

鸡肉蛋白的酶解及其抗氧化活性研究

孙杨赢¹, 潘道东^{1,2,*}, 郭宇星¹

(1. 南京师范大学金陵女子学院食品科学与营养系, 江苏 南京 210097;

2. 宁波大学生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

摘 要: 运用响应面(RSM)分析法对酶解鸡肉蛋白制备抗氧化肽的工艺进行优化。在单因素试验的基础上, 以还原能力和超氧阴离子自由基清除率为指标, 研究酶解时间、加酶量、温度对木瓜蛋白酶酶解鸡肉蛋白的酶解液抗氧化性的影响。结果表明, 酶解鸡肉蛋白制备抗氧化肽的工艺条件为 pH6.0、液固比 2:1(mL/g)、酶解时间 6.15h、加酶量 1200U/g、温度 51.2℃, 此时还原能力达到 0.802, 超氧阴离子自由基清除率达到 73.9%。

关键词: 鸡肉蛋白; 酶解; 抗氧化活性; 响应面分析

Enzymatic Hydrolysis of Chicken Protein and Antioxidant Activity of Antioxidant Peptide

SUN Yang-ying¹, PAN Dao-dong^{1,2,*}, GUO Yu-xing¹

(1. Department of Food Science and Nutrition, Ginling College, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China;

2. College of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The enzymatic hydrolysis parameters for preparing antioxidant peptide from chicken protein were optimized by response surface analysis. Based on the results of single factor experiments, the effects of hydrolysis time, enzyme addition amount, hydrolysis temperature on the hydrolysis degree of chicken protein and antioxidant capability of antioxidant peptide were explored through evaluating the reducing power and scavenging rate on superoxide anion free radicals. Results indicated that the optimal preparation processing conditions of antioxidant peptides from chicken protein by papain hydrolysis were pH 6.0, material-water ratio of 1:2, hydrolysis time of 6.15 h, papain amount of 1200 U/g and hydrolysis temperature of 51.2 °C. Under the optimal hydrolysis conditions, reducing power and scavenging rate of antioxidant peptide were 0.802 and 73.9%, respectively.

Key words: chicken protein; hydrolysis; antioxidant activity; response surface methodology

中图分类号: TQ936.16

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)24-0056-06

我国是鸡肉生产大国, 然而我国的鸡肉产品结构不合理。因此, 在发展鸡肉制品方面, 有必要注重提高产品的方便性、高科技性、营养性^[1]。蛋白质酶解有助于改善其营养价值和功能特性, 有研究表明鸡肉蛋白水解物具有一定程度的抗氧化性^[2], 这说明鸡肉蛋白中蕴含着具有抗氧化活性的肽序列, 选择适当的蛋白酶体外酶解鸡肉蛋白有利释放出有活性的肽段。氧化与人类的许多疾病诸如癌症、老化、动脉硬化等的发病机理有关。适当摄入具有抗氧化活性的物质可以降低体内自由基水平, 防止脂质过氧化, 帮助机体抵御疾病。近年来, 关于蛋白水解物抗氧化性的研究已有许多报道, 如白虾头蛋白^[3]、牛蛙皮蛋白^[4]、草鱼蛋白^[5]、猪皮胶原蛋白^[6]、鱼鳞蛋白^[7]、鸡蛋蛋清^[8]等, 但对鸡肉蛋白

酶解产物的研究相对较少。

本研究采用木瓜蛋白酶水解鸡肉蛋白, 在单因素试验的基础上, 利用响应面分析法对水解工艺条件进行优化并研究酶解产物的抗氧化活性, 旨在为酶解制备有关生物活性肽提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鸡脯肉(冷藏) 市购; 中性蛋白酶(5 万 U/g)、木瓜蛋白酶(80 万 U/g) 南京奥多福尼生物科技有限公司; 其他试剂 上海久亿化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

收稿日期: 2010-03-06

基金项目: 江苏省科技支撑计划项目(BE2009366); 国家农业科技成果转化基金项目(2009GB2C220412)

作者简介: 孙杨赢(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工。E-mail: sy8611@yahoo.com.cn

