

中国毛虾自溶前后多肽和氨基酸的变化

Changes of peptides and amino acids in *Acetes chinensis* before and after autolysis

祝宝华¹ 李晓晖^{1,2,3} 杨志艳¹

ZHU Baohua¹ LI Xiaohui^{1,2,3} YANG Zhiyan¹

惠婷婷¹ 徐晨晨¹ 李燕^{1,2,3}

HUI Tingting¹ XU Chenchen¹ LI Yan^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学, 上海 201306; 2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306;
3. 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 上海 201306)

(1. College of Food, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Aquatic Product and Processing and Storage Engineering Technology Research Center, Shanghai 201306, China; 3. Laboratory for Risk Assessment of Quality and Safety of Storage and Preservation of Aquatic Products, Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China)

摘要:目的:为开发毛虾小分子生物活性肽和氨基酸类产品提供依据。方法:测定毛虾内源蛋白酶的 pH 和温度,分析自溶前后产物中多肽、氨基酸和分子量的变化。结果:内源蛋白酶的最适温度为 45 ℃,最适 pH 为 8.0,该条件下反应 4 h 后,多肽质量浓度为 10.36 mg/mL;总游离氨基酸、必需氨基酸以及疏水性氨基酸含量提升,苦味氨基酸占比增加了(4.54±0.02)%,而鲜味氨基酸和甜味氨基酸占比分别降低了(3.46±0.02)%和(1.78±0.01)%;降解产物分子量<1 000 Da 的占比由 70%提升至 87%。结论:自溶技术能降解中国毛虾蛋白并释放小分子肽和氨基酸。

关键词:中国毛虾;内源蛋白酶;自溶;氨基酸;多肽

Abstract: Objective: This study aimed to explore the changes of polypeptides and free amino acids in *Acetes chinensis* before and after autolysis. **Methods:** The optimal pH and temperature of the endogenous protease of the *A. chinensis* were determined and the autolysis conditions were optimized. Then changes of a polypeptide, amino acid and molecular weight in the product before and after autolysis were studied under the optimal conditions. **Results:** The optimum temperature and pH of endogenous protease were 45 ℃ and 8.0 respectively. Under the

optimal autolysis conditions of pH 8.0, temperature 40 ℃, and reaction time 4 h, the polypeptide concentration of *A. chinensis* surimi was 10.36 mg/mL. The content of total free amino acids, essential amino acids and hydrophobic amino acids increased, the proportion of bitter amino acids increased by (4.54±0.02)%, while the proportion of umami amino acids and sweet amino acids decreased by (3.46±0.02)% and (1.78±0.01)% respectively. The proportion of degradation products with molecular weight less than 1 000 Da increased from 70% to 87%. **Conclusion:** Autolysis technology can degrade the protein of *A. chinensis* and release small molecule peptides and amino acids.

Keywords: *Acetes chinensis*; endogenous protease; autolysis; amino acid; polypeptide

中国毛虾(*Acetes chinensis*)又称毛虾、虾米等,是中国渤海、黄海以及东南沿岸浅海近海水域特有的一种虾类品种。据统计^[1],2020 年中国毛虾捕捞量达 36.7 万 t,占虾类捕捞量的 30.45%,位列第一。毛虾的主要加工产品为虾皮、虾酱等,产品附加值低。虾体发生肌肉软化主要由自身存在的内源酶(如胰蛋白酶、组织蛋白酶和钙蛋白酶等)引起^[2]。虾头中的内源酶在一定条件下被激活,并与周围组织发生反应或者导致蛋白质降解,从而导致虾的自溶^[3]。陈诗妍等^[4]研究发现,贮藏过程中,虾头中富含的内源酶对虾体中的肌原纤维蛋白重链和肌动蛋白有较强的降解作用,其中胰蛋白酶对肌原纤维蛋白的降解作用最强,且随着贮藏温度和时间的增大,降解程度越大。

基金项目:国家重点研发计划(编号:2019YFD0902000)

