

酶解豆清液制备生物活性多肽工艺优化及抗氧化能力研究

尹乐斌^{1,2*}, 何平¹, 刘桢丽¹, 李乐乐¹, 杨学为¹, 罗雪韵¹

(1. 邵阳学院食品与化学工程学院, 邵阳 422000; 2. 豆制品加工与安全控制湖南省重点实验室, 邵阳 422000)

摘要: **目的** 探究木瓜蛋白酶水解豆清液制备生物活性多肽的最佳工艺条件, 评价该生物活性多肽的抗氧化能力。**方法** 以三氯乙酸-双缩脲法测得的多肽产率为参考指标, 在单因素实验结果基础上, 通过响应面实验确定酶解豆清液的最优酶解条件, 并通过测定 2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS]、1,1-二苯基-2-三硝基苯胍 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 自由基清除率, 分析豆清多肽的抗氧化活性。**结果** 最佳酶解条件为: 木瓜蛋白酶添加量 2.0%、酶解 pH 5.0、酶解温度 53 °C、酶解时间 7 h, 在该条件下豆清液的多肽产率为 115.50%, 在预测值范围内。抗氧化实验测得 VC(维生素 C, vitamin C)与样品对 ABTS 自由基清除能力的半最大效应浓度 (concentration for 50% of maximal effect, EC₅₀)值分别为 0.003、1.871 mg/mL, 对 DPPH 自由基清除能力 EC₅₀ 值分别为 0.006、6.459 mg/mL, 说明样品具有一定的抗氧化能力。**结论** 木瓜蛋白酶水解豆清液制备生物活性多肽不仅能降低豆清液排放, 而且为提高豆清液附加值提供了技术支撑, 同时也为豆清液生物活性多肽的多元化使用提供来源。

关键词: 木瓜蛋白酶; 豆清液; 活性多肽; 抗氧化能力

Optimization of enzymatic hydrolysis of soybean clear liquid for preparation of biologically active peptides and its antioxidant capacity

YIN Le-Bin^{1,2*}, HE Ping¹, LIU Ya-Li¹, LI Le-Le¹, YANG Xue-Wei¹, LUO Xue-Yun¹

(1. Department of Food and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China;
2. Key Laboratory of Soybean Product Processing and Safety Control in Hunan Province, Shaoyang 422000, China)

ABSTRACT: Objective To explore the best technological conditions for the preparation of biological active peptides by papain enzymatic hydrolysis of soybean clear liquid, and evaluate the antioxidant capacity of the biologically active peptides. **Methods** The peptides yield measured by the trichloroacetic acid-biuret method was the reference index. Based on the results of single-factor experiments, the optimal enzymatic conditions for enzymatic hydrolysis of soybean clear liquid were determined by response surface experiments. The antioxidant activity of soybean clear peptides was analyzed by measuring the free radical scavenging rate of

基金项目: 湖南省科技创新计划项目(2020RC1011)、研究生科研创新项目(CX20201184)、2019年湖南省普通高校青年骨干教师项目

Fund: Supported by the Science and Technology Innovation Program of Hunan Province (2020RC1011), the Hunan Province Postgraduate Research and Innovation Project (CX20201184), and the Young Backbone Teachers of Colleges and Universities in Hunan Province in 2019

*通信作者: 尹乐斌, 博士, 副教授, 主要研究方向为果蔬清洁加工。E-mail: lbyin0731@qq.com

*Corresponding author: YIN Le-Bin, Ph.D, Associate Professor, Department of Food and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China. E-mail: lbyin0731@qq.com

2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) (ABTS) and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). **Results** The best enzymolysis conditions: Papain addition amount 2.0%, enzymolysis pH 5.0, enzymolysis temperature 53 °C, enzymolysis time 7 h. Under these conditions, the peptides yield of soybean clear liquid was 115.50% within the predicted value range. The antioxidation experiment measured that the concentration for 50% of maximal effect (EC₅₀) values of VC (vitamin C) and the sample for ABTS free radical scavenging ability were 0.003, 1.871 mg/mL, and the EC₅₀ values of DPPH free radical scavenging ability were 0.006, 6.459 mg/mL, indicating that the sample had certain antioxidant capacity. **Conclusion** Papain enzymatically hydrolyze of soybean clear liquid to prepare biologically active peptides not only reduces the discharge of soybean liquid, but also provides technical support for increasing the added value of soybean clear liquid. At the same time, it provides source for the diversified use of soybean clear liquid biologically active peptides.

