

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2018.02.002

马铃薯蛋白 ACE 抑制肽的 Plastein 反应修饰研究

Plastein reaction to modify the ACE inhibitory peptides of potato protein

高丹丹 马忠仁 热孜万古力。赛买提

GAO Dan-dan MA Zhong-ren SAIMAITI Reziwanguli

田晓静 李明生 陈十恩

TIAN Xiao-jing LI Ming-sheng CHEN Shi-en (西北民族大学生命科学与工程学院,甘肃 兰州 730124)

(College of Life Science and Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou, Gansu 730124, China)

摘要:以马铃薯为原料提取马铃薯蛋白,采用胰蛋白酶水解马铃薯蛋白,制备 ACE 抑制肽,利用类蛋白反应(Plastein 反应)修饰获得 ACE 抑制肽。研究添加氨基酸的种类、酶与底物浓度比([E]/[S])、反应 pH、温度和时间 5 个因素对 ACE 抑制肽抑制率的影响。结果表明,Plastein 反应修饰的最佳条件为:底物浓度 30.0%,反应温度 43.68 $^{\circ}$ 、pH 值8.05、加酶量 3565.05 U/g,反应时间 3.0 h。 经 Plastein 反应修饰,产物的 ACE 抑制率可以达到(82.89 ± 0.05)%,较未经修饰的提高了 1.35 倍。

关键词:马铃薯蛋白;ACE;肽;类蛋白反应

Abstract: Potato protein was hydrolyzed by trypsin to prepare for ACE inhibitory peptides in our previous researches (the ACE inhibition rates was $61.20\%\pm0.15\%$), and we used plastein reaction to modify potato protein hydrolysates for enhancing the ACE inhibitory activity of peptides in this study. The influences of the kinds of added amino acids, the substrate/enzyme ratio, pH value, the temperature and hydrolysis time on ACE inhibitory activity of the plastein reaction modification of potato protein hydrolysates were investigated. To achieve the maximum ACE inhibitory activity in the plastein reaction modification of cottonseed protein hydrolysates, the

基金项目:国家自然科学基金计划(编号:31360375);西北民族大学 "双一流引导专项"生物工程特色学科建设(编号:10018704);西北民族大学中央高校基本科研业务费专项资金(编号:31920170178);甘肃省科技计划资助(编号:1504WKCA094);科技部援助项目(编号:KY201501005);甘肃省兰州市城关区科技计划项目(编号:C17KJGG0024);甘肃省科技计划资助(编号:17YF1WA166);"长江学者和创新团队发展计划"创新团队(编号:IRT_17R88)

作者简介:高丹丹,女,西北民族大学副教授,博士。 通信作者:陈士恩(1964—),男,西北民族大学教授,本科。 E-mail;chshien@163.com

收稿日期:2017-10-06

response surface methodology was applied to find the optimum conditions based on the single factor tests. <code>[E]/[S]</code> ratio at 3 565.05 U/g, substrate concentration at 30.0%, and extrinsic dose of glycine at 0.5 mol/g reacted at 43.68 °C and pH 8.05 for 3.0 h, were found to be the optimal conditions, and the ACE inhibitory activity could reached (82.89 \pm 0.05) %. Compared with unmodified potato ACE inhibitory peptide, its ACE inhibitory activity increased by 1.35 times.

Keywords: The potato protein; ACE; peptide; plastein reaction

Plastein 反应又称类蛋白反应或塑蛋白反应,是指在一定条件下,蛋白酶催化高浓度的蛋白质水解物或低聚肽的混合物,生成沉淀、触变胶体或具触变性黏稠的胶状类蛋白产物的过程[1]。一般认为 Plastein 反应是蛋白酶存在下蛋白质水解反应的逆反应,分为水解、浓缩和合成三步[2]。该反应的机理较为复杂,可能涉及水解反应、浓缩作用、转肽作用、物理聚集中的一种或几种[3]。 Plastein 反应能够产生原料蛋白质所没有的新肽段,其产物具有与原料蛋白质不同的氨基酸序列,可以去除蛋白质水解物的苦味,改善蛋白质的功能性质,提高蛋白质的营养价值,已成为食品工业研究的热点[4]。