* 通信作者: 潘道东(1964—), 男, 教授, 博士, 研究方向为畜产品加工。E-mail: daodongpan@163.com

DS-1 高速组织捣碎机 上海标本模型厂制造; HH-6 数显恒温水浴锅 常州国华电器有限公司; PHS-3L 型精密 pH 计 上海今迈仪器仪表有限公司; LDS5-1 离心机 北京医用离心机厂; 722 型可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 鸡肉蛋白水解产物的制备工艺

鸡脯肉→清洗绞碎→按比例加水匀浆→调节 pH 值→加酶保温酶解→灭酶(100℃, 15min)→离心(4000r/min, 20min)→上清液过滤→鸡肉蛋白酶解液

1.3.2 总氮的测定

采用凯氏定氮法^[9]。

1.3.3 水解度的测定

采用茚三酮比色法^[10]。

1.3.4 肽含量的测定

采用 TCA 法结合双缩脲法^[11]。

1.3.5 还原能力的测定

采用 Wu 等^[12]的方法, 并略做修改。取 0.1mL 样品溶液, 加入 2mL 0.2mol/L 的磷酸缓冲液(pH6.6), 2mL 1g/100mL 铁氰化钾($K_3Fe(CN)_6$)溶液, 混匀后于 50℃水浴下保温 20min, 再加入 2mL 10g/100mL 的三氯乙酸(TCA)溶液, 混匀后于 3000r/min 离心 10min。取离心后的上清液 2mL, 加入 2mL 去离子水和 0.4mL 0.1g/100mL 的 $FeCl_3$ 溶液, 混匀后于 50℃水浴下保温 10min, 于 700nm 波长处测定其吸光度, 样品吸光度越大则其还原能力越大。以去离子水代替样品作为空白对照。

1.3.6 超氧阴离子自由基清除率的测定

采用李艳红等^[13]的方法, 并略做修改。取 0.1mL 样品溶液, 加入 2.8mL 0.1mol/L 的 Tris-HCl 缓冲溶液(pH8.2), 空白对照管以双蒸馏水代替样品, 混匀后于 25℃水浴下保温 10min, 加入 0.1mL 3mmol/L 的邻苯三酚溶液(25℃水浴预热), 迅速混匀并开始计时, 每隔 30s 于 325nm 波长处测定吸光度, 5min 后结束, 以 0.1mL 双蒸水加 2.8mL Tris-HCl 缓冲溶液调零。作吸光度随时间变化的回归方程, 其斜率为邻苯三酚自氧化速率 V , 按下式计算样品对超氧阴离子的清除率:

$$\text{清除率}/\% = (V_{\text{对照}} - V_{\text{样品}})/V_{\text{对照}} \times 100$$

式中: $V_{\text{对照}}$ 为对照组邻苯三酚自氧化速率 $/(\Delta V_{\text{对照}} / \text{min})$; $V_{\text{样品}}$ 为样品组邻苯三酚自氧化速率 $/(\Delta V_{\text{样品}} / \text{min})$ 。

1.3.7 酶种类的确定

参考有关资料^[7,14-16], 选取了中性蛋白酶及木瓜蛋白酶两种酶, 分别对鸡肉蛋白进行水解 2、4、6、8、10h。液固比 2:1(mL/g), 酶用量 1000U/g 原料、自然 pH(6.0)、温度 50℃的条件下进行水解, 并分别测定鸡

肉蛋白酶解液的水解度、肽含量、还原能力和超氧阴离子自由基清除率。

1.3.8 水解条件的确定

首先通过单因素试验, 考察水解时间、液固比、加酶量、pH 值、水解温度对蛋白酶水解效果的影响, 以还原能力和超氧阴离子自由基清除率为评价指标。

然后根据单因素试验结果, 采用响应面设计试验, 运用 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理。以水解时间(X_1)、加酶量(X_2)、水解温度(X_3)为变量, 开展三因素三水平的响应面设计试验, 试验设计见表 1。采用 F 检验对实验数据进行方差分析以评价模型的统计意义。数据分析软件采用 Design-Expert 7.1.3。