作者简介:祝宝华,男,上海海洋大学在读硕士研究生。

通信作者:李晓晖(1976—),女,上海海洋大学副教授,博士。

E-mail: xhli@shou.edu.cn

收稿日期:2022-11-29 改回日期:2023-05-11

中国毛虾干基中粗蛋白含量为(75.85±0.19)%,必需氨基酸(EAA)含量为39%^[5],是制备生物活性肽和氨基酸的优良来源。且毛虾活性肽具有抗氧化性^[6]、增强免疫^[7]、降血压^[8]等活性。Cao等^[9]利用Alcalase 2.4L酶酶解中国毛虾蛋白,制备了具有自由基清除活性的低分子肽,且分子量为915~207 Da的小分子肽具有较强的DPPH自由基和羟自由基清除活性。许萍等^[10]利用3942中性蛋白酶酶解中国毛虾蛋白,筛选出的二肽(Ser-Pro)具有较高的血管紧张素转移酶(ACE)抑制活性。利用外源酶酶解法以回收蛋白质资源是当前较普遍的低值虾类高值化利用方法^[11],但存在成本较高的问题,且对毛虾内源酶特性和自溶降解产物的研究尚未见报道。有研究^[12-13]显示,虾的自溶产物具有较好的抗氧化和抑菌活性,能够制备生物活性肽。尹雪莲等^[14]采用50℃水浴对鹰爪虾头进行自溶反应,筛选得到了抗冻肽。

研究拟探究中国毛虾内源蛋白酶的酶学特性,分析其自溶的最适条件,以及自溶过程中多肽含量、自溶前后游离氨基酸和自溶产物分子量的变化情况,以期为低值毛虾小分子生物活性肽和氨基酸类产品开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

中国毛虾:新鲜毛虾挑拣分装后于-20℃贮藏,市售;抑肽酶、细胞色素C、杆菌肽、Gly-Gly-Gly、Gly-Gly-Tyr-Arg:上海索莱宝生物科技有限公司;

乙腈、三氟乙酸:美国Sigma-Aldrich公司;

大豆肽:兰州沃特莱斯生物科技有限公司;

酪氨酸:分析纯,天津诺奥科技发展有限公司;

三氯乙酸(TCA)、氢氧化钠、硫酸铜、乙醇等:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

多头磁力搅拌器:HJ-4A型,金坛市科析仪器有限公司;

台式高速离心机:TG16-WS型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

分光光度计:UV-1800PC型,上海美谱达有限公司;

凝胶色谱柱:TSKgelG2000 SWXL型,北京金欧亚科技发展有限公司;

液相色谱仪,E2695型,质谱分析检测技术(上海)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 内源蛋白酶的分离纯化

(1)硫酸铵法分级沉淀:根据陈康玉等^[15]的方法并修改。将粉碎后的中国毛虾糜按 $m_{\text{虾糜}}:V_{\text{缓冲液}}$ 为1:4(g/mL)加入磷酸缓冲溶液(pH 6.8),4℃静置过夜(约

8 h),4 000 r/min离心8 min,收集上清液并加入硫酸铵至20%饱和度,4℃静置4 h;8 000 r/min离心10 min,收集上清液加入硫酸铵至80%饱和度,4℃静置4 h;8 000 r/min离心10 min,收集沉淀。将沉淀按 $m_{\text{沉淀}}:V_{\text{缓冲液}}$ 为1:1(g/mL)加入磷酸缓冲液,4℃下,于8 000 Da透析袋中透析4 h,重复3次,即得粗酶。

(2)Sephadex G-50凝胶层析:采用去离子水平衡柱子(1.6 cm×50 cm),粗酶液用0.45 μm滤膜过滤后,用去离子水洗脱,流速0.5 mL/min,紫外检测波长280 nm,收集出峰组分。冷冻干燥后进行酶学性质研究。

1.2.2 酶活力测定 采用福林酚法^[16]。

1.2.3 最适pH和最适温度的选择 30℃下于不同pH(2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,8.0,9.0,10.0,11.0)下稀释酶液,测定蛋白酶活力;最适pH下,考察温度(30,35,40,45,50℃)对蛋白酶活力的影响。