KEY WORDS: papain; soybean clear liquid; biologically active peptide; antioxidant capacity

0 引言

豆清液是豆制品生产过程中形成的具有较多蛋白质、脂肪、糖类、有机酸等有益成分^[1]的混合液, 具有较高营养价值, 加工 1 t 大豆将产生 2~5 t 豆清液, 直接将其排放会造成经济损失以及环境污染。杨凤吾^[2]研究表明豆清液中蛋白质含量高达 4.08 g/L。目前, 针对蛋白质的加工再利用较为经济环保的方法主要采用是酶解工艺, 对蛋白质进行酶解处理可产生具有提供特殊营养^[3]、增强免疫力^[4]、降压^[5]、抗氧化^[6]及保湿护肤等作用的活性多肽。蛋白质水解酶种类繁多, 不同蛋白酶的酶解条件、水解能力及酶解机制不同, 相比其他蛋白酶, 木瓜蛋白酶在未成熟番木瓜的乳汁中大量存在^[7], 具备稳定性强、活性高、无毒性、无副作用、安全卫生、资源丰富、提取便利等优点。

陈金玉等^[8]利用 3 种不同的酶对苦荞蛋白质进行酶解找到最佳酶解条件, 为研究苦荞蛋白抗氧化活性肽奠定了良好基础。徐杨林等^[9]通过酶解苦杏仁醇溶蛋白质制备出具有抗氧化能力的抗氧化肽。同时, 利用微生物发酵生产多肽亦有报道, 尹乐斌等^[10]使用乳酸菌对豆清液酶解来制备活性多肽, 为豆清液开发利用提供了依据。为此, 本研究选择木瓜蛋白酶水解豆清液生产生物活性多肽, 以多肽产率为参考指标进行优化, 并分析其抗氧化活性, 以期扩大木瓜蛋白酶的使用范围, 利用豆制品生产过程中的废物“豆清液”生产出人们所需的大豆活性多肽, 达到节约资源保护环境的目的, 为豆清液的开发与综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

豆清液: 豆制品加工与安全控制湖南省重点实验室提供。

木瓜蛋白酶(5000 U/g, 南宁庞博生物工程有限公司); 三氯乙酸(分析纯, 天津市光复精细化工研究所); 2,2'-联氮-

二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS, 纯度>98.0%, 上海如吉生物科技发展有限公司]; 1,1-二苯基-2-三硝基苯胍 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH, 纯度>97.0%, 美国 Sigma 公司); 无水硫酸铜、氢氧化钠、盐酸(分析纯, 厦门西陇科学股份有限公司); 酒石酸钾钠(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

722 型可见分光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司); SY-1210 恒温水浴槽(南京畅翔仪器设备有限公司); VELOCITY 14R 台式冷冻离心机(英国 Dynamica Scientific 公司); SCIENTZ-18N 冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 工艺流程

大豆多肽的制备工艺如下:

豆清液→调节初始 pH (1 mol/L 氢氧化钠、1 mol/L 盐酸)→木瓜蛋白酶水解→沸水浴灭酶处理→测定大豆多肽含量计算多肽产率→真空冷冻干燥→大豆多肽粗产品→测定 ABTS、DPPH 抗氧化活性

1.3.2 单因素实验

以豆清液体积 100 mL 为基准, 在工艺条件和其他原料添加量相同的情况下设置 1、2、3、4、5 五个梯度, 研究酶解温度 45、50、55、60、65 °C, 木瓜蛋白酶添加量 1.5%、2.0%、2.5%、3.0%、3.5%, 酶解 pH 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5, 酶解时间 4、5、6、7、8 h 对大豆多肽产率的影响。

1.3.3 响应面实验表

响应面优化的因素与水平见表 1。

1.3.4 多肽产率测定方法

(1)双缩脲溶液配制: 分别称取硫酸铜 1.50 g、酒石酸钾钠 6.00 g, 溶解, 同时加入 300 mL 10%氢氧化钠, 最后定容至 1000 mL, 摇匀, 即得双缩脲溶液, 若出现沉淀需重新配制。

表 1 响应面优化的因素与水平表

Table 1 Factors and levels of response surface optimization

水平	因素			
	A 酶添加量 /%	B 酶解 pH	C 酶解温度 /°C	D 酶解时间 /h
-1	2.0	5.0	50	5
0	2.5	5.5	55	6
1	3.0	6.0	60	7