表 1 Box-Behnken 试验设计

Table 1 Design of Box-Behnken response surface experiments

变量	水平		
	-1	0	1
X_1 水解时间/h	4	6	8
X_2 加酶量/(U/g)	800	1000	1200
X_3 水解温度/℃	45	50	55

2 结果与分析

2.1 最佳酶种类的确定

酶种类是酶解过程中最重要影响因素之一。结果表明, 采用木瓜蛋白酶水解鸡肉蛋白得到的酶解液的还原能力高达 0.874, 超氧阴离子自由基清除率高达 82.98%, 此时对应的水解度和多肽含量分别为 25.28% 和 32.05mg/mL。而经中性蛋白酶水解鸡肉蛋白得到的酶解液的还原能力最大只有 0.618, 超氧阴离子自由基清除率高达 44.55%, 此时对应的水解度和多肽含量分别为 27.43% 和 31.41mg/mL。可以发现, 两种酶对水解度和多肽含量的影响相似, 而对酶解液的抗氧化活性的影响相差较大。经上述两种酶分别酶解鸡肉蛋白所得到的酶解液的抗氧化活性不同, 是由于酶解产物中短肽的组成及结构不同。木瓜蛋白酶水解过程中作用位点比中性蛋白酶广泛, 得到分子质量较小的多肽, 使更多的活性位点暴露出来, 从而抗氧化能力增强。木瓜蛋白酶对鸡肉蛋白的水解效果远远好于中性蛋白酶水解的效果, 故选用木瓜蛋白酶进行以下的实验。

2.2 单因素试验分析

2.2.1 水解时间对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响

在液固比 2:1(mL/g)、加酶量 1000U/g、温度 50℃的条件下考察水解时间对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响。从图 1 可以看出, 前 6h 还原能力随着

时间的延长上升很快,在第6小时达到最大值0.874。6h之后还原能力有下降的趋势。另外超氧阴离子清除率也在第6小时达到最大,其最大值82.97%,6h后缓慢下降。因此酶解时间以6h为宜。此时对应的水解度和多肽含量分别为25.28%和32.05mg/mL。

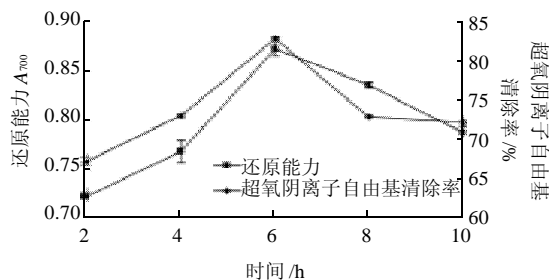


图1 时间对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响

Fig.1 Effect of hydrolysis time on reducing power and scavenging rate on superoxide anion free radicals

2.2.2 液固比对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响

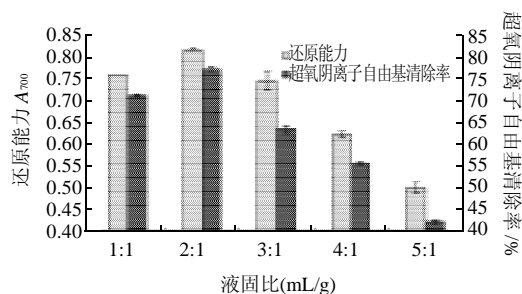


图2 液固比对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响

Fig.2 Effect of material-liquid ratio on reducing power and scavenging rate on superoxide anion free radicals

在加酶量1000U/g、时间6h、温度50℃的条件下考察液固比对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响。结果如图2所示,液固比为2:1(mL/g)时,还原能力和超氧阴离子自由基清除率均达到最大,分别为0.823和77.81%。在液固比小于2:1(mL/g)时,随着液固比的增加,即随着底物浓度的减少,还原能力和超氧阴离子自由基清除率增加,液固比大于2:1(mL/g)时,还原能力和超氧阴离子自由基清除率下降。这是由于底物浓度的减少,底物可以更好地与酶接触,加速了酶解反应。同时酶的用量是以底物来计算的,液固比增加的同时,酶的浓度也有所减少。因此最佳液固比为2:1(mL/g)。此时对应的水解度和多肽含量分别为21.26%和36.54mg/mL。

2.2.3 加酶量对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响

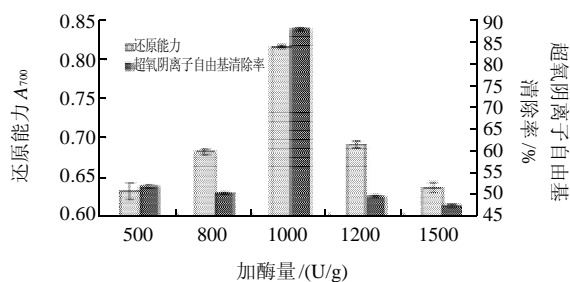


图3 加酶量对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响

Fig.3 Effect of enzyme addition amount on reducing power and scavenging rate on superoxide anion free radicals