1.2.4 毛虾蛋白自溶制备多肽单因素试验

(1)自溶温度:固定pH 7.0,反应时间3 h,考察自溶温度(20,30,40,50,60℃)对多肽质量浓度的影响。

(2)自溶pH:固定反应时间3 h,最佳自溶温度,考察自溶pH(5,6,7,8,9,10)对多肽质量浓度的影响。

(3)自溶时间:固定最佳自溶温度,最适pH,考察自溶时间(1,2,3,4,5,6 h)对多肽质量浓度的影响。

1.2.5 正交试验 在单因素试验基础上,选择自溶pH、自溶温度和自溶时间进行三因素三水平的正交试验,优化毛虾蛋白自溶的最佳工艺条件。

1.2.6 多肽含量测定 参照鲁伟等^[17]的方法,利用大豆肽(含量>99%)制作标准曲线方程为 $y=0.0537x$, $R^2=0.9869$ 。

1.2.7 游离氨基酸含量测定 参照程亚美等^[18]的方法。

1.2.8 分子量测定 采用凝胶色谱法(GPC)^[19]。以抑肽酶、细胞色素C、杆菌肽、Gly-Gly-Gly、Gly-Gly-Tyr-Arg为标准品,通过制备洗脱体积—分子量标准曲线和比较样品的洗脱量来计算分子量分布。色谱条件:色谱柱TSK-GELG2000SWxl(7.8 mm×300 mm),流动相为乙腈—水—三氟乙酸($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}:V_{\text{三氟乙酸}}$ 为45:55:0.1),检测波长220 nm,温度30℃。样品经0.22 μm滤膜处理,进样量10 μL,流速0.5 mL/min。

1.2.9 数据处理 所有试验至少重复3次,采用SPSS 20、Origin 8.5等软件进行统计分析和绘图,结果表示为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 内源酶的分离纯化

由图1可知,毛虾虾糜液经纯化后,仅得到单一峰,表明提取物单一,含量高,提取效果好。

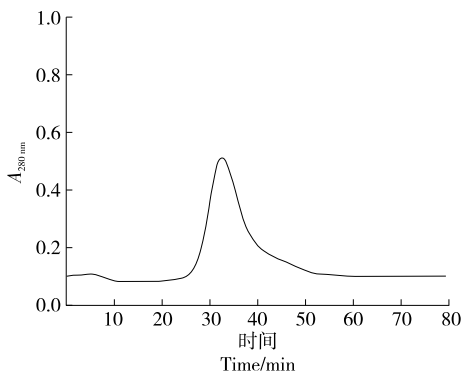
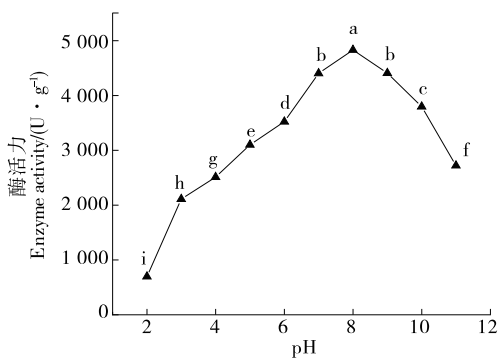
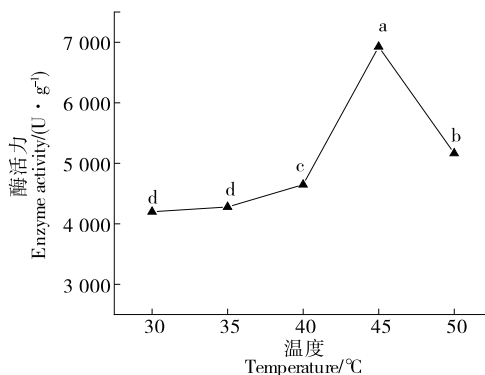


图 1 Sephadex G-50 凝胶层析纯化内源酶
Figure 1 Purification of endogenous enzyme by Sephadex G-50 gel chromatography