(2)多肽产率: 加入 10%三氯乙酸溶液, 离心 10 min, 取上清液用双缩脲法测定多肽含量, 并通过公式(1)进行计算。

$$D = \left(\frac{C_1}{C_0} - 1 \right) \times 100\% \quad (1)$$

式中: D 为多肽产率, %; C_1 为水解后多肽含量, mg/mL; C_0 为水解前多肽含量, mg/mL。

1.3.5 豆清液水解后的抗氧化研究

在最佳水解条件下水解豆清液后, 将所得水解液进行冷冻干燥处理得到大豆多肽粗提物。通过 ABTS 溶液^[11]和 DPPH 溶液^[12]测定大豆多肽粗提物的抗氧化活性。

1.3.6 数据处理

每组实验重复 3 次, 用 WPS Office、SPSS、Design-Expert V 8.0.6.1 等软件进行误差分析、绘图、方差分析、响应面优化等数据分析。

2 结果与分析

2.1 木瓜蛋白酶水解豆清液单因素结果分析

酶添加量对多肽产率的影响见图 1。在酶添加量小于 2.5%时, 随着酶添加量的升高多肽产率不断增大, 这是由于酶水解蛋白质时酶的量没有达到饱和酶量^[13]; 当酶量达到饱和之后, 酶会继续水解小分子蛋白质及多肽, 蛋白质

水解会更加彻底从而导致多肽含量的降低^[14]。因此木瓜蛋白酶水解豆清液最佳酶添加量为 2.5%。

有研究表明, pH 主要通过影响酶的带电状态^[15]、基团解离状态、空间结构、酶的活性中心及底物结合等来影响酶结构的稳定性, 从而影响酶解反应^[16]。酶解 pH 对多肽产率的影响见图 1, 由图 1 可知, 过酸和过碱都会使得酶活力下降, 致使多肽产率降低; 在豆清液 pH 高于实验酶的最适 pH 条件下, 豆清液中较多的 OH^- 可能会抑制水解反应的发生, 影响酶对蛋白质的水解效果^[17], 单因素 pH 为 5.5 时, 水解效果最好, 多肽产率最高, 因此 pH 选择 5.5。

当温度过高时, 会影响蛋白质与酶促位点的结合而降低酶解产物生成^[18]。酶解温度对酶解制备多肽效果的影响见图 1, 由图 1 变化趋势可以看出木瓜蛋白酶水解豆清液的酶温度为 55 °C 时多肽产率最高, 当温度低于 55 °C, 酶水解的速度不断加快, 当温度高于 55 °C 时, 随着酶解温度升高酶活性降低, 主要是因为酶部分蛋白链断裂, 由此表现多肽含量的降低^[19], 因此酶解温度选择 55 °C。

酶解时间对豆清多肽产率的影响见图 1, 在时间小于 6 h 时, 酶水解蛋白质时间加长, 多肽产率一直增大^[20]; 当酶解时间超过 6 h, 多肽被水解成氨基酸, 含量降低, 从而降低多肽产率^[21]。为了达到多产率并且经济节约, 最终选择水解时间为 6 h 进行后续实验。

2.2 木瓜蛋白酶水解豆清液响应面优化实验

根据单因素实验进行响应面实验, 得到响应面分析方案及实验结果见表 2。4 个单因素[酶添加量(A)、酶解 pH(B)、酶解温度(C)、酶解时间(D)]经过回归拟合后得到水解条件。将表 2 响应面的实验数据进行二次线性回归拟合, 得到回归方程: 多肽产率 $Y=1009.31383-512.08167A+295.91967B-28.66203C-58.23267D+63.56000AB+1.45400AC-7.89500AD+0.49800BC+0.20500BD+0.22850CD+24.23533A^2-48.88467B^2+0.20085C^2+4.81383D^2$ 。

