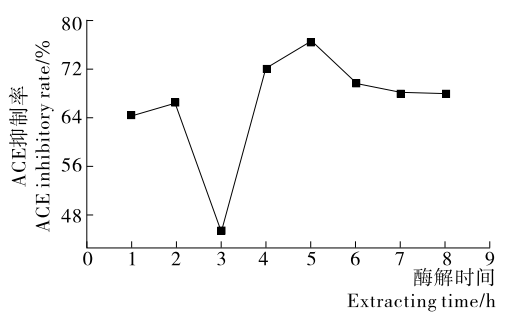


图 5　酶解时间对酶解物 ACE 抑制率的影响

Figure 5　Effects of extracting time on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

### 2.4 水解度及多肽浓度与 ACE 抑制率的关系

水解度及多肽浓度与 ACE 抑制率的关系见图 6。由图 6可知，鲫鱼加工下脚料酶解过程随着温度的上升，水解度、多肽浓度及 ACE 抑制率总体变化趋势是先升高后降低并趋于平缓，这是由于受热后，蛋白质发生变性，内部非极性基团暴露，增大了酶的接触位点，使水解速度加快[10]，但温度超过 46 ℃后，蛋白酶活性降低，不利于蛋白质的水解；水解度和 ACE 抑制肽的抑制率的变化趋势接近，水解度和 ACE 抑制肽的抑制率间有一定关系。黄艳春[11]用风味蛋白酶对鲢鱼蛋白等进行酶解，得出鲢鱼蛋白水解产物的 ACE 抑制率有随水解度升高而提高的趋势，但波动较大；杨晓军等[12]用木瓜蛋白酶水解斑点叉尾鮰，得出酶解产物水解度和 ACE 抑制率之间没有明显的线性关系。水解度和 ACE 抑制率之间的关系有待进一步探讨。

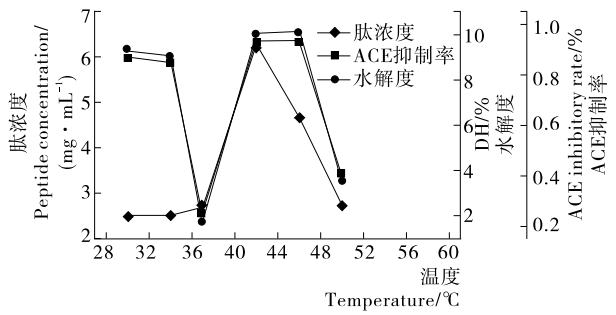


图 6 不同酶解温度下 DH、肽浓度及 ACE 抑制率的变化

Figure 6 Effects of different temperature on DH、peptide concentration and ACE inhibitory rate

### 2.5 响应面优化酶解条件

2.5.1 响应面试验设计及结果 经单因素试验结果分析，确定酶解 pH 值为 2.0，反应温度为 46 ℃后，选用料液比、加酶量及酶解时间为响应变量，ACE 抑制率为响应值设计了 3 因素3 水平的响应面试验，试验设计及结果见表 3。

使用 Design Expert 8.0.6 软件对表 4 的数据进行处理，得到回归方程方差分析表(表 4)，利用软件进行非线性回归的二次多项式拟合，得到预测模型式(3)：

$$Y=74.65+2.35A+3.30B+3.13C+0.52AB+0.64AC+0.43BC-2.97A^2-5.72B^2-5.39C^2。\quad(3)$$

对回归方程取一阶偏导数等于零，整理可得：

$$2.35-5.94A+0.25B+0.64C=0,\quad(4)$$

$$3.3+0.52A-11.44B+0.43C=0,\quad(5)$$

$$3.13+0.64A+0.43B-10.78C=0,\quad(6)$$

联立方程组(4)～(6)，解得 $A=0.444\ 6$，$B=0.209\ 6$，$C=0.329\ 5$，带入真实值得到料液比 1∶4.44($m$∶$V$)，加酶量[E]/[S]=520.96 U/g，酶解时间 5.33 h，考虑到实际操作的便利，将 ACE 抑制肽的最佳酶解条件修正为料液比 1∶4.4($m$∶$V$)，加酶量[E]/[S]=521 U/g，酶解时间 5.3 h。在此条件下，回归模型抑制率理论预测值 76.17%。

