

可控酶法制备河蚬抗氧化肽工艺优化

Optimization on enzymatic preparation of antioxidant peptide from *Corbicula fluminea* by control-enzymatic hydrolysis method

刘晶晶 金林烽 韩曜平 王雪峰 戴阳军

LIU Jing-jing JIN Lin-feng HAN Yao-ping WANG Xue-feng DAI Yang-jun

(常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏 常熟 215500)

(Department of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu, Jiangsu 215500, China)

摘要:为优化酶法制备河蚬抗氧化肽的最佳工艺条件,在单因素试验的基础上,利用 Box-Behnken 中心组合试验和响应面分析法,研究不同因素水平时酶解产物对羟自由基清除率的影响。获得河蚬抗氧化肽的最佳制备条件为:添加 0.94% 中性蛋白酶(以河蚬肉计),在料液比 1:2(m:V),pH 6.00,温度 54.70 °C 的条件下酶解 3.91 h,该条件下羟自由基清除率为 81.63%。

关键词:河蚬;抗氧化肽;酶法;制备

Abstract: The optimal enzymolysis conditions of preparing antioxidant peptide from *Corbicula fluminea* were optimized. On the basis of single factor experiment such as kinds of proteases, dosage of protease, the ratio of material to liquid, enzymatic hydrolysis time, enzymatic hydrolysis temperature and pH, the effects of different factors and level on hydroxyl radical scavenging were researched by Box-Behnken center combination experiment and response surface analysis methods. The optimal hydrolysis conditions of preparing antioxidant peptide from *Corbicula fluminea* were that adding 0.94% neutral protease (by weight of *Corbicula fluminea* meat), material to liquid ratio of 1:2(m:V), pH of 2.6, enzymatic hydrolysis temperature of 54.70 °C and enzymatic hydrolysis time of 3.91 h. Hydroxyl radical scavenging of hydrolysates prepared under these conditions was 81.63%, which was in accordance with the value estimated by RSM (83.34%). The conditions of enzymatic preparation of antioxidant peptide from *Corbicula fluminea* could accurately predicted by Box-Behnken center combination experiment.

Keywords: *Corbicula fluminea*; antioxidant peptide; enzymatic method; preparation

生物活性肽分布很广泛,人们已从各种食品原料中鉴定出具有不同功能的生物活性肽(如抗氧化、抑菌、抗癌、改善免疫调节、提高人体耐力),使得对肽的研究日趋升温^[1]。其中,对抗氧化肽的研究更是炙手可热,近年来,已从水产蛋白

(鱸鱼、鲭鱼、巨鲑鱼皮、白虾头和黄鳍金枪鱼骨架蛋白)中提取了具有显著抗氧化活性的肽段^[2]。

河蚬(*Corbicula fluminea*),又称黄蚬、金蚬、扁螺等,广泛分布于中国内陆水域,是中国重要的经济贝类之一。河蚬含有丰富的蛋白质、糖原、必需氨基酸、牛磺酸、多种维生素以及钙、磷、铁、硒等具有特殊生理作用的矿物质^[3]。由于河蚬所具有的营养、药用及食疗价值,对河蚬的开发研究越来越受到国内外专家和学者的关注。邱春江等^[4]研究发现花蚬的酶解物具有较强的清除羟自由基能力。刘杰等^[5]研究发现河蚬的酶解液具有显著的清除超氧阴离子自由基和羟自由基作用。张磊等^[6]发现河蚬提取物可能对酒精性肝损伤有保护作用。吴立峰等^[7]报道河蚬糖蛋白对小鼠化学性肝损伤有保护作用。王一铮等^[8]研究发现河蚬汤对小鼠急性乙醇肝损伤的保护作用。J. S. Tsai 等^[9]研究发现河蚬肌肉蛋白水解物对血管紧张素 I 转换酶具有一定的抑制作用。可见,目前河蚬的研究主要集中在提取物和酶解液在抗氧化、护肝及降血压等功效方面的研究,而对河蚬抗氧化肽的可控酶解制备方面的研究未见报道。本试验拟采用可控酶法制备河蚬抗氧化肽,旨在开发新型抗氧化剂、抗衰老功能食品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料与试剂

速冻河蚬肉:江苏省宿迁楠景水产品有限公司;