在液固比2:1(mL/g),时间6h,温度50℃的条件下考察加酶量对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响。结果如图3所示,加酶量为1000U/g时,还原能力和超氧阴离子自由基清除率均达到最大,分别为0.818和88.19%。因此最佳加酶量为1000U/g。此时对应的水解度和多肽含量分别为26.74%和29.81mg/mL。

2.2.4 pH值对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响

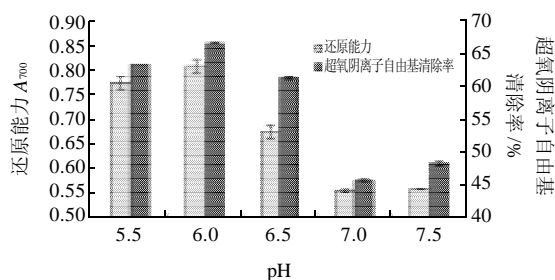


图4 pH值对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响

Fig.4 Effect of pH value on reducing power and scavenging rate on superoxide anion free radicals

在液固比2:1(mL/g)、时间6h、温度50℃的条件下考察pH值对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响。图4表明,在自然pH6.0之前提高pH值,还原能力和超氧阴离子自由基清除率都会增加,而在pH6.0之后提高pH值,还原能力和超氧阴离子自由基清除率都会减小。因此酶解在自然pH值下进行。此时的还原能力、超氧阴离子自由基清除率、水解度和多肽含量分别为0.811、67.00%、23.26%和28.85mg/mL。

2.2.5 水解温度对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响

在液固比2:1(mL/g)、时间6h、加酶量1000U/g的条件下考察温度对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响。结果如图3所示,在50℃之前提高温度,还原能力和超氧阴离子自由基清除率逐渐增加,在50℃之

后提高温度,由于温度升高而使酶的活性降低,反应速率下降,还原能力和超氧阴离子自由基清除率也逐渐降低。还原能力和超氧阴离子自由基清除率随着温度的上升缓慢增加,在50℃时达到最大值,分别为0.732和73.21%。但随着温度的进一步升高,还原能力和超氧阴离子自由基清除率都有所降低,因此最佳温度为50℃。此时对应的水解度和多肽含量分别为26.55%和28.81mg/mL。

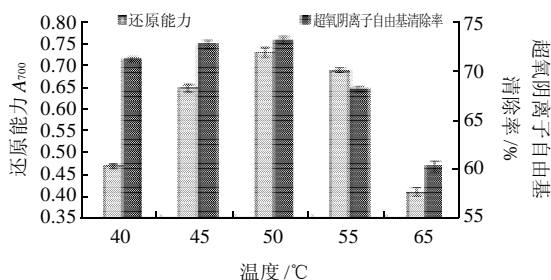


图5 温度对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响
Fig.5 Effect of hydrolysis temperature on reducing power and scavenging rate on superoxide anion free radicals

2.3 响应面试验分析

表2 Box-Behnken 试验设计及其试验结果
Table 2 Design and results of Box-Behnken response surface experiments

序号	X ₁ 时间/h	X ₂ 加酶量/(U/g)	X ₃ 温度/℃	还原能力 A ₇₀₀	超氧阴离子自由基清除率/%
1	-1	-1	0	0.646	57.38
2	1	-1	0	0.705	65.89
3	-1	1	0	0.760	67.79
4	1	1	0	0.756	67.89
5	-1	0	-1	0.633	62.30
6	1	0	-1	0.697	66.57
7	-1	0	1	0.708	59.18
8	1	0	1	0.790	65.42
9	0	-1	-1	0.618	66.07
10	0	1	-1	0.732	71.91
11	0	-1	1	0.749	66.77
12	0	1	1	0.788	72.31
13	0	0	0	0.755	71.85
14	0	0	0	0.767	70.73
15	0	0	0	0.781	69.81
16	0	0	0	0.762	70.94
17	0	0	0	0.776	71.10