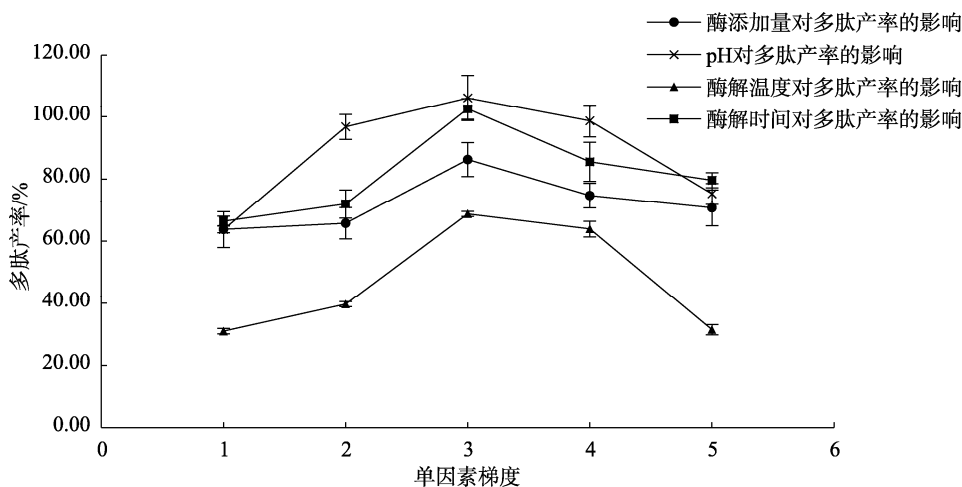


图 1 单因素对多肽产率的影响

Fig.1 Effects of single factor on peptide yield

从表 3 方差分析的结果可以得知, 整体模型 $P=0.0002 < 0.01$, 说明该模型极显著, 失拟项 $P=0.2098 > 0.05$, $R^2=0.8905$, 表明此模型的数据拟合程度优良。该模型可对多肽产率值进行预测和分析。根据方差分析中的 F 值得出对多肽产率影响的 4 个因素的强弱顺序为 $C > D > A > B$, 即酶解温度 > 酶解时间 > 木瓜蛋白酶添加量 > 酶解 pH。

软件分析该模型得到的最佳条件为: 酶添加量 2.0%、酶解 pH 5.0、酶解温度 53.41 °C、木瓜蛋白酶水解豆清液的时间为 7 h, 在此条件下, 木瓜蛋白酶水解豆清液多肽产率预测值为 $115.925\% \pm 0.5060\%$ 。根据生产要求调整参数进行验证实验, 确定最佳条件为: 酶添加量 2.0%、酶解 pH 5.0、酶解温度 53 °C、木瓜蛋白酶水解豆清液的时间为 7 h, 多肽产率为 115.50%, 在预测值范围内。

表 2 响应面分析方案及实验结果
Table 2 Response surface analysis scheme and experimental results

序号	A 酶添加量/%	B 酶解 pH	C 酶解温度/°C	D 酶解时间/h	多肽产率/%
1	2	5.5	50	6	91.411
2	2.5	5	50	6	86.426
3	2.5	5.5	50	5	73.546
4	2.5	5.5	50	7	65.236
5	2.5	6	50	6	27.427
6	3	5.5	50	6	84.348
7	2	5	55	6	108.030

表 2(续)

序号	A 酶添加量/%	B 酶解 pH	C 酶解温度/°C	D 酶解时间/h	多肽产率/%
8	2	5.5	55	5	88.503
9	2	5.5	55	7	95.982
10	2	6	55	6	47.786
11	2.5	5	55	5	109.692
12	2.5	5	55	7	83.933
13	2.5	5.5	55	6	118.417
14	2.5	5.5	55	6	110.108
15	2.5	5.5	55	6	95.566
16	2.5	5.5	55	6	110.939
17	2.5	5.5	55	6	99.305
18	2.5	6	55	5	35.737
19	2.5	6	55	7	41.554
20	3	5	55	6	96.813
21	3	5.5	55	5	74.377
22	3	5.5	55	7	66.067
23	3	6	55	6	36.984
24	2	5.5	60	6	90.165
25	2.5	5	60	6	96.397
26	2.5	5.5	60	5	88.087
27	2.5	5.5	60	7	84.348
28	2.5	6	60	6	42.385
29	3	5.5	60	6	97.643