碱性蛋白酶(酶活 2.0×10^5 U/g)、中性蛋白酶(酶活 2.0×10^5 U/g)、木瓜蛋白酶(酶活 8.0×10^5 U/g)、复合风味蛋白酶(酶活 1.5×10^4 U/g)和菠萝蛋白酶(酶活 6.0×10^5 U/g);分析纯,上海奥宇生物科技有限公司;

氢氧化钠、邻二氮菲、硫酸亚铁、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠和 H_2O_2 :分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

电子天平:EL104 型,梅特勒-托利多仪器有限公司;

冰箱:BCD-216TDXZA 型,青岛海尔股份有限公司;

分光光度计:722 型,上海菁华科技仪器有限公司;

离心机:80-2 型,金坛市荣华仪器制造有限公司;

水浴锅:HHS-11-2 型,江苏金坛宏凯仪器厂。

基金项目:2013 年度江苏省苏州市应用基础研究计划项目(编号:SYN201303)

作者简介:刘晶晶(1978—),女,常熟理工学院副教授,硕士。

E-mail: ljj@cslg.edu.cn

收稿日期:2015-01-28

1.2 试验方法

1.2.1 单因素试验

(1) 酶种类的筛选:将河蚬肉流水解冻,按 1 : 3(m : V) 的料液比加水后用组织捣碎机匀浆,分别添加 0.75% 的不同种类蛋白酶,在各自最适的温度和 pH 条件下(见表 1)水解 4 h,100 °C 灭酶 20 min,4 000 r/min 离心 30 min,取上清液测定羟自由基清除率并进行比较,从而筛选合适的蛋白酶。

表 1 不同蛋白酶最适酶解条件

Table 1 The optimum hydrolysis conditions of proteases

酶的种类	最适温度/°C	最适 pH
木瓜蛋白酶	70	7.0
复合风味酶	53	6.5
菠萝蛋白酶	55	6.5
碱性蛋白酶	57	9.0
中性蛋白酶	48	7.0

(2) 料液比对羟自由基清除率的影响:将河蚬肉流水解冻,按照不同料液比(1 : 1,1 : 2,1 : 3,1 : 4,1 : 5,m : V)匀浆,分别加入 0.75% 的中性蛋白酶,调节 pH 为 7.0,于 48 °C 的恒温水浴锅中酶解 4 h,100 °C 灭酶 20 min,4 000 r/min 离心 30 min,得到不同料液比的河蚬抗氧化肽,取上清液测定羟自由基清除率并进行比较,从而筛选合适的料液比。

(3) pH 对羟自由基清除率的影响:将河蚬肉流水解冻,按照料液比 1 : 2(m : V) 进行匀浆,调节不同 pH(6.0,6.5,7.0,7.5,8.0),分别加入 0.75% 的中性蛋白酶,于 48 °C 的恒温水浴锅中酶解 4 h,100 °C 灭酶 20 min,4 000 r/min 离心 30 min,得到不同 pH 条件的河蚬抗氧化肽,取上清液测定羟自由基清除率并进行比较,从而筛选合适的 pH。

(4) 加酶量对羟自由基清除率的影响:将河蚬肉流水解冻,按照料液比 1 : 2(m : V) 进行匀浆,加入不同比例的中性蛋白酶(0.25%,0.50%,0.75%,1.00%,1.25%),调节 pH 为 6.5,于 48 °C 的恒温水浴锅中酶解 4 h,100 °C 灭酶 20 min,4 000 r/min 离心 30 min,得到不同加酶量的河蚬抗氧化肽,取上清液测定羟自由基清除率并进行比较,从而筛选合适的加酶量。

(5) 酶解温度对羟自由基清除率的影响:将河蚬肉流水解冻,按照料液比 1 : 2(m : V) 进行匀浆,调节 pH 为 6.5,再加入 0.75% 的中性蛋白酶,于不同温度(28,38,48,58,68 °C) 下酶解 4 h,100 °C 灭酶 20 min,4 000 r/min 离心 30 min,得到不同水解温度的河蚬抗氧化肽,取上清液测定羟自由基清除率并进行比较,从而筛选合适的酶解温度。