目前采用 Plastein 反应修饰生物活性肽的研究较多,诸如:吴丹等^[5]曾对酪蛋白进行酶水解及 Plastein 修饰改善其抗氧化性;杨锋等^[6]曾对醋蛋水解物进行类蛋白修饰,并初步研究了产物的抗氧化活性;张强等^[7]研究发现双孢蘑菇源抗氧化肽修饰产物的抗氧化活性大概是修饰前的 4 倍;王晗欣等^[8]研究发现鹰嘴豆蛋白抗氧化肽修饰产物的还原力和羟自由基清除率都有显著提高;汪敬科等^[9]采用 Plastein 反应在碱性蛋白酶存在条件下对酪蛋白水解物进行修饰,制备多个不同修饰程度的 Plastein 反应产物,修饰后其 ACE 抑制

基础研究 2018 年第 2 期

活性逐渐增加(增加至 49%~62%)。上述研究表明,Plastein 反应修饰可以显著提高某些生物活性肽的功效。但 Plastein 反应用于改善马铃薯蛋白源 ACE 抑制肽活性的研究还未见报道。因此,本研究拟以马铃薯蛋白为原料,在前期研究[10-11]的基础上,采用胰蛋白酶水解马铃薯蛋白制备 ACE 抑制肽,对马铃薯蛋白 ACE 抑制肽进行 Plastein 反应修饰,并对修饰的工艺条件进行研究,以期提高马铃薯蛋白 ACE 抑制肽的活性,为天然高效 ACE 抑制剂的制备提供一种新途径,为马铃薯蛋白资源的综合开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料与试剂

马铃薯:陇薯 10 号,购自兰州市物美大卖场;

马铃薯蛋白 ACE 抑制肽: ACE 抑制率为 $(61.20 \pm 0.15)\%$,实验室自制。

胰蛋白酶:10 000 U/mg,美国 Sigma-Aldrich 公司; ACE:2.0 U/mg,美国 Sigma-Aldrich 公司;

马尿酰-组氨酰-亮氨酸(HHL):分析纯,美国 Sigma-Aldrich 公司;

十二烷基磺酸钠:分析纯,天津市光复精细化工研究所; 邻苯二甲醛:分析纯,北京索莱宝生物试剂;

甘氨酸、L-缬氨酸、L-组氨酸、L-酪氨酸、L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸、L-赖氨酸、亮氨酸:分析纯,上海中秦化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

紫外分光光度计: UV-2000型, 尤尼柯(上海)仪器有限公司:

台式高速冷冻离心机: TGL-16型, 湖南湘仪实验室仪器 开发有限公司:

恒温磁力搅拌器: MYP11-2A型, 上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司:

鼓风干燥箱: DHG-9030型,上海一恒科学仪器有限公司;

电子天平:FA2004B型,上海精密科学仪器有限公司; 冷冻干燥机:Megafuge 8R型,美国热电照生有限公司; 数显酸度计:PHS-3C型,杭州雷磁分析仪器厂;

超低温冰箱: DW-86L490J型,青岛海尔特种电器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 马铃薯蛋白质的提取 马铃薯洗净削皮切丁,用一定量的 0.09% NaCl 溶液和 0.12%的亚硫酸钠混合液在室温下浸提 1 h 左右,马铃薯与提取液的比值为 1:10 (g/mL), -4%, 3000 r/min 离心 15 min,取上清液,加入 1 mol/L HCl 溶液调 pH 4.2 左右,于磁力搅拌器上搅拌 10 min,静止 1 h,再于-4%, 3000 r/min 离心 15 min,保留沉淀,置于冷冻干燥机中冻干,得到马铃薯蛋白粉^[10]。

1.2.2 马铃薯蛋白 ACE 抑制肽的制备工艺

马铃薯蛋白悬浊液→调 pH→加酶→调水浴温度 37 ℃→ 灭酶(90 ℃水浴 15 min)→离心(10 000 r/min,20 min)→取 上清液→冷冻干燥[11]