(a) 最适 pH



(b) 最适温度

字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 2 最适 pH 和最适温度对酶活力的影响

Figure 2 Effects of optimal pH and temperature on enzyme activity

研究发现,凡纳滨对虾体内碱性蛋白酶的最适温度为 40~60 ℃。

2.3 单因素试验

2.3.1 自溶温度 由图 3 可知,当自溶温度 < 40 ℃ 时,随着自溶温度的升高,多肽质量浓度不断上升。当自溶温度为 40 ℃ 时,多肽质量浓度达到最大 (8.2 mg/mL),此后自溶温度继续上升,多肽质量浓度迅速下降,说明温度过高,内源酶失活,导致自溶水解效果减弱。故选择 40 ℃ 为最适自溶温度。

2.3.2 自溶 pH 由图 4 可知,随着起始 pH 值的增大,多肽质量浓度呈先升高后降低趋势。环境为偏酸性时,多肽质量浓度较低,且随着酸性的减弱,多肽质量浓度缓慢升高。当 pH 值 < 8.0 时,多肽质量浓度急剧升高,在 pH 8.0 时达最大,之后开始下降。这表明毛虾内源蛋白酶属于一种碱性蛋白酶。陈志峰^[22] 研究发现,生晒毛虾内源酶的自溶适宜 pH 为 7.5~8.0,此时氨基态氮含量达到最高。故选择 pH 8.0 为最佳自溶 pH。

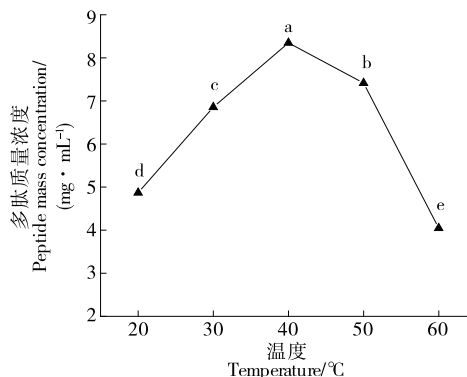
2.3.3 自溶时间 由图 5 可知,毛虾酶解液中多肽质量浓度随自溶时间的延长而逐渐增加。当自溶时间 < 3 h

2.2 酶的最适 pH 和最适温度

由图 2(a)可知,内源蛋白酶在碱性条件下活性较高。当 pH 值为 2.0~8.0 时,随着 pH 值的升高,蛋白酶活力增大,在 pH 8.0 时达最大值 4 818 U/g。当 pH 值 > 8.0 时,蛋白酶活力随 pH 值的增加逐渐降低。王贺等^[20] 研究表明,凡纳滨对虾虾头中碱性蛋白酶的酶活性峰为 pH 8~10。

由图 2(b)可知,内源蛋白酶的最适温度为 45 ℃。当温度为 30~45 ℃ 时,随着温度的上升酶活力增强。当温度 < 40 ℃ 时,酶活力值上升平稳,说明在此温度范围内的蛋白酶较为稳定。当温度由 40 ℃ 升至 45 ℃ 时,酶活力迅速增长并达最大 (6 916 U/g)。当温度为 50 ℃ 时,酶活力显著下降,表明毛虾内源蛋白酶不耐高温。潘滨等^[21]

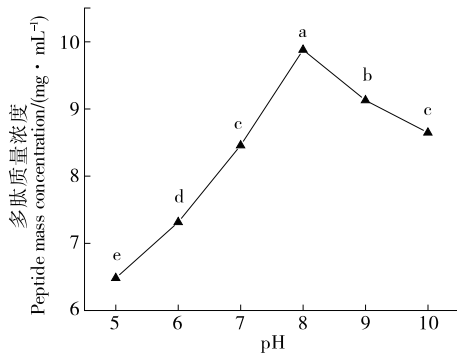
时,多肽质量浓度显著增加 ($P < 0.05$);当自溶时间 > 3 h 时,随着自溶时间的增加,多肽质量浓度的变化趋于平稳。其原因可能是反应初始阶段,蛋白酶的底物丰富,酶活性较高,但随着自溶时间的增加,底物减少,酶活力逐渐下降^[23]。故选择 3 h 为最佳自溶时间。