回归方差分析显著性检验表明，该模型回归极显著(P<0.01)，失拟项不显著(P=0.491 0)；该模型 $R^2=0.998\ 9$，$R^2_{Adj}=0.997\ 0$ 与 $R^2_{Pred}=0.988\ 2$ 接近，说明该模型与实际数据拟合较好，可用于鲫鱼加工下脚料酶解制备 ACE 抑制肽工艺的预测；方程的一次项对响应值有极显著影响(P<0.01)，且影响效果加酶量>酶解时间>料液比，在交互项中，AB 项的回归系数显著(P<0.05)，说明料液比和加酶量的交互作用对 ACE 抑制率影响显著，AC 项的回归系数极显著(P<0.01)，说明料液比和酶解时间的交互作用对 ACE 抑制率影响极显著，BC 项的回归系数显著(P<0.05)，说明加酶量和酶解时间的交互作用对 ACE 抑制率影响显著，这三个因素的二次项 $A^2$、$B^2$、$C^2$ 对 ACE 抑制率影响均极显著(P<0.01)。

**表 3 Box-Behnken 试验设计及结果**

Table 3 Results of response surface experiments

| 试验号 | A | B | C | ACE 抑制率/% |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 1 | −1 | 63.48 |
| 2 | 0 | −1 | −1 | 57.69 |
| 3 | 0 | −1 | 1 | 62.74 |
| 4 | 0 | 1 | 1 | 70.23 |
| 5 | −1 | 0 | 1 | 66.68 |
| 6 | −1 | 0 | −1 | 61.35 |
| 7 | 1 | 0 | 1 | 72.51 |
| 8 | 1 | 0 | −1 | 64.62 |
| 9 | 1 | 1 | 0 | 72.19 |
| 10 | 1 | −1 | 0 | 64.59 |
| 11 | −1 | −1 | 0 | 60.77 |
| 12 | −1 | 1 | 0 | 66.29 |
| 13 | 0 | 0 | 0 | 74.33 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 74.91 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 74.70 |

**表 4 回归方程方差分析表†**

Table 4 Analysis results of regression and variance

| 项目 | 平方和 | 自由度 | 均方 | $F$ 值 | P 值 | 显著性 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 模型 | 442.58 | 9 | 49.18 | 516.80 | <0.000 1 | ** |
| A | 44.27 | 1 | 44.27 | 465.29 | <0.000 1 | ** |
| B | 87.12 | 1 | 87.12 | 915.57 | <0.000 1 | ** |
| C | 78.25 | 1 | 78.25 | 822.36 | <0.000 1 | ** |
| AB | 1.08 | 1 | 1.08 | 11.37 | 0.019 9 | * |
| AC | 1.64 | 1 | 1.64 | 17.22 | 0.008 9 | ** |
| BC | 0.72 | 1 | 0.72 | 7.59 | 0.040 0 | * |
| $A^2$ | 32.48 | 1 | 32.48 | 341.32 | <0.000 1 | ** |
| $B^2$ | 120.84 | 1 | 120.84 | 1 268.97 | <0.000 1 | ** |
| $C^2$ | 107.30 | 1 | 120.84 | 1 268.97 | <0.000 1 | ** |
| 残差 | 0.48 | 5 | 0.095 | | | |
| 失拟项 | 0.30 | 3 | 0.10 | 1.17 | 0.491 0 | |
| 误差 | 0.17 | 2 | 0.086 | | | |
| 离差 | 443.06 | 14 | | | | |

† * 表示显著(P<0.05)；** 表示极显著(P<0.01)；$R^2$ 为 0.998 9。

2.5.2　各因素之间的交互作用　各因素之间的交互作用见图 7～9。由图 7～9 可知,随着料液比、加酶量和酶解时间的增加,酶解产物对 ACE 的抑制率呈先升高后降低的趋势,且 3 个因素对 ACE 抑制率影响显著,说明本试验所选的因素水平较为合理。

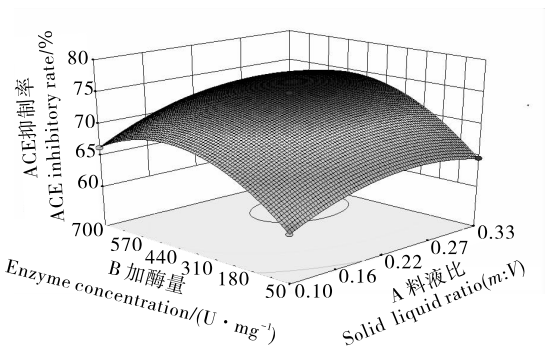


图 7　料液比和加酶量对酶解产物 ACE 抑制率影响的响应曲面图

Figure 7　Response surface of solid-liquid ratio and enzyme concentration on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

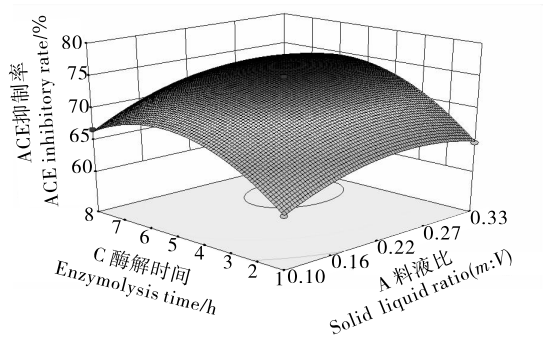


图 8　料液比和酶解时间对酶解产物 ACE 抑制率影响的响应曲面图

Figure 8　Response surface of solid-liquid ratio and time on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