1.2.3 ACE 抑制率测定 将 ACE 底物 HHL 溶解于 0.1 mol/L 硼酸盐缓冲液(pH 值 8.3,含 0.2 mol/L NaCl)中配制成 6 mmol/L 的浓度。取 100 μ L 的 HHL 与 100 μ L 的 ACE 抑制剂混合,然后加入 150 μ L 5 U/mL 的 ACE 溶液, 37 $^{\circ}$ C 反应 60 min。加入 250 μ L 的 HCl(1 mol/L)终止反应,再加入 1.5 mL 乙酸乙酯进行萃取,强烈震荡 1 min, 3 000 r/min 离心 5 min。取酯层部分 0.5 mL,在 110 $^{\circ}$ C 下蒸干。继续加入 3 mL 氯化钠溶液(1 mol/L)溶解残渣,以 1 mol/L 氯化钠溶液作参比,在 228 nm 下测定其吸光值记做 A,用蒸馏水代替粗酶液和酶解肽液,测定其吸光值记做 $C^{[12]}$ 。按式(1)计算 ACE 抑制率:

$$N = \frac{A - S}{A - C} \times 100\% , \qquad (1)$$

式中

N——ACE 抑制率,%;

A——在反应中不加抑制剂的吸光值;

S——在反应中同时加入 ACE 和 ACE 抑制剂的吸光值:

C——ACE与 HHL 空白反应的吸光值。

1.2.4 单因素试验 以 Plastein 反应产物 ACE 抑制率为指标,分别研究外源氨基酸的种类、酶与底物浓度比([E]/[S])、反应温度、反应 pH、反应时间对 ACE 抑制率的影响。

- (1) 外源氨基酸的种类: 称取 15 g 的马铃薯蛋白 ACE 抑制肽于试剂瓶中, 加 50 mL 蒸馏水配制成底物浓度为 30%的悬浮液,按 0.5 mmol/g · 多肽的比例分别加入甘氨酸、亮氨酸、酪氨酸、赖氨酸、组氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸和苯丙氨酸,调节 pH 值为 8.0,反应温度 37 ℃,反应时间 2 h, [E]/[S] 3 000 U/g,95 ℃灭酶 10 min,10 000 r/min 离心 5 min,取上清液,测定 Plastein 反应产物 ACE 抑制率。
- (2) [E]/[S]: 称取 15 g 的马铃薯蛋白 ACE 抑制肽于试剂瓶中,加 50 mL 蒸馏水配制成底物浓度为 30%的悬浮液,按 0.5 mmol/g・多肽的比例加入甘氨酸,调节 pH 值为 8.0,反应温度 37 ℃,反应时间 2 h,分别控制[E]/[S]为 2 500,3 000,3 500,4 000,4 500 U/g,95 ℃灭酶 10 min,10 000 r/min 离心 5 min,取上清液,测定 Plastein 反应产物 ACE 抑制率。
- (3) 反应温度: 称取 15 g 的马铃薯蛋白 ACE 抑制肽于试剂瓶中,加 50 mL 蒸馏水配制成底物浓度为 30%的悬浮液,按 0.5 mmol/g・多肽的比例加入甘氨酸,调节 pH 值为 8.0,分别控制反应温度为 32,37,42,47,52 $^{\circ}$ 0,反应时间 2 h, [E]/[S] 3 500 U/g,95 $^{\circ}$ 0 灭酶 10 min,10 000 r/min 离心 5 min,取上清液,测定 Plastein 反应产物 ACE 抑制率。
- (4) 反应 pH: 称取 15 g 的马铃薯蛋白 ACE 抑制肽于试剂瓶中,加 50 mL 蒸馏水配制成底物浓度为 30%的悬浮液,

按 0.5 mmol/g・多肽的比例加入甘氨酸,分别控制 pH 值为 7.0,7.5,8.0,8.5,9.0,反应温度 42 ℃,反应时间 2 h,[E]/[S] 3 500 U/g,95 ℃灭酶 10 min,10 000 r/min 离心5 min,取上 清液,测定 Plastein 反应产物 ACE 抑制率。

(5) 反应时间:称取 15 g 的马铃薯蛋白 ACE 抑制肽于试剂瓶中,加 50 mL 蒸馏水配制成底物浓度为 30%的悬浮液,按 0.5 mmol/g·多肽的比例加入甘氨酸,调节 pH 值为 8.0,反应温度 42 ℃,分别控制反应时间为 2.0,2.5,3.0,3.5,4.0 h,[E]/[S] 3 500 U/g,95 ℃灭酶 10 min,10 000 r/min 离心 5 min,取上清液,测定 Plastein 反应产物 ACE 抑制率。1.2.5 响应面分析 在单因素的基础上,根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,以马铃薯蛋白 ACE 抑制肽的抑制率为响应值,选择反应温度、反应 pH、[E]/[S]进行三因素三水平的响应面试验。通过响应面分析法优化 Plastein 反应修饰的工艺条件。