(6) 酶解时间对羟自由基清除率的影响:将河蚬肉流水解冻,按照料液比 1 : 2(m : V) 进行匀浆,调节 pH 为 6.5,加入 0.75% 的中性蛋白酶,于 48 °C 的恒温水浴锅中分别酶解 1,2,3,4,5 h,100 °C 灭酶 20 min,4 000 r/min 离心 30 min,得到不同酶解时间的河蚬抗氧化肽,取上清液测定羟自由基清除率并进行比较,从而筛选合适的酶解时间。

1.2.2 羟自由基清除率的测定 参照赵谋明等^[10]的方法。清除率按式(1)进行计算:

$$c = \frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

c——清除率,%;

A₁——样品管在波长 536 nm 处的吸光值;

A₂——用去离子水代替样品液后,在波长 536 nm 处的吸光值;

A₃——用去离子水代替样品液和 H₂O₂ 溶液,在波长 536 nm 处的吸光值。

1.2.3 数据统计分析 所有试验至少 3 次重复,用 Microsoft Excel 进行数据整理,不同平均值之间用 SPSS 11.5 统计软件中的邓肯氏多重比较法(duncan's multiple range test)进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 酶种类的筛选试验 由图 1 可知,采用 5 种蛋白酶制备的河蚬抗氧化肽对羟自由基清除率的影响存在显著性的差异,其中采用菠萝蛋白酶制备的河蚬抗氧化肽对羟自由基清除率最低,仅有 46.00%,而中性蛋白酶制备的河蚬抗氧化肽对羟自由基清除率最高,达 70.20%,故本试验采用中性蛋白酶来制备河蚬抗氧化肽。

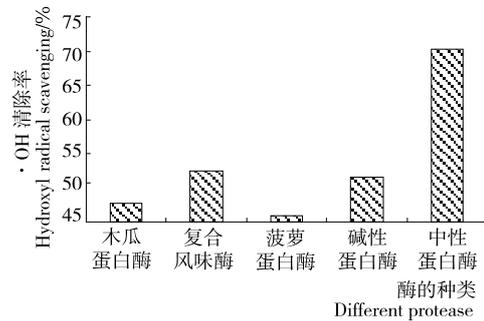


图 1 酶种类的筛选试验结果

Figure 1 The results of different protease effect

2.1.2 料液比对羟自由基清除率的影响 由图 2 可知,酶解液对羟自由基清除率随料液比增大而呈下降趋势,数据分析得出料液比为 1 : 1 与 1 : 2(m : V) 的酶解物对羟自由基清除率没有显著性差异。而考虑到试验操作测定的便利性,本试验采用 1 : 2(m : V) 的料液比进行试验。

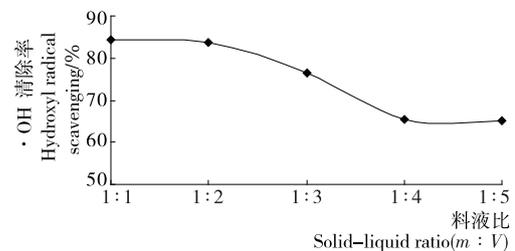


图 2 料液比对羟自由基清除率的影响

Figure 2 Effect of solid-liquid ratio on hydroxyl radical scavenging

2.1.3 pH 对羟自由基清除率的影响 由图 3 可知,在不同的 pH 条件下制备的河蚬抗氧化肽对羟自由基清除率具有显著性差异,在 pH 为 6.0~6.5 时,曲线呈上升趋势,而当 pH 调节到 6.5 时其羟自由基清除率可达到最高值 79.60%,在 pH 为 6.5~8.0 时,曲线又呈下降趋势,确定中性蛋白酶的最适 pH 为 6.5。

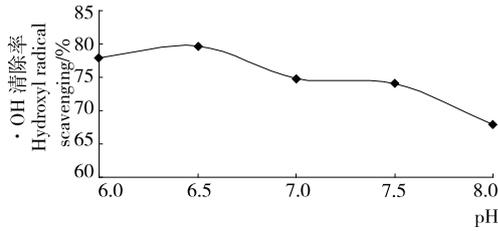


图 3 pH 对羟自由基清除率的影响

Figure 3 Effect of pH on hydroxyl radical scavenging

2.1.4 加酶量对羟自由基清除率的影响 由图 4 可知,羟自由基清除率随加酶量的增大而升高,因为在底物浓度一定的情况下,蛋白酶的含量越高,其酶解越充分,从而导致酶解制备的抗氧化肽对羟自由基清除率呈上升的趋势。但当加酶量超过 0.75% 时,不同加酶量的酶解产物对羟自由基清除率没有显著性差异,结合成本考虑,选用添加 0.75% 的中性蛋白酶。