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 自溶温度对多肽质量浓度的影响

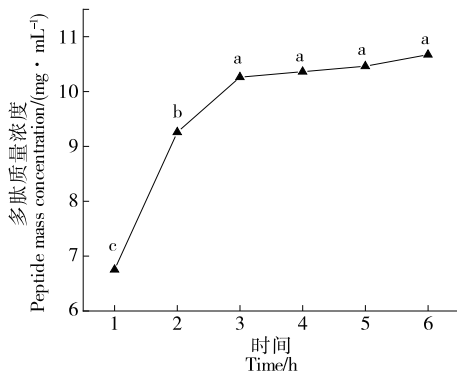
Figure 3 Effects of autolysis temperature on peptide mass concentration



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图4 自溶 pH 对多肽质量浓度的影响

Figure 4 Effects of autolysis pH on peptide mass concentration



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图5 自溶时间对多肽质量浓度的影响

Figure 5 Effects of autolysis time on peptide mass concentration

2.3.4 正交试验 根据单因素试验结果,选择自溶 pH、自溶温度和自溶时间为因素,以多肽质量浓度为响应值,进行三因素三水平正交试验。试验因素水平见表 1,试验设计及结果见表 2。

由表 2 可知,各因素对中国毛虾自溶生产多肽的影响程度依次为自溶时间>自溶 pH>自溶温度,最佳方案为 A₂B₂C₃,即自溶 pH 8.0,自溶温度 40 ℃,自溶时间 4 h,进行 3 次平行验证实验,测得多肽质量浓度平均值为 10.36 mg/mL。

2.4 毛虾自溶水解液中游离氨基酸和分子量变化

2.4.1 游离氨基酸含量变化 由表 3 可知,毛虾自溶水解液中共检出 17 种游离氨基酸(色氨酸未测)。毛虾自

表 1 正交实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	A 自溶 pH	B 自溶温度/℃	C 自溶时间/h
1	7.0	30	2
2	8.0	40	3
3	9.0	50	4

表 2 正交试验设计方案及结果

Table 2 Scheme design and orthogonal test results

试验号	A	B	C	多肽质量浓度/ (mg · mL ⁻¹)
1	1	1	1	6.14
2	1	2	2	8.32
3	1	3	3	8.64
4	2	1	2	9.12
5	2	2	3	10.36
6	2	3	1	7.48
7	3	1	3	9.23
8	3	2	1	7.76
9	3	3	2	8.44
k_1	7.70	8.16	7.13	
k_2	8.99	8.78	8.63	
k_3	8.48	8.19	9.41	
R	1.29	0.62	2.28	

溶后游离氨基酸总含量提高了(26.16±0.02)%,必需氨基酸占比由(40.22±0.42)%增长至(43.64±0.52)%,必需氨基酸与非必需氨基酸的比值由 0.67 提高至 0.77,二者均超过了世界卫生组织(WHO)和粮食及农业组织(FAO)建议的参考值(40%和 0.6)^[24],表明毛虾内源蛋白酶解液具有较高的营养价值。水解产物中的疏水性游离氨基酸含量增加了(25.59±0.08)%。有研究^[25-26]表明,疏水性氨基酸能有效清除 DPPH 自由基和超氧自由基,说明毛虾自溶产物具有良好的抗氧化潜力。鲜味氨基酸比例由(25.49±0.13)%下降至(22.03±0.21)%,甜味氨基酸比例由(13.32±0.34)%下降至(11.54±0.18)%,苦味氨基酸比例由(46.50±0.42)%提升至(51.04±0.32)%,与胡玲萍等^[27]的结果相似。因此,利用中国毛虾自溶液制备调味品时,应慎重选择自溶条件。