1.2.6 数据分析 采用 F 检验对试验数据进行方差分析来评价响应面回归模型的统计意义,采用 Design-Expert V 8.0.6 软件对数据进行分析。

2 结果分析

2.1 单因素分析

2.1.1 外源氨基酸种类对马铃薯蛋白 ACE 抑制肽 Plastein 反应的影响 由图 1 可知,加入 8 种外源氨基酸之后,马铃薯蛋白 ACE 抑制肽修饰产物对血管紧张素转化酶均表现出一定的抑制活性。加入甘氨酸后,修饰产物的 ACE 抑制率最高达到了 (75.1 ± 2.12) %,L-苯丙氨酸加入后 ACE 抑制率最低,为 (49.1 ± 0.82) %。添加亮氨酸、L-酪氨酸、L-赖氨酸、L-组氨酸、L-缬氨酸和 L-甲硫氨酸后的 ACE 抑制率依次为 (73.70 ± 1.24) %, (71.10 ± 1.43) %, (67.90 ± 0.11) %, (62.20 ± 1.05) %, (59.30 ± 1.04) %, (53.20 ± 0.98) %。表明甘氨酸对马铃薯蛋白 ACE 抑制肽的 Plastein 反应修饰效果最好,故选用甘氨酸为最佳外源氨基酸。

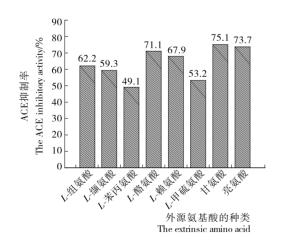


图 1 外源氨基酸种类对马铃薯蛋白 ACE 抑制肽的 Plastein 反应的影响

Figure 1 The effect of extrinsic amino acid on ACE inhibitory activity

2.1.2 [E]/[S]对马铃薯蛋白 ACE 抑制肽 Plastein 反应的影响 由图 2 可知,随着[E]/[S]的增加,抑制率随之增大,但增加到 3 500 U/g 时,ACE 抑制率达到最大值[(79.30±0.95)%],继续增加加酶量,抑制率减小。随着[E]/[S]的增大,Plastein 反应修饰程度达到最大,但此时修饰产物的ACE 抑制率降低,可能是[E]/[S]过大,过多的蛋白酶容易催化修饰产物重新发生水解反应,促使体系中活性物质减少,进而导致其 ACE 抑制率降低^[13]。故选择3 500 U/g 作为响应面试验的中心点。

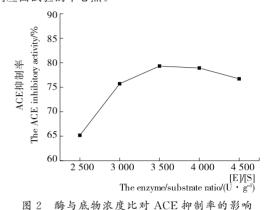


Figure 2 The effect of Enzyme/Substrate ratio on ACE inhibitory activity

2.1.3 反应温度对马铃薯蛋白 ACE 抑制肽 Plastein 反应的影响 由图 3 可知, ACE 的抑制率会随着温度的增加呈先上升后下降的趋势。当温度为 42 ℃时, ACE 抑制率达到最大值[(78.95±0.42)%]。温度对 ACE 抑制肽抑制率的影响主要是通过影响酶的活性实现的。当温度低于 42 ℃时,随着酶解温度的增大,酶促反应速度加快, ACE 抑制率也逐步增大,而当温度超过 42 ℃时,随着温度的升高,酶可能失活而导致抑制率下降^[14]。故选择 42 ℃作为响应面试验的中心点。

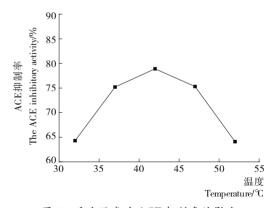


图 3 反应温度对 ACE 抑制率的影响

Figure 3 The effect of reaction temperature on ACE inhibitory activity

2.1.4 反应 pH 值对马铃薯蛋白 ACE 抑制肽 Plastein 反应的影响 由图 4 可知,随着 pH 值的增大,马铃薯蛋白 ACE 抑制肽修饰产物的 ACE 抑制率先增大后减小,pH 8.0 时,修饰产物的 ACE抑制率最高,达到(79.20±0.65)%。低于或