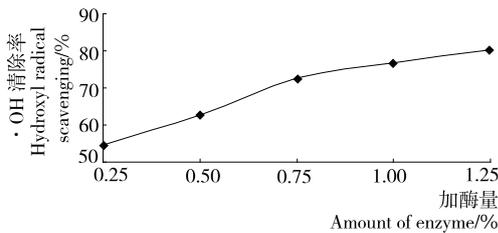


图 4 加酶量对羟自由基清除率的影响

Figure 4 Effect of the amount of enzyme on hydroxyl radical scavenging

2.1.5 酶解温度对羟自由基清除率的影响 由图 5 可知,不同温度条件下制备的河蚬抗氧化肽对羟自由基清除率存在显著性差异,其中 48 °C 时抗氧化肽对羟自由基清除率最高,达到了 75.00%。因为蛋白酶具有最适反应温度,在 48 °C 时,中性蛋白酶活性最强,酶解液清除羟自由基的能力最强。低于或高于 48 °C 时,酶活力下降,酶解液清除羟自由基的能力也随之下降。故选用 48 °C 为河蚬抗氧化肽的最佳酶解温度。

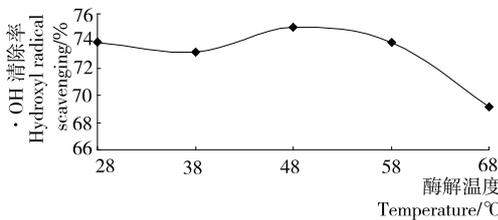


图 5 酶解温度对羟自由基清除率的影响

Figure 5 Effect of the enzymatic temperature on hydroxyl radical scavenging

2.1.6 酶解时间对羟自由基清除率的影响 由图 6 可知,酶解产物对羟自由基清除率随酶解时间的增加而增大,在酶解时间为 1~3 h 时,羟自由基清除率呈明显的上升趋势,而在 3 h 后曲线的上升趋势明显缓慢,且酶解时间为 3 h 和 4 h 时,羟自由基清除率没有显著性差异。这是由于酶解初期,酶量充足,酶解速度较快,酶解液中抗氧化肽含量上升较快;一定时间后,酶解速度缓慢,且随着水解时间的延长,抗氧化

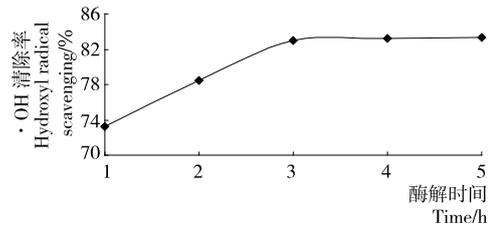


图 6 酶解时间对羟自由基清除率的影响

Figure 6 Effect of hydrolysis time on hydroxyl radical scavenging

肽含量增加不明显,故酶解时间选用 3 h 为宜。

2.2 响应面试验结果

在单因素试验的基础上,采用 Design-Expert 7.1.3 软件中的 Box-Behnken 试验设计原理^[11,12],固定料液比为 1:2 (m:V),选取对河蚬酶解工艺具有显著影响的因素:酶解温度、pH、酶解时间和加酶量进行 4 因素 3 水平的试验设计,各因素水平编码表见表 2,试验结果见表 3。

表 2 响应面试验因素与水平

Table 2 Factors and level of experiment by response surface

水平	A 酶解温度/°C	B pH	C 酶解时间/h	D 加酶量/%
-1	40	6.0	2	0.50
0	50	6.5	3	0.75
1	60	7.0	4	1.00