由单因素试验可知,不同的液固比影响酶解液的抗氧化活性,为测定抗氧化活性,必须将酶解液量浓缩到同一条件下,但浓缩时耗能过大,所以选择液固比2:1(mL/g)为最适加水量。在一定pH值下酶表现最大活力,过高过低的pH值会改变酶的活性中心构像,或甚至改变整个酶分子的结构使其变性失活,同时,考虑

到pH6.0为鸡肉蛋白酶解液的自然pH值,为防止pH值影响鸡肉蛋白的结构,获得最大的鸡肉蛋白酶解液的抗氧化活性,所以选择自然pH6.0为最适pH值。因此,选用水解时间(X₁)、加酶量(X₂)、水解温度(X₃)为变量,开展三因素三水平的响应面试验。

木瓜蛋白酶水解鸡肉蛋白的响应面分析试验根据Box-Behnken设计进行了17组试验,其中5组中心点重复试验,结果见表2。利用Design Expert 7.1.3软件对表2试验数据进行多元回归拟合,得到还原能力Y₁和超氧阴离子清除率Y₂的标准回归方程,其整体模型的P值都小于0.05,表明该二次方程模型显著。并且由表3和表4可以看出,R²_{Adj}分别为0.9266和0.9533。失拟项分别为0.1374和0.1906,均不显著,说明该模型拟合程度良好,用该模型对木瓜蛋白酶水解鸡肉蛋白的水解过程进行优化是合适的。

表3 还原能力的二次多项模型方差分析表

Table 3 Variance analysis for the fitted quadratic polynomial model of reducing power

变异源	平方和	自由度	均方	F值	P值
总模型	0.046	9	5.144×10^{-3}	23.43	0.0002
失拟项	1.098×10^{-3}	3	3.661×10^{-4}	3.34	0.1374
误差项	4.388×10^{-4}	4	1.097×10^{-4}		
总和	0.048	16		R ² =0.9679	R ² _{Adj} =0.9266

表4 超氧阴离子自由基清除率的二次多项模型方差分析表

Table 4 Variance analysis for the fitted quadratic polynomial model of scavenging rate on superoxide anion free radicals

变异源	平方和	自由度	均方	F值	P值
总模型	304.24	9	33.80	37.27	<0.0001
失拟项	4.19	3	1.40	2.59	0.1906
误差项	2.16	4	0.54		
总和	310.59	16		R ² =0.9796	R ² _{Adj} =0.9533

表5 还原能力的回归方程系数显著性检验

Table 5 Significance test of regression coefficients for the fitted quadratic polynomial model of reducing power

系数来源	回归系数	标准差	F值	P值
总模型	0.77	6.627×10^{-3}	23.43	0.0002*
X ₁	0.025	5.239×10^{-3}	23.00	0.0020*
X ₂	0.040	5.239×10^{-3}	57.57	0.0001*
X ₃	0.044	5.239×10^{-3}	71.74	<0.0001**
X ₁ X ₂	-0.016	7.409×10^{-3}	4.52	0.0711
X ₁ X ₃	0.0045	7.409×10^{-3}	0.37	0.5628
X ₂ X ₃	-0.019	7.409×10^{-3}	6.40	0.0392*
X ₁ ²	-0.033	7.221×10^{-3}	21.01	0.0025*
X ₂ ²	-0.018	7.221×10^{-3}	6.46	0.0386*
X ₃ ²	-0.028	7.221×10^{-3}	15.14	0.0060*

注: **.表示极显著(P<0.01); *.表示显著(P<0.05)。下同。

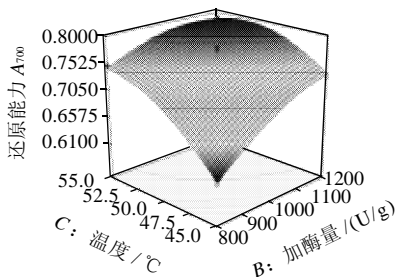
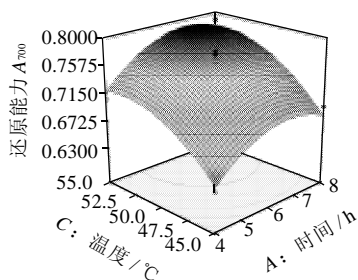
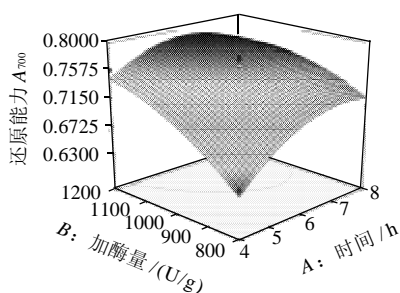
表6 超氧阴离子自由基清除率的回归方程系数显著性检验