基础研究 2018 年第 2 期

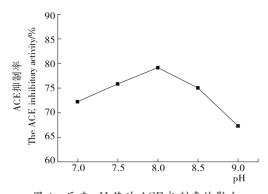


图 4 反应 pH 值对 ACE 抑制率的影响

Figure 4 The effect of reaction pH on ACE inhibitory activity

高于此 pH 值,修饰产物的 ACE 抑制能力均有不同程度的减弱,可能是偏酸性或偏碱性环境会引起蛋白酶和底物蛋白发生一定程度的变性,从而使蛋白酶失去部分催化功能,底物蛋白丧失部分生物活性,进而减弱修饰产物的 ACE 抑制能力^[15]。故选择 8.0 作为最佳反应 pH 值。

2.1.5 反应时间对马铃薯蛋白 ACE 抑制肽 Plastein 反应的影响 由图 5 可知,随着反应时间的延长,马铃薯蛋白 ACE 抑制肽修饰产物的 ACE 抑制率随之上升,但是当时间达到 3.0 h 时 ACE 抑制率达到最大值[(79.7±1.22)%],反应时间继续延长,ACE 抑制率下降。这可能是反应时间过长,修饰产物在蛋白酶的作用下又发生了水解反应,重新生成了分子质量相对较小的肽类物质,修饰程度降低[16]。故选择 3.0 h 作为响应面试验的中心点。

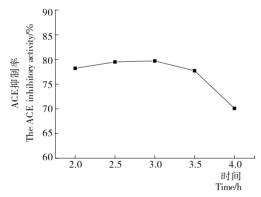


图 5 反应时间对 ACE 抑制率的影响

Figure 5 The effect of reaction time on ACE inhibitory activity

2.2 马铃薯蛋白 ACE 抑制肽 Plastein 反应修饰响应面试验 分析

2.2.1 响应面试验设计 见表 1。

2.2.2 多元二次模型方程的建立与检验 通过 Design-Expert V8.0.6 软件对表 2 数据进行回归分析得到多元二次关系式:

 $Y = 82.84 + 0.28A + 0.27B + 0.21C + 0.14AB - 0.14AC - 0.15BC - 0.43A^2 - 1.40B^2 - 0.98C^2$ (2)

从模型的方差分析表(表3)可以看出,本试验所选用的

表 1 响应面试验设计

Table 1 Designs of Response surface experiment

水平	A 温度/℃	B反应 pH	$C[E]/[S]/(U \cdot g^{-1})$
-1	37	7.5	3 000
0	42	8.0	3 500
1	47	8.5	4 000

表 2 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 2 The design and experiment results of Box-Behnken Response surface test

序号	A	В	С	ACE 抑制	ACE 抑制率/%	
				试验值	预测值	
1	0.00	-1.00	1.00	80.89 ± 0.15	80.56	
2	0.00	0.00	0.00	83.05 ± 0.05	82.84	
3	-1.00	1.00	0.00	81.12 ± 0.02	80.86	
4	1.00	-1.00	0.00	80.63 ± 0.05	80.89	
5	0.00	1.00	1.00	80.79 ± 0.21	80.78	
6	1.00	1.00	0.00	81.76 ± 0.16	81.70	
7	-1.00	-1.00	0.00	80.55 ± 0.13	80.61	
8	-1.00	0.00	-1.00	80.87 ± 0.09	80.81	
9	1.00	0.00	-1.00	81.93 ± 0.14	81.66	
10	0.00	0.00	0.00	82.54 ± 0.05	82.84	
11	-1.00	0.00	1.00	81.24 ± 0.08	81.51	
12	0.00	-1.00	-1.00	79.83 ± 0.04	79.84	
13	0.00	0.00	0.00	82.94 ± 0.09	82.84	
14	1.00	0.00	1.00	81.72 ± 0.23	81.79	
15	0.00	1.00	-1.00	80.35 ± 0.34	80.68	
16	0.00	0.00	0.00	82.86 ± 0.15	82.84	
17	0.00	0.00	0.00	82.83 ± 0.13	82.84	