表 3 响应面试验结果

Table 3 Experimental results of response surface

组别	A	B	C	D	羟自由基清除率/%
1	0	0	0	0	78.60
2	0	1	-1	0	71.40
3	1	-1	0	0	76.60
4	0	0	0	0	78.30
5	0	1	1	0	79.20
6	0	-1	1	0	83.20
7	0	0	1	1	77.90
8	0	0	-1	-1	70.90
9	1	0	1	0	81.60
10	1	1	0	0	79.00
11	1	0	-1	0	76.90
12	0	0	1	-1	72.20
13	0	-1	0	-1	66.30
14	1	0	0	1	78.50
15	0	0	0	0	78.40
16	0	0	0	0	78.40
17	-1	0	-1	0	70.00
18	0	0	0	0	83.40
19	0	1	0	-1	68.70
20	1	0	0	-1	76.00
21	-1	0	0	1	76.90
22	-1	0	0	-1	61.90
23	-1	0	1	0	66.10
24	0	1	0	1	77.10
25	0	0	-1	1	71.30
26	-1	-1	0	0	71.80
27	-1	1	0	0	71.40
28	0	-1	0	1	83.50
29	0	-1	-1	0	77.40

2.2.1 方差分析 使用软件对结果进行分析处理,得到结果见表 4。

表 4 回归方程显著性检验和方差分析[†]

Table 4 Analysis of variance and significance test of regression equation

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.07	14	5.03E-03	5.20	0.000 2	**
A	0.021	1	0.021	21.97	0.000 3	**
B	1.20E-03	1	1.20E-03	1.24	0.284 1	
C	4.14E-03	1	4.14E-03	4.28	0.057 4	
D	0.02	1	0.02	20.86	0.000 4	**
AB	1.96E-04	1	1.96E-04	0.20	0.659 5	
AC	1.85E-03	1	1.85E-03	1.91	0.188 4	
AD	3.91E-03	1	3.91E-03	4.04	0.044 2	*
BC	1.00E-04	1	1.00E-04	0.10	0.752 6	
BD	1.94E-03	1	1.94E-03	2.00	0.179 0	
CD	7.02E-04	1	7.02E-04	0.73	0.408 5	
A ²	6.98E-03	1	6.98E-03	7.22	0.017 7	*
B ²	5.47E-04	1	5.47E-04	0.57	0.464 5	
C ²	2.23E-03	1	2.23E-03	2.31	0.150 8	
D ²	0.01	1	0.01	10.56	0.005 8	*
残差	0.014	14	9.67E-04			
失拟	0.012	10	1.16E-03	2.33	0.215 5	
误差	1.99E-03	4	4.96E-04			
总和	0.084	28				

[†] ** 表示极其显著, P<0.001; * 表示显著, P<0.05。

由表 4 可知:模型中 F 值为 5.2, P 值为 0.002<0.05, 因此回归方程对羟自由基清除率具有较高显著性,而且模型中的失拟项 P 值为 0.215 5>0.05(不显著)表示该模型是比较稳定的^[13],可以很好地解释分析响应结果并能正确预测最佳工艺条件。单因素中温度、加酶量对羟自由基清除率的影响是极其显著(P<0.001);交互因素中温度与加酶量对羟自由基清除率的影响显著(P<0.05)。

2.2.2 回归模型优化 将不显著项手动删除,见表 5。

表 5 去掉不显著项后的优化结果[†]

Table 5 The optimization results of excluding

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	619.63	6	103.27	10.34	<0.000 1	**
A	212.52	1	0.021	21.97	0.000 1	**
C	41.44	1	41.44	4.75	0.043 8	*
D	201.72	1	201.72	20.20	0.000 2	**
AD	39.06	1	39.06	4.43	0.004 5	*
A ²	55.65	1	55.65	5.57	0.027 5	*
D ²	85.86	1	85.86	8.60	0.007 7	*
残差	219.75	22	9.99			
失拟	199.90	18	11.11	2.24	0.226 7	
误差	19.85	4	4.96			
总和	839.38	28				

[†] ** 表示极其显著, P<0.001; * 表示显著, P<0.05。

手动优化后的二次回归方程为:

$$Y = 77.91 + 4.21A + 1.86C + 4.10D - 3.13AD - 2.84A^2 - 3.53D^2 \quad (2)$$

手动调整后的变异系数(C.V.%)为 4.20,小于 5.0,所以整个试验的模型稳定性较强,试验设计较为合理。

对结果影响较强的交互项响应曲面图见图 7。

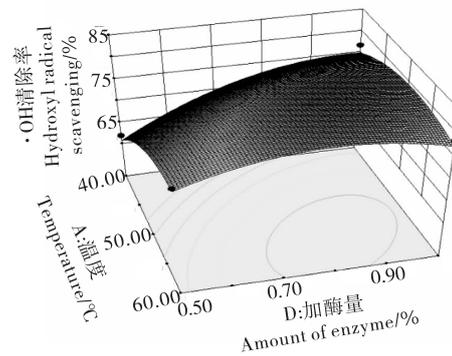


图 7 酶解温度与加酶量对羟自由基清除率影响的响应曲面和等高线

Figure 7 Response surface plot and contour plot for effects of the amount of enzyme and temperature and their mutual interaction on hydroxyl radical scavenging