2.4.2 多肽分子量分布变化 由图 6 可知,毛虾蛋白经内源酶自溶作用后,能够降解成不同分子量的小分子多肽。其中,分子量>5 000 Da 的多肽占比由自溶前的 18.75%显著下降至 6.22%($P < 0.05$),分子量为 3 000~5 000 Da 的多肽占比由自溶前的 1.62%显著增加至 7.00%($P < 0.05$);分子量为 1 000~3 000 Da 的多肽自溶前占比为 9.48%,自溶后该分子量范围的多肽未测出;而分子量<1 000 Da 的小分子肽占比由自溶前的 70.15%显著增加至 86.77%($P < 0.05$)。综上,毛虾自溶产物中分子量<1 000 Da 的小分子多肽比例明显提升,表明中国毛虾内源蛋白酶对大分子蛋白具有降解作用,自溶法具有制备生物活性肽的潜力。

3 结论

对中国毛虾内源蛋白酶进行了分离纯化。结果表

表 3 样品中游离氨基酸组成[†]
Table 3 Composition of free amino acids in the sample

氨基酸种类	呈味特性	自溶前		自溶后	
		含量/(mg·g ⁻¹)	占比/%	含量/(mg·g ⁻¹)	占比/%
天冬氨酸	鲜	4.49±0.06 ^b	1.92±0.02 ^b	5.99±0.04 ^a	2.03±0.03 ^a
苏氨酸*	甜	12.40±0.17 ^b	5.31±0.14 ^a	14.73±0.11 ^a	5.00±0.07 ^b
丝氨酸	甜	3.82±0.07 ^b	1.64±0.03 ^a	4.87±0.05 ^a	1.65±0.02 ^a
谷氨酸	鲜	15.30±0.22 ^b	6.55±0.16 ^a	15.96±0.12 ^a	5.42±0.07 ^a
甘氨酸	鲜	14.04±0.20 ^a	6.01±0.12 ^a	13.94±0.11 ^a	4.73±0.09 ^b
丙氨酸*	鲜	25.68±0.37 ^b	11.00±0.27 ^a	28.97±0.21 ^a	9.84±0.16 ^b
半胱氨酸	苦/甜	1.50±0.02 ^b	0.64±0.01 ^a	1.87±0.01 ^a	0.63±0.01 ^a
缬氨酸*	苦	11.38±0.16 ^b	4.87±0.09 ^a	13.74±0.09 ^a	4.67±0.06 ^b
甲硫氨酸*	苦/甜	8.07±0.09 ^b	3.46±0.05 ^b	10.93±0.07 ^a	3.71±0.03 ^a
异亮氨酸*	苦	7.57±0.10 ^b	3.22±0.07 ^b	9.82±0.06 ^a	3.33±0.02 ^a
亮氨酸*	苦	15.80±0.17 ^b	6.77±0.14 ^a	22.48±0.20 ^a	7.63±0.15 ^a
酪氨酸	苦	15.40±0.20 ^b	6.60±0.15 ^b	25.01±0.07 ^a	8.49±0.03 ^a
苯丙氨酸*	苦	15.18±0.21 ^b	6.50±0.16 ^b	24.30±0.22 ^a	8.25±0.14 ^a
赖氨酸	苦/甜	23.49±0.31 ^b	10.06±0.23 ^b	32.54±0.23 ^a	11.05±0.18 ^a
组氨酸	苦	4.69±0.06 ^b	2.01±0.01 ^a	5.90±0.03 ^a	2.00±0.01 ^a
精氨酸	苦	39.70±0.48 ^b	17.01±0.32 ^a	49.07±0.36 ^a	16.66±0.12 ^b
脯氨酸*	甜	14.88±0.20 ^a	6.37±0.08 ^a	14.39±0.09 ^b	4.89±0.03 ^b
EAA		93.89±1.22 ^b	40.22±0.42 ^b	128.53±0.98 ^a	43.64±0.52 ^a
EAA/NEAA		—	67.12±0.08 ^b	—	77.23±0.12 ^a
疏水性氨基酸		110.96±0.32 ^b	47.53±0.23 ^a	139.36±0.46 ^a	47.32±0.13 ^a
鲜味氨基酸		59.51±0.28 ^b	25.49±0.13 ^a	64.88±0.16 ^a	22.03±0.21 ^b
甜味氨基酸		31.10±0.82 ^b	13.32±0.34 ^a	33.99±0.48 ^a	11.54±0.18 ^b
苦味氨基酸		109.72±0.74 ^b	46.50±0.42 ^b	150.32±0.63 ^a	51.04±0.32 ^a
总氨基酸		233.45±3.12 ^b		294.51±2.08 ^a	