表 3 二次多项模型方差分析结果†

Table 3 The variance analysis results of two multinomial models

来源	回归系数	自由度	标准差	F 值	P值
总模型	82.84	9	1.79	19.00	0.000 4 * *
A	0.28	1	0.64	6.79	0.035 1*
В	0.27	1	0.56	5.98	0.044 4*
C	0.21	1	0.34	3.67	0.097 1
AB	0.14	1	0.078	0.83	0.391 4
AC	-0.14	1	0.084	0.89	0.375 6
BC	-0.15	1	0.096	1.02	0.345 6
A^2	-0.43	1	0.77	8.17	0.024 4 * *
B^2	-1.40	1	8.28	88.07	<0.000 1 * *
C^2	-0.98	1	4.02	42.77	0.000 3 * *
残差	0.66	7	0.094		
失拟项	0.51	3	0.17	4.74	0.083 6
误差项	0.14	4	0.036		
总和	16.72	14			

^{† *}表示在 5%的水平内显著(P<0.05); * *表示在 1%的水平内显著(P<0.01); R^2 = 0.960 7; R^2_{adi} = 0.910 1。

二次多项模型具有极显著性(P=0.000 4)。失拟项在 α = 0.05 水平上不显著(P=0.083 6>0.05),其决定系数(R^2)为 0.960 7,校正决定系数(R^2)为 0.960 7,校正决定系数(R^2)为 0.910 1,说明此模型能够解释 91.01%响应面的变化,仅有 8.99%的总变异不能用此模型来解释[17]。表明模型的拟合度较好,用来对马铃薯蛋白 ACE 抑制肽 Plastein 反应修饰过程进行优化是合适的[18]。一次项 A 和 B、二次项 A²在 5%水平内显著,B²和 C²在 1%水平内显著(极显著),表明在马铃薯蛋白 ACE 抑制肽 Plastein 反应修饰过程中,反应温度和 pH 值对修饰产物的 ACE 抑制率具有极显著影响。交互项 AB、BC 和 AC 的 P \geqslant 0.05,表明温度和 pH 值、温度和 E/S、以及 pH 值和 E/S 的交互作用对修饰产物的 ACE 抑制率无显著影响,在生产过程中可以忽略[19]。

2.2.3 响应面分析和优化 由图 6 可知,反应温度与反应

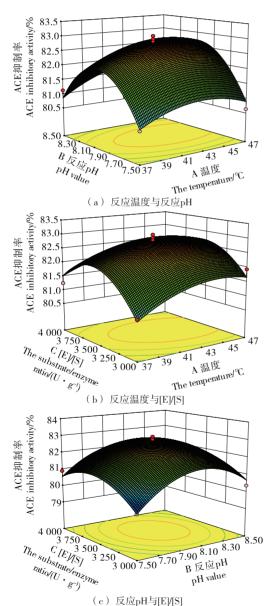


图 6 交互作用影响抑制率的曲面图及等高线图 Figure 6 Surface chart and contour map of the interaction affect the ACE inhibitory activity

pH值、反应温度与[E]/[S]以及 pH值和[E]/[S]的交互作用对修饰产物的 ACE 抑制率无显著影响。当[E]/[S]固定在 0 水平时,随着反应 pH值的升高,修饰产物的 ACE 抑制能力呈现出先增大后减小的趋势;随着反应温度的升高,修饰产物的 ACE 抑制能力逐渐增大。当 pH值固定在 0 水平时,随着[E]/[S]的升高,修饰产物的 ACE 抑制能力呈现出先增大后减小的趋势;随着反应温度的升高,修饰产物的 ACE 抑制能力是现出先增大后减小的趋势;随着反应温度的升高,修饰产物的 ACE 抑制能力逐渐增大。当温度固定在 0 水平时,随着[E]/[S]的升高,修饰产物的 ACE 抑制能力呈现出先增大后减小的趋势,可能是由于过量的蛋白酶会引发修饰产物发生二次水解,使体系中抗氧化活性物质的数量有所减少,从而影响修饰产物的 ACE 抑制能力;随着反应 pH值的升高,修饰产物的 ACE 抑制能力是现出先增大后减小的趋势。

2.2.4 模型验证实验 根据 Box-Behnken 设计的 17 组试验 所得的结果和二次多项回归方程,利用 Design Expert V 8.0.6 软件获得了 ACE 抑制率最高时各个因素的最佳反应 条件为:温度 43.68 ℃、反应 pH 8.05、反应时间 3.0 h, [E]/[S] 3 565.05 U/g,在此反应条件下,经由 Plastein 反应 修饰的马铃薯蛋白 ACE 抑制肽对 ACF 的理论抑制率为 (82.913±0.958)%。