表 3 多肽产率方差分析表
Table 3 Variance analysis table of peptide yield

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	12994.26	14	928.16	8.13	0.0002	**
A	415.48	1	415.48	3.64	0.0771	
B	228.38	1	228.38	2	0.179	
C	8842.76	1	8842.76	77.48	<0.0001	**
D	508.43	1	508.43	4.45	0.0533	
AB	52.85	1	52.85	0.46	0.5073	
AC	6.2	1	6.2	0.054	0.8191	
AD	5.22	1	5.22	0.046	0.8337	
BC	1009.97	1	1009.97	8.85	0.01	**
BD	62.33	1	62.33	0.55	0.4721	
CD	0.042	1	0.042	3.68E-04	0.985	
A ²	238.12	1	238.12	2.09	0.1706	
B ²	968.8	1	968.8	8.49	0.0113	*
C ²	163.55	1	163.55	1.43	0.2512	
D ²	150.31	1	150.31	1.32	0.2704	
残差	1597.82	14	114.13			
失拟项	1367.54	10	136.75	2.38	0.2098	ns
纯误差	230.28	4	57.57			
总差异	14592.08	28				
	$R^2=0.8905$			$R_{Adj}^2=0.781$		$CV=14.39\%$

注: *: 差异显著($P < 0.05$); **: 差异极显著($P < 0.01$)。

2.3 豆清液多肽的抗氧化能力研究

VC 与大豆多肽对 DPPH 自由基的清除能力见图 2, 由图 2 可知 VC 质量浓度在 0.000~0.016 mg/mL 之间时, 随着浓度的增加, 清除 DPPH 自由基的能力加强, 在 VC 浓度为 0.016 mg/mL 时清除率趋于稳定。当样品大豆多肽浓度为 0.000~0.025 g/mL 时, 随着样品浓度的增多, 清除 DPPH 自由基的能力增强, 大豆多肽质量浓度为 0.025 g/mL 时, DPPH 自由基清除率趋于稳定。经过计算得出 VC、样品对 DPPH 清除能力的 EC_{50} 分别为 0.006、6.459 mg/mL。由此可判断, 样品具备一定的抗氧化能力, 但低于 VC 的抗氧化能力。

由图 3 中的 VC 对 ABTS 自由基的清除率图可以看出, 随着 VC 浓度的不断升高, 清除率不断加大, 当 VC 浓度为 0.0080 mg/mL 时清除率接近 100%; 被木瓜蛋白酶水解后的豆清液经干燥所得的多肽粗提物对 ABTS 自由基的清除率, 在样品浓度小于 0.0125 g/mL 时随着样品浓度的不断升高清除率不断加大, 当样品浓度为 0.0125 g/mL 时清除率接近 100%。经过计算得出 VC 与样品对 ABTS 清除能力的 EC_{50} 依次为 0.003、1.871 mg/mL。研究表明经过酶解豆清液得到的大豆多肽具备一定的抗氧化能力。

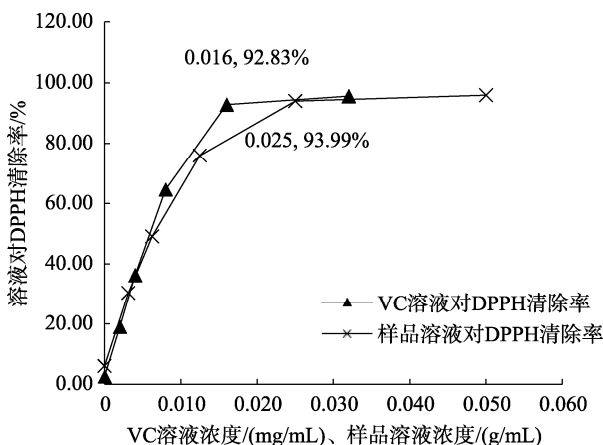


图 2 VC 与样品清除 DPPH 自由基的清除率

Fig.2 Scavenging rates of DPPH radical by VC and samples

3 讨论与结论

本研究以多肽产率为主要指标, 选择的最佳条件为木瓜蛋白酶添加量 2.0%、酶解 pH 5.0、酶解温度 53 °C、酶解时间 7 h。在响应面实验的条件下水解豆清液的多肽产率为 115.50%, 符合模型预测值。通过对单因素实验结果的变化趋势与相关文献的对比分析可知, 主要是通过分析外界因素对酶与底物的结合能力造成的影响来对酶解过程进行探究。将样品与 VC 分别进行 ABTS、DPPH 抗氧化活性评价, 得知粗糙样品具有一定的抗氧化性。与微生物