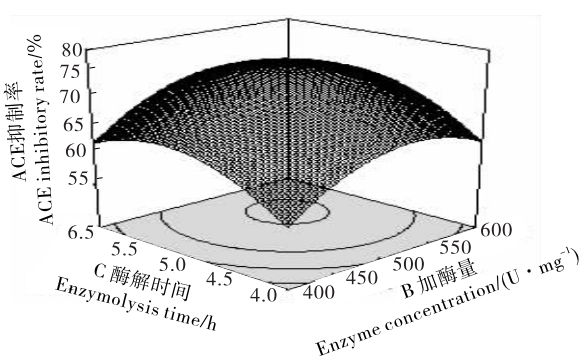


图 9　加酶量和酶解时间对酶解产物 ACE 抑制率影响的响应曲面图

Figure 9　Response surface of enzyme concentration and time on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

### 2.6　验证实验

根据最优化的工艺流程,采用料液比 1∶4.4($m$∶$V$),加酶量[E]/[S]=521 U/g,酶解时间 5.3 h 的条件对鲫鱼加工下脚料进行酶解,测得酶解物对 ACE 抑制率为 75.79%,回归模型抑制率理论预测值 76.17%,实际值比理论预测值低 0.49%,说明该数学模型能较好地模拟各因素与 ACE 抑制率之间的关系。

## 3　结论

通过试验探讨胃蛋白酶酶解鲫鱼加工下脚料制备 ACE 抑制肽,以 ACE 抑制率为因变量,通过单因素试验确定料液比、加酶量、酶解温度和酶解时间的最适水平,通过响应面优化鲫鱼加工下脚料酶解制备 ACE 抑制肽工艺,试验结果表明:最佳酶解工艺条件为料液比 1∶4.4($m$∶$V$)、加酶量[E]/[S]=521 U/g、酶解时间 5.3 h,酶解产物(稀释 2.5 倍)的 ACE 抑制率达 75.79%。

鲫鱼加工下脚料的酶解产物对 ACE 有一定的抑制作用,结果可为天然 ACE 抑制剂的制备提供试验数据。但本试验未对酶解产物进行进一步分离纯化,且酶解不同原料或使用不同蛋白酶,酶解产物的抑制活性都有所不同,单一的酶很难酶解充分,因此有待进一步探讨复合酶对不同类原料的酶解作用,以制备更高活性的 ACE 抑制肽。

### 参考文献

[1] 付万冬, 杨会城, 李碧清, 等. 我国水产品加工综合利用的研究现状与发展趋势[J]. 现代渔业信息, 2009, 24(12): 3-5.

[2] 中华人民共和国统计局. 中国统计年鉴[EB/OL]. [2014-12-31]. http://www.stats.gov.cn/tjsj/ndsj/2015/indexch.htm.

[3] 龚钢明, 顾慧, 蔡宝国. 鱼类加工下脚料的资源化与利用途径[J]. 中国资源综合利用, 2003(7): 23-24.

[4] 中华人民共和国卫生部, 中华人民共和国科学技术部, 中华人民共和国国家统计局. 中国居民营养与健康状况[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 15-16.

[5] 于志鹏, 赵文竹, 刘博群, 等. 血管紧张素转化酶抑制肽研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(11): 308-311.

[6] 张伟, 徐志宏, 孙智达, 等. 酶解花生蛋白制备血管紧张素转化酶抑制肽[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(1): 146-151.

[7] 许金光, 杨智超, 刘长江, 等. 血管紧张素转化酶(ACE)抑制肽的研究进展[J]. 食品工业科技, 2011(5): 425-427.

[8] 夏树华, 王璋. 螺蛳腹足肌的酶解工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(5): 91-97.

[9] 赵新淮, 冯志彪. 大豆蛋白水解物水解度测定的研究[J]. 东北农业大学学报, 1995, 26(5): 63-65.

[10] 孟祥河, 段善海, 王晓忠. 牛肉酶法水解的研究[J]. 食品科技, 2001(4): 5, 13-15.

[11] 黄艳春. 酶解淡水鱼蛋白制取血管紧张素转化酶抑制肽的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2004: 37-38.

[12] 杨晓军, 陆剑锋, 林琳. 酶解斑点叉尾鮰内脏制备血管紧张素转化酶抑制产物[J]. 食品科学, 2010, 31(22): 237-241.