为了检验模型预测的准确性和精确性,在最适反应条件下进行修饰反应并测定产物的 ACE 抑制率,3 组平行实验所得到的实验结果分别为 82.86%,82.95%,82.85%,平均值为(82.89±0.05)%,由此可见该模型能较好地预测实际反应情况。

3 结论

采用胰蛋白酶水解马铃薯蛋白制备 ACE 抑制肽(ACE 抑制率为 $61.20\%\pm0.15\%$),以 ACE 抑制能力为评价指标,在单因素试验的基础上采用响应面法优化了马铃薯蛋白 ACE 抑制肽 Plastein 反应修饰工艺,得最佳工艺为:以甘氨酸为处源氨基酸,温度 43.68 °、反应体系 pH 8.05、反应时间 3.0 h、[E]/[S] 3 565.05 U/g,底物浓度 30%、外源氨基酸比例 0.5 mmol/g·多肽,在最优反应条件下,抑制率可以达到(82.89 ± 0.05)%。本研究通过 Plastein 反应修饰的方法有效提高了马铃薯蛋白 ACE 抑制肽的降血压活性,为其作为天然高效降血压剂方面的开发提供依据,并为马铃薯资源的综合利用提供新途径。

参考文献

- [1] 姚玉静,崔春,邱礼平,等. Plastein 反应条件及其机理探讨[J]. 中国调味品,2009,34(2):45-48.
- [2] DOUCET D, GAUTHIER SF, OTTER DE, et al. Enzyme-induced gelation of extensively hydrolyzed whey proteins by alcalase: comparison with the plastein reaction and characterization of interactions[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2003, 51(20): 6 036-6 042.
- [3] 赵新淮,孙辉. 类蛋白反应在食品蛋白质和活性肽研究中的应用 [J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(11): 1-8.

(下转第82页)

安全与检测 2018 年第 2 期

的食品安全风险交流工作分别由 EFSA、FDA 负责,这极大 地提高了食品安全风险交流工作的效率。

从目前中国食品安全监管机构的状况来看,单独增加食品安全风险交流管理机构,会造成更多的资源浪费,也不符合当前中国"大部制改革"的政策方针。因此,可以考虑将食品药品监督管理部门作为组织食品安全风险交流工作的核心主体,由该部门具体负责中国的食品安全风险交流工作,使得中国的食品安全风险交流工作,使得中国的食品安全风险交流工作,使得中国的食品安全风险交流工作有组织支撑。

3.3 构建食品安全风险交流信息平台 实现交流渠道多元化

在欧盟和美国的食品安全风险交流机制中,信息平台的构建是十分重要的一环,比如欧盟构建了利益相关者磋商平台和 EFSA 官方网站两个平台,美国 PFA 构建了数据快速采集系统作为食品安全风险交流信息的平台。就中国的实际状况来看,在国家层面有"中国食品安全网(http://www.cfsn.cn/)",各地也建设了"食品安全信息网",这是目前中国主要的食品安全信息网络发布渠道。但在这些网络平台中,并没有专门的食品安全风险交流模块,不利于各个主体就食品安全风险问题,在网络平台上进行交流和互动。因此,可以借鉴欧美国家的经验,结合中国的实际情况,以"中国食品安全风险问题,在网络平台上进行交流和互动。因此,可以借鉴欧美国家的经验,结合中国的实际情况,以"中国食品安全风险时间,在网络平台上进行交流和互动。因此,可以借鉴欧美国家的经验,结合中国的实际情况,以"中国食品安全风险有的,提升食品安全风险交流的各项信息进行及时的发布,提升食品安全风险信息传播的效率,以发挥"中国食品安全网"在食品安全风险交流过程中的平台支持作用。

除此之外,欧美国家的食品安全风险交流渠道并非单一的,其将新媒体和传统媒体很好地结合了起来,充分发挥各种新媒体渠道在食品安全风险信息传播中的作用。当前以微博、微信为代表的新媒体对中国社会各个方面都产生了显