发酵豆清液制备出多肽的研究相比^[10], 本研究多肽产率高于乳酸菌发酵, 可能是因为乳酸菌发酵时会利用部分蛋白质提供生物体所需能源而降低制备多肽的原材料。但本研究的抗氧化能力较之存在部分欠缺, 出现的原因可能是乳酸菌发酵生产出具有抗氧化能力的其他发酵产物, 而增大酶解液的整体抗氧化活性。本研究对木瓜蛋白酶水解豆清液制备生物活性多肽的工艺条件(木瓜蛋白酶添加量、酶解 pH、酶解温度、酶解时间)进行了优化, 为以后对“废物”豆清液的利用提供了理论基础, 为活性多肽的制备提供了高产率技术。

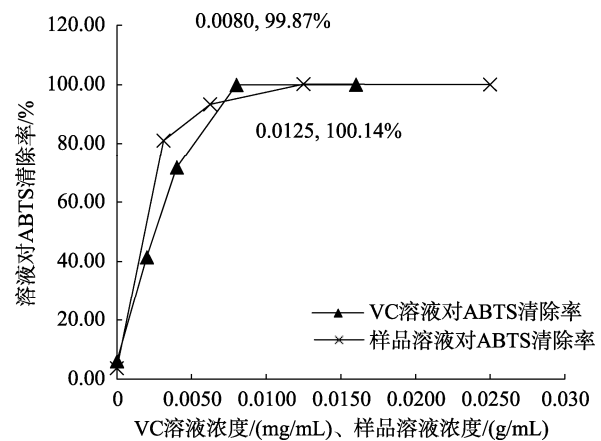


图 3 VC 与样品清除 ABTS 自由基的清除率

Fig.3 Scavenging rates of ABTS radical by VC and samples

参考文献

- [1] 孔彦卓, 尹乐斌, 雷志明, 等. 豆清液综合利用研究进展[J]. 现代农业科技, 2017, 1: 247-249.
KONG YZ, YIN LB, LEI ZM, *et al.* Research progress on comprehensive utilization of soybean processing wastewater [J]. Mod Agric Sci Technol, 2017, 1: 247-249.
- [2] 杨凤吾. 黄浆水发酵生产细菌纤维素的研究及应用[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.
YANG FW. Studies on the production of bacterial cellulose using bean curd wastewater and application of bacterial cellulose [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2009.
- [3] 杨晶, 王雅洁, 许天阳, 等. 一种新型的电磁裂解装置用于制备大豆小分子多肽[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(10): 217-224.
YANG J, WANG YJ, XU TY, *et al.* A new type of electromagnetic cracking device to extract soybean minor peptides [J]. Food Res Dev, 2019, 40(10): 217-224.
- [4] MERAMC, YU W, WU J. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review [J]. Food Chem, 2018, 245(15): 205-222.
- [5] CLAUDIA CL, OMAR GO, CELMA EOM, *et al.* Expression of multiple antihypertensive peptides as a fusion protein in the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. J Appl Phycol, 2018, 30(3): 1701-1709.
- [6] 戴媛, 冷进松. 大豆多肽的功能性质及应用前景[J]. 河南工业大学学