Table 6 Significance test of regression coefficients for the fitted quadratic polynomial model of scavenging rate on superoxide anion free radicals

系数来源	回归系数	标准差	F 值	P 值
总模型	70.89	0.43	37.27	< 0.0001**
X_1	2.39	0.34	50.39	0.0002*
X_2	2.97	0.34	78.00	< 0.0001**
X_3	-0.40	0.34	1.38	0.2777
X_1X_2	-2.10	0.48	19.50	0.0031*
X_1X_3	0.49	0.48	1.07	0.3354
X_2X_3	-0.075	0.48	0.025	0.8793
X_1^2	-6.02	0.46	168.42	< 0.0001**
X_2^2	-0.13	0.46	0.073	0.7946
X_3^2	-1.50	0.46	10.38	0.0146*

$$Y_1 = 0.77 + 0.025X_1 + 0.040X_2 + 0.044X_3 - 0.016X_1X_2 + 4.500 \times 10^{-3}X_1X_3 - 0.019X_2X_3 - 0.033X_1^2 - 0.018X_2^2 - 0.028X_3^2$$

$$Y_2 = 70.89 + 2.39X_1 + 2.97X_2 - 0.40X_3 - 2.10X_1X_2 + 0.49X_1X_3 - 0.075X_2X_3 - 6.02X_1^2 - 0.13X_2^2 - 1.5X_3^2$$



固定变量均在 0 水平。下同

图6 不同变量对还原能力的响应面

Fig.6 Response surface plots for the effects of different factors on reducing power

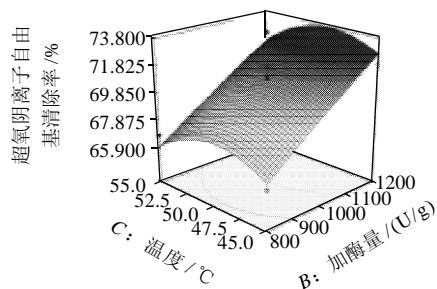
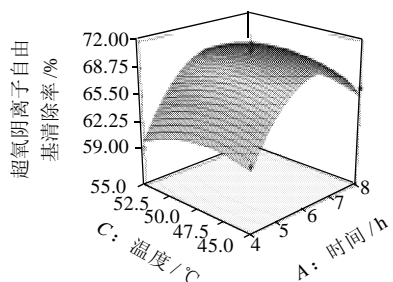
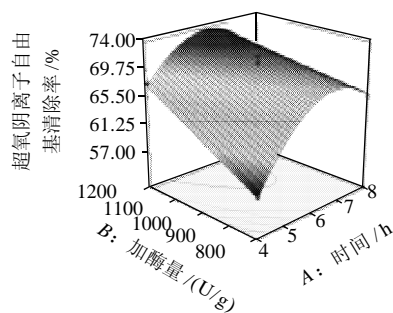


图7 不同变量对超氧阴离子自由基清除率的响应面

Fig.7 Response surface plots for the effects of different factors on scavenging rate on superoxide anion free radicals

从表5可以看出,温度对于还原能力的影响最为显著。从表6可以看出,加酶量对于超氧阴离子自由基清除率的影响最为显著。从表5和表6回归系数显著性检验表明,方程一次项和二次项对还原能力和超氧阴离子自由基清除率的影响是显著的,交互项影响相对不显著,说明响应值的变化较为复杂。

因此,去除影响不够显著的项,对试验初步所得的回归方程进行修正。修正后的方程为:

$$Y_1 = 0.77 + 0.025X_1 + 0.040X_2 + 0.044X_3 - 0.019X_2X_3 - 0.033X_1^2 - 0.018X_2^2 - 0.028X_3^2$$

$$Y_2 = 70.89 + 2.39X_1 + 2.97X_2 - 2.10X_1X_2 - 6.02X_1^2 - 1.5X_3^2$$

根据回归方程可以绘出响应面分析图,如图6、7所示。通过该组图即可对任何两因素交互影响还原能力和超氧阴离子自由基清除率效应进行分析与评价,并从中确定最佳因素水平范围。结果表明,加酶量和温度交互作用对还原能力影响显著,时间和加酶量对超氧阴离子自由基清除率影响显著,其他各个因素的交互作用不是很显著。