著的影响,因此,在明确食品药品监督管理部门在中国食品安全风险交流中的主导地位之后,食品药品监督管理部门可以通过开通食品安全政务微博、食品安全政务微信的形式,与市民、食品中介组织或新闻媒体展开食品安全风险信息交流。除此之外,还应充分发挥报纸、电视等传统媒体在食品安全信息宣传过程中的作用。由于中国公众对食品的认知程度不高,而传统媒体在信息传播过程中具有权威性的特征。因此,中国食品药品监督管理部门可以定期就食品安全风险信息通过权威的报纸或电视媒体进行发布,以提升食品安全风险交流工作的透明度,进而激发公众参与食品安全风险交流的动力。

参考文献

- [1] FAO/WHO. Food safety risk analysis: a guide for national food safety authorities [R/OL]. (2006-09-10) [2018-04-16]. http://www.fao.org/docrep/012/a0822e/a0822e00.htm.
- [2] 信春鷹. 中华人民共和国食品安全法解读[M]. 北京: 中国法制出版社,2015:62.
- [3] 孙颖. 风险交流——食品安全风险管理的新视野[J]. 中国市场监督研究, 2015(8): 40-45.
- [4] 姚国艳. 论我国食品安全风险交流制度的完善. 兼议《食品安全 法》第 23 条[J]. 东方法学, 2016(3): 96-105.
- [5] 岳改玲. 欧洲食品安全局的风险交流机制及启示[J]. 新闻界, 2013(13): 70-74.
- [6] 元延芳,尚红叶,陈慧,等.美国食品监督检查制度的分析和借鉴[J].食品与机械,2017,33(1):59-61.
- [7] 李长健. 论农民权益的经济法保护: 以利益与利益机制为视角 [J]. 中国法学, 2005(3): 120-134.
- [8] 宋世勇. 论我国食品安全风险交流制度的立法完善[J]. 法学杂志, 2017, 38(3): 90-98.

(上接第10页)

- [4] 朱晓杰. 海地瓜蛋白酶解物 Plastein 反应修饰及其 ACE 抑制活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012: 14-33.
- [5] 吴丹, 李铁晶, 赵新淮. 酪蛋白水解物的酶法修饰优化与抗氧化活性改善[J]. 农业机械学报, 2010, 17(1): 139-144.
- [6] 杨锋,陈锦屏,阳显莹.醋蛋水解物的类蛋白反应及对抗氧化活性的影响[J].食品工业科技,2012,18(1):152-158.
- [7] 张强, 王松华, 蒋胜娟, 等. 双孢蘑菇源抗氧化肽的 Plastein 反应修饰研究[J]. 科技视界, 2012, 6(17): 39-43.
- [8] 王晗欣,杜双奎,赵艳,等.鹰嘴豆蛋白水解物类蛋白反应修饰与抗氧化活性研究[J].中国食品学报,2015,15(1):34-40.
- [9] 汪敬科,赵新准. 三种氨基酸添加下酶法修饰酪蛋白水解物的 ACE 抑制活性[J]. 食品与发酵工业,2011,37(4):32-26.
- [10] 高丹丹, 李海霞, 祁高展. 发酵马铃薯蛋白制备 ACE 抑制肽 [J]. 食品科技, 2015(1): 258-262.
- [11] 高丹丹, 孙青青, 郭鹏辉, 等. 发酵马铃薯蛋白制备抗氧化肽 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(7): 159-162.

- [12] 彭剑秋. ACE 抑制肽定量构效关系研究[D]. 上海: 上海理工大学, 2012: 5-35.
- [13] 赵元晖,李八方,曾明湧.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.
- [14] 沈晴晴. Plastein 反应修饰海地瓜酶解物制备 ACE 抑制肽及其机理研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2014:11-22.
- [15] 许金龙. 酪蛋白水解物 Plastein 反应修饰产物降血压和抗氧化 活性的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016: 4-32.
- [16] 周丽杰, 韩青, 李智博, 等. 酶法制备耦合 Plastein 反应的牡蛎 ACE 抑制肽[J]. 食品科学, 2017, 38(6): 104-110.
- [17] 高丹丹,杨璐璐,祁高展.响应面法优化蕨麻多糖的提取工艺[J]. 天然产物研究与开发,2015,27(6):1 099-1 104.
- [18] 任佳丽, 黄仁贵, 李忠海. 零余子粗多糖超声波辅助提取工艺 优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 149-153.
- [19] 齐娜,李涵,张志宇,等.新疆红肉苹果多酚的超声波辅助提取工艺优化[J]. 食品与机械,2016,32(9):177-182.