† EAA 为必需氨基酸;NEAA 为非必需氨基酸;* 为疏水性氨基酸;字母不同表示差异显著(P<0.05)。

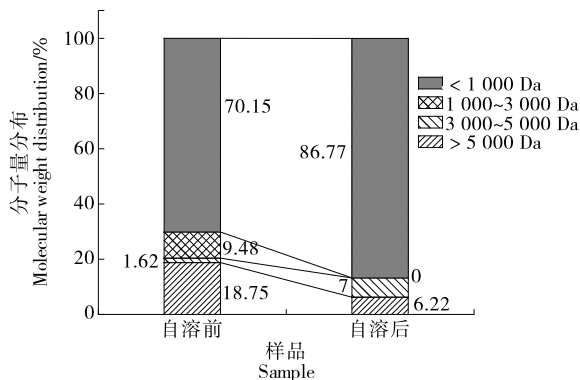


图 6 自溶前后产物的分子量分布

Figure 6 Molecular weight distribution of products before and after autolysis

明,毛虾内源蛋白酶的最适温度为 45 ℃,最适 pH 为 8.0,具有碱性蛋白酶的特性,不耐高温。毛虾内源蛋白酶的最适自溶工艺条件为自溶 pH 8.0、自溶温度 40 ℃、自溶

时间 4 h,该条件下的多肽质量浓度为 10.36 mg/mL。自溶后,总游离氨基酸和必需氨基酸占比分别提升了(26.16±0.02)%和(8.50±0.03)%,疏水性氨基酸占比增加了(25.59±0.08)%,鲜味氨基酸和甜味氨基酸占比分别降低了(3.46±0.02)%和(1.78±0.01)%,而苦味氨基酸占比增加了(4.54±0.02)%;内源蛋白酶降解产物分子量分布<1 000 Da 的占比由 70%提升至 87%。后续将进一步研究自溶技术生产的小分子肽功能活性(如抗氧化、抗菌、降血压等)。

参考文献

[1] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 38.
China Fisheries Law Enforcement, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021: 38.