2.4 验证实验

根据 Box-Behnken 试验所得的结果和二次多项回归方程, 利用 Design Expert 7.1.3 软件获得了抗氧化活性最高时的各个因素的最佳酶解工艺条件, 即 pH6.0、液固比 2:1(mL/g)、时间 6.15h、加酶量 1200U/g、温度 51.2℃, 进行验证实验, 此时鸡肉蛋白酶解液还原能力达到 0.802, 超氧阴离子自由基清除率达到 73.9%, 这与理论预测值 0.795 和 73.5% 误差均在 ±1% 以内, 说明采用 RSM 优化得到的酶解工艺条件参数准确可靠, 按照建立的模型进行预测在实践中是可行的。

3 结 论

通过单因素分析和响应面试验设计, 确定各因素对鸡肉蛋白酶解液的还原能力的影响顺序为温度>加酶量>时间; 各因素对鸡肉蛋白酶解液的超氧阴离子自由基清除率的影响顺序为加酶量>时间>温度。最后利用响应面分析优化鸡肉蛋白制备抗氧化肽得到的工艺条件为 pH6.0、液固比 2:1(mL/g)、时间 6.15h、加酶量 1200U/g、温度 51.2℃。该条件下制备的鸡肉蛋白酶解液的还原能力和超氧阴离子自由基清除率分别为 0.802 和 73.9%, 与理论预测的相对误差在 ±1% 以内, 说明利用本实验建立的模型的优化结果与实际情况吻合。

参考文献:

- [1] 廖洪波, 马海霞, 尚勇彪, 等. 大力发展鸡肉制品工业[J]. 肉类工业, 2003(12): 44-47.
- [2] 赵谋明, 周雪松, 林伟锋. Alcalase 降解水不溶性鸡肉蛋白规律及其产物清除 DPPH 活性研究[J]. 食品工业科技, 2005, 26(11): 59-61.
- [3] BINSAN W, BENJKUL S, VISESSANGUAN W, et al. Antioxidative activity of Mungoong, an extract paste, from the cephalothorax of white

shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Food Chemistry, 2008, 106(1): 185-193.

- [4] QIAN Z J, JUNG W K, KIM S K. Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide purified from hydrolysate of bullfrog skin, *Rana catesbeiana* Shaw[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(6): 1690-1698.
- [5] REN Jiaoyan, ZHAO Mouming, SHI J, et al. Purification and identification of antioxidant peptides from grass carp muscle hydrolysates by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2008, 108(2): 727-736.
- [6] LI Bo, CHEN Feng, WANG Xi, et al. Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2007, 102: 1135-1143.
- [7] 涂宗财, 郑明, 陈钢, 等. 酶解鱼鳞蛋白制备抗氧化肽的研究[J]. 现代食品科技, 2009, 30(7): 202-203; 206.
- [8] 金螺, 王晶, 李新华. Alcalase 碱性蛋白酶酶解蛋清制备抗氧化活性肽[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(6): 59-62.
- [9] 大连轻工业学院, 华南理工大学, 华南理工学院, 等. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004: 156-160.
- [10] 赵新淮, 冯至彪. 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(2): 178-181.
- [11] 鲁伟, 任国谱, 宋俊梅. 蛋白水解液中多肽含量的测定方法[J]. 食品科学, 2005, 26(7): 169-171.
- [12] WU Huichun, CHEN Huaming, SHIAU Chyuan. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*)[J]. Food Research International, 2003, 36(9/10): 949-957.
- [13] 李艳红, 刘坚, 张涛, 等. 酶解鹰嘴豆蛋白制备抗氧化肽工艺优化研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(1): 268-273.
- [14] 付刚, 李诚, 马长中, 等. 猪骨抗氧化肽的酶解制备研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22(3): 136-138.
- [15] 邱春江, 陈慧. 木瓜蛋白酶水解文蛤蛋白制备小分子肽及其抗氧化研究[J]. 食品科技, 2008(3): 180-182.
- [16] 阎欲晓, 栗桂娇. 文蛤肉酶解液清除自由基能力的研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(10): 60-62.