由图 7 可知,加酶量与温度相互作用对羟自由基清除率的影响显著(P<0.05),其等高线中心呈较完整的椭圆形,峰值出现在温度 55 °C 与加酶量 0.70%~0.90%,并且当温度一定时,并非加酶量越多酶解效果越好,因此适量添加蛋白酶不仅能够达到最优酶解效果,而且工厂化生产后可以节约部分成本。

通过 Design-Expert 7.1.3 软件计算分析并预测出最优工艺条件为:温度 54.70 °C, pH 6.00,酶解时间 3.91 h,中性蛋白酶的加酶量为 0.94%,理论预测值羟自由基清除率为 83.34%。

2.3 验证实验

根据 Design-Expert 7.1.3 软件计算出的最优工艺条件:料液比为 1:2(m:V),添加 0.94% 中性蛋白酶,在 pH 为 6.00,温度为 54.70 °C 的条件下酶解 3.91 h,实际测得酶解制备的河蚬抗氧化肽对羟自由基清除率为 81.63%,与理论预测值相差 1.71%,可见模型预测值在实际值的误差范围之内,说明该模型可以用来优化制备河蚬抗氧化肽。

3 结论

(1) 在单因素试验基础上,通过 Box-Behnken 试验设计和响应面分析法,经过分析建立二项数学模型,确定最佳酶解工艺条件为料液比 1:2(m:V),中性蛋白酶的添加量 0.94%,酶解时间 3.91 h,酶解温度 54.70 °C 和 pH 6.00,模型预测该条件下羟自由基清除率为 83.34%,而实际测定值为 81.63%,属于试验误差范围内,因此,利用该模型来优化河蚬抗氧化肽的酶法制备工艺参数准确、可靠,具有实用价值。

(2) 利用可控酶解技术对河蚬蛋白进行深度开发,该工

(下转第 255 页)

著提高,这为后续深入开发以糙薏米为代表的具有降血脂、降血糖、抗癌等多种保健功能的高附加值产品提供依据。本研究的不足之处在于未对萌芽薏米中 GABA 对生物体内蛋白质、糖类、脂类等代谢和表达方面进行深入了解,下一步需针对上述问题进行动物试验研究。

参考文献

- 1 Apirattanasorn Supaporn, Tongta Sunanta, Cui Steve W, et al. Chemical, molecular, and structural characterization of alkali extractable nonstarch polysaccharides from Job's tears[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(18): 8549~8557.
- 2 Wang Li-feng, Chen Jing-yi, Xie Hui-hui, et al. Phytochemical profiles and antioxidant activity of adlay varieties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(21): 5103~5113.
- 3 Hsia S-M, Chiang W, Kuo Y-H, et al. Downregulation of progesterone biosynthesis in rat granulosa cells by adlay (*Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf.) bran extracts[J]. International Journal of Impotence Research, 2005, 18(3): 264~274.
- 4 王振鸿. 薏苡的药用价值[J]. 农村实用技术, 2004(12): 56~57.
- 5 Jideani I A, Jideani V A. Developments on the cereal grains digitaria exilis (acha) and digitaria iburu (iburu)[J]. Journal of Food Science and Technology, 2011, 48(3): 251~259.
- 6 Seal C J, Jones A R. Whole grains uncovered[J]. Nutrition Bulletin, 2006, 31(2):129~137.
- 7 Koyama M, Nakamura C, Nakamura K. Changes in phenols contents from buckwheat sprouts during growth stage [J]. Journal of Food Science and Technology, 2013, 50(1): 86~93.
- 8 Ren Shun-cheng, Sun Jun-tao. Changes in phenolic content, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, and antioxidant capacity of two buckwheat sprouts in relation to germination[J].

Journal of Functional Foods, 2014(7): 298~304.