- 报(自然科学版), 2019, 40(2): 132-139.
- DAI Y, LENG JS. Functional properties and application prospect of soybean polypeptide [J]. *J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed)*, 2019, 40(2): 132-139.
- [7] 韦朝英. 木瓜蛋白酶提取及在食品工业中的应用[J]. *农业与技术*, 2018, 38(15): 71-72.
- WEI CY. Extraction of papain and its application in food industry [J]. *Agric Technol*, 2018, 38(15): 71-72.
- [8] 陈金玉, 曲金萍, 张坤生, 等. 酶解制备苦荞蛋白抗氧化肽及其分离纯化研究[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(12): 14-20.
- CHEN JY, QU JP, ZHANG KS, *et al.* Preparation and purification of antioxidant peptide from tartary buckwheat protein by enzymatic hydrolysis [J]. *Food Res Dev*, 2020, 41(12): 14-20.
- [9] 徐杨林, 严宏孟, 高蕾, 等. 苦杏仁醇溶蛋白酶解抗氧化肽的制备工艺优化[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(6): 201-210, 192.
- XU YL, YAN HM, GAO L, *et al.* Optimization of preparation process of antioxidant peptides from amygdala proteolysis [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2021, 37(6): 201-210, 192.
- [10] 尹乐斌, 周娟, 何平, 等. 乳酸菌发酵豆清液制备多肽及其体外抗氧化活性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(11): 131-137.
- YIN LB, ZHOU J, HE P, *et al.* Preparation of peptide from soybean processing waste water by lactic acid bacteria fermentation and its antioxidant activity *in vitro* [J]. *Food Ferment Ind*, 2020, 46(11): 131-137.
- [11] YANG Q, CAI XX, YAN AN, *et al.* A specific antioxidant peptide: Its properties in controlling oxidation and possible action mechanism [J]. *Food Chem*, 2020, 327: 126984.
- [12] PAUL MO, BOLAJI BO, FISAYO T, *et al.* Inhibitory effects of *Mezoneuron benthamianum* root extracts on oral cariogenic microorganisms and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging radical [J]. *Int J Phytomed Phytother*, 2020, 6(1): 416-421.
- [13] 战旭梅, 祁兴普, 赖梦宇, 等. 玉米蛋白酶解产物对 α -淀粉酶活性抑制研究[J]. *粮食与油脂*, 2021, 34(5): 142-146, 155.
- ZHAN XM, QI XP, LAI MY, *et al.* Study on the inhibition of corn protein hydrolysates to α -amylase activity [J]. *J Cere Oils*, 2021, 34(5): 142-146, 155.
- [14] 郑荣, 何云富, 张邵博, 等. 酶解大豆蛋白的制备工艺研究及其在细胞培养中的应用研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2018, 30(9): 1627-1633, 1654.
- ZHENG R, HE YF, ZHANG SB, *et al.* Preparation process of enzymatic hydrolysis of soy protein and its application in cell culture [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2018, 30(9): 1627-1633, 1654.
- [15] 赵谋明, 赵强忠. 食物蛋白酶解理论与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2017.
- ZHAO MM, ZHAO QZ. Food proteolysis theory and technology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2017.
- [16] 李晓, 王颖, 姜晓东, 等. 酶解法提取铜藻中海藻酸钠的工艺优化及物料分析[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(19): 175-179.
- LI X, WANG Y, JIANG XD, *et al.* Extraction process optimization of sodium alginate from *Sargassum horneri* by enzymes method and material analysis [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2019, 40(19): 175-179.
- [17] 马诗文, 高云, 吴金龙, 等. 风味蛋白酶和中性蛋白酶复合酶解大豆分离蛋白制备多肽的研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2017, 7: 43-45.
- MA SW, GAO Y, WU JL, *et al.* Preparation of polypeptide by cohydrolysis of soybean protein isolated with flavor protease and neutral protease [J]. *Cere Feed Ind*, 2017, 7: 43-45.
- [18] 许婷婷, 齐宏涛, 于丽娜, 等. 抑制 α -葡萄糖苷酶的花生蛋白活性肽制备工艺研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(8): 2885-2891.
- XU TT, QI HT, YU LN, *et al.* Preparation technology of peanut α -glucosidase inhibitory activity peptide [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(8): 2885-2891.
- [19] 史洲铭, 陈雪忠, 刘志东, 等. 酶解工艺优化对南极磷虾蛋白功能特性的影响[J]. *渔业现代化*, 2018, 45(6): 67-73.
- SHI ZM, CHEN XZ, LIU ZD, *et al.* Effect of enzymatic hydrolysis optimization on the functional properties of *Euphausia superba* Dana protein [J]. *Fish Mod*, 2018, 45(6): 67-73.
- [20] 陈宏, 章骞, 陈玉磊, 等. 利用牡蛎制备 DPP-IV抑制肽及其活性分析[J]. *食品科学*, 2021, 42(10): 120-126.
- CHEN H, ZHANG Q, CHEN YL, *et al.* Preparation and activity analysis of DPP-IV inhibitory peptides from pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. *Food Sci*, 2021, 42(10): 120-126.
- [21] 郎蒙, 李燕, 蒋蔚薇, 等. 响应面优化南极磷虾粉肽制备工艺及 α -葡萄糖苷酶抑制活性分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2021. DOI: 10.12024/jsou.20210203295
- LANG M, LI Y, JIANG WW, *et al.* Optimization of preparation technology of antarctic krill powder peptide by response surface methodology and analysis of its inhibitory activity on α -glucosidase [J]. *J Shanghai Ocean Univ*, 2021. DOI: 10.12024/jsou.20210203295

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

作者简介



尹乐斌, 博士, 副教授, 主要研究方向为果蔬清洁加工。
E-mail: lbyin0731@qq.com