- 9 Karladee D, Suriyong S. γ -Aminobutyric acid (GABA) content in different varieties of brown rice during germination[J]. Science Asia, 2012, 38(1): 13.
- 10 卫生部批准 γ -氨基丁酸等 6 种新资源食品用于食品生产加工[J]. 中国食品学报, 2009(5): 156.
- 11 王辉, 项丽丽, 张锋华. γ -氨基丁酸(GABA)的功能性及在食品中的应用[J]. 食品工业, 2013(6): 186~189.
- 12 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- 13 吕峰, 杨彩霞, 姜艳梅, 等. 不同产地薏苡仁的保健与加工品质[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2008, 37(4): 431~434.
- 14 商珊, 秦礼康, 杨先龙, 等. 分段热加工对薏米营养与功能成分的影响[J]. 食品科学, 2014(5): 81~84.
- 15 罗曦, 曾亚文, 杨树明, 等. 不同发芽时间下发芽稻谷和糙米不同部位 γ -氨基丁酸含量差异[J]. 食品科学, 2009(13): 124~128.
- 16 姚森, 郑理, 赵思明, 等. 发芽条件对发芽糙米中 γ -氨基丁酸含量的影响[J]. 农业工程学报, 2006, 22(12): 211~215.
- 17 刘劲松, 吕志勇. 影响种子发芽率的因素[J]. 新农业, 1995(6): 14~13.
- 18 Beck E, Ziegler P. Biosynthesis and degradation of starch in higher plants[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1998(40): 95~117.
- 19 于立梅, 于新, 白卫东, 等. 山毛豆发芽过程中营养成分的变化[J]. 食品与发酵工业, 2010(2): 137~140.
- 20 郑丽娜, 曲颖. 发芽对绿豆营养成分的影响[J]. 现代食品科技, 2011, 27(2): 144~146.
- 21 夏虹, 彭茂民, 周有祥. 发芽米中 γ -氨基丁酸含量的测定[J]. 食品与机械, 2009, 25(4): 100~102.

(上接第 225 页)

艺条件下制备的河蚬抗氧化肽对羟自由基清除率较高,为制备新型抗氧化剂和具有抗氧化功效的富肽酶解物并开发系列功能食品提供理论依据,为河蚬的深度加工提供一条新的途径。

参考文献

- 1 任娇艳,赵谋明,崔春,等. 草鱼源抗氧化肽的响应面法优化制备及活性评价[J]. 食品工业科技, 2009, 30(7): 69~73.
- 2 韩鹏,王勤,陈清西. 河蚬软体部分营养成分分析及评价[J]. 厦门大学学报(自然科学), 2007, 46(1): 115~117.
- 3 Kristinsson H G, Rasco B A. Fish protein hydrolysates; production, biochemical and functional properties[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2000(40): 43~81.
- 4 邱春江,刘利. 花蚬酶解物清除羟自由基作用研究[J]. 生物加工过程, 2007, 5(1): 50~55.
- 5 刘杰,万细妹,徐明生. 河蚬酶解液体外抗氧化作用的研究[J]. 江西农业大学学报, 2009, 31(6): 1093~1096.

- 6 张磊,何红梅,案金柱. 河蚬提取物对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J]. 齐鲁药事, 2008, 27(6): 365~367.
- 7 吴立峰,吴广印. 河蚬糖蛋白对小鼠化学性肝损伤的保护作用[J]. 中外健康文摘, 2008(6): 49~50.
- 8 王一铮,黄玲,刘如玉,等. 河蚬汤对小鼠急性乙醇肝损伤的保护作用[J]. 福建中医学院学报, 2010, 20(3): 28~29.
- 9 Tsai J S, Li T C, Chen J L, et al. The inhibitory effects of freshwater clam (*Corbicula fluminea*, Muller) muscle protein hydrolysates on angiotensin I converting enzyme[J]. Process Biochemistry, 2006(41): 2276~2281.
- 10 赵谋明,何婷,赵强忠,等. 蓝圆鲈抗氧化肽抗氧化稳定性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(1): 356~360.
- 11 鲁晶晶,王远亮,谢梦琴. 植物乳杆菌 LJ-3 产细菌素的响应面优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 242~246.
- 12 朱晓阳,钟海雁,周波,等. 油茶籽多酚超声辅助提取的响应面优化[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 166~170.
- 13 姚芳,祁兴普,刘萍. 复合蛋白酶水解低值淡水鱼工艺的响应面优化[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(6): 229~233.