- [2] 周婷, 水珊珊, 李志鹏, 等. 基于内源酶活性变化的冷藏哈氏仿对虾肌肉品质研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(24): 338-346.
ZHOU T, SHUI S S, LI Z P, et al. Study on muscle quality of sword prawn (*Parapenaeopsis hardwickii*) during cold storage based on changes of endogenous enzyme activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(24): 338-346.
- [3] 孙洁, 李燕, 施文正, 等. 虾类生物活性肽的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(4): 261-268.
SUN J, LI Y, SHI W Z, et al. Research progress of bioactive peptides in shrimps[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(4): 261-268.
- [4] 陈诗妍, 吉宏武, 李承勇, 等. 凡纳滨对虾内源蛋白酶对肌原纤维蛋白的降解作用[J]. 食品工业科技, 2015, 36(5): 149-155.
CHEN S Y, JI H W, LI C Y, et al. Degradation of myofibrillar protein by endogenous proteases from *Litopenaeus vannamei* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(5): 149-155.
- [5] 惠婷婷, 杨志艳, 祝宝华, 等. 膜分离制备中国毛虾多肽及滋味评价[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(20): 51-56.
HUI T T, YANG Z Y, ZHU B H, et al. Preparation of polypeptides from *Acetes chinensis* by membrane separation and evaluation of taste[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(20): 51-56.
- [6] HE H L, CHEN X L, SUN C Y, et al. Preparation and functional evaluation of oligopeptide-enriched hydrolysate from shrimp (*Acetes chinensis*) treated with crude protease from *Bacillus* sp SM98011[J]. Bioresource Technology, 2006, 97(3): 385-390.
- [7] 杨志艳, 惠婷婷, 祝宝华, 等. 中国毛虾活性肽对免疫抑制小鼠免疫调节作用的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(9): 380-386.
YANG Z Y, HUI T T, ZHU B H, et al. Effects of peptides from *Acetes chinensis* on immunoregulation in immunocompromised mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(9): 380-386.
- [8] CAO W H, ZHANG C H, JI H W, et al. Optimization of peptic hydrolysis parameters for the production of angiotensin I-converting enzyme inhibitory hydrolysate from *acetes chinensis* through plackett-burman and response surface methodological approaches[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012, 92(1): 42-48.
- [9] CAO W H, ZHANG C H, HONG P Z, et al. Optimising the free radical scavenging activity of shrimp protein hydrolysate produced with alcalase using response surface methodology[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2009, 44(8): 1 602-1 608.
- [10] 许萍, 薛长湖, 张香治, 等. 3942 中性蛋白酶酶解中国毛虾蛋白制备血管紧张素转移酶抑制肽[J]. 中国水产科学, 2005, 12(4): 501-505.
XU P, XUE C H, ZHANG X Z, et al. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from 3942 neutral proteinase digests of *Acetes chinensis* proteins[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2005, 12(4): 501-505.
- [11] VICENTE F A, VENTURA S P M, PASSOS H, et al. Crustacean waste biorefinery as a sustainable cost-effective business model[J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 442: 135937.
- [12] NIKOO M, XU X M, M J R, et al. Autolysis of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing by-products: Enzymatic activities, lipid and protein oxidation, and antioxidant activity of hydrolysates[J]. Food Bioscience, 2021, 39: 100844.
- [13] PEREIRA N D L A, FANGIO M F, RODRIGUEZ Y E, et al. Characterization of liquid protein hydrolysates shrimp industry waste: Analysis of antioxidant and microbiological activity, and shelf life of final product [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2022, 46(8): e15526.
- [14] 尹雪莲, 白雪, 朱凯, 等. 虾副产物自溶过程研究与潜在抗冻肽鉴定[J]. 食品工业科技. 2023, 44(6): 33-40.
YIN X L, BAI X, ZHU K, et al. Autolysis process of shrimp by-products and identification of potential antifreeze peptides [J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(6): 33-40.
- [15] 陈康玉, 彭珩, 何翠萍, 等. 南美白对虾虾头内源酶的分离纯化[J]. 现代食品科技, 2010, 26(6): 573-576, 581.
CHEN K Y, PENG H, HE C P, et al. Separation and purification of endogenous enzymes from the head of *Penaeus vannamei* [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(6): 573-576, 581.
- [16] 曹慧, 张腾月, 赵龙妹, 等. 土壤中高产蛋白酶菌株产酶条件及酶学性质[J]. 微生物学通报, 2020, 47(7): 2 072-2 081.
CAO H, ZHANG T Y, ZHAO L M, et al. Identification and characterization of a high protease-producing strain from soil[J]. Microbiology China, 2020, 47(7): 2 072-2 081.
- [17] 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.
LU W, REN G P, SONG J M, et al. Determination of content of peptides in protein hydrolysates [J]. Food Science, 2005, 26(7): 169-171.
- [18] 程亚美, 赵金良, 宋凌云, 等. 盐度、碱度对尼罗罗非鱼生长和肌肉品质的影响[J]. 水产科学, 2020, 39(3): 341-349.
CHENG Y M, ZHAO J L, SONG L Y, et al. Effects of salinity and alkalinity on growth and muscle quality of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* [J]. Fisheries Science, 2020, 39(3): 341-349.
- [19] 郎蒙. 脱脂南极磷虾粉降血糖肽的酶解制备及活性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2021: 13.
LANG M. Enzymatic preparation and activity study of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides derived from defatted Antarctic Krill powder[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2021: 13.
- [20] 王贺, 曹文红, 章超桦, 等. UV-C 辐照对凡纳滨对虾虾头主要内源酶酶学性质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(19): 32-37.
WANG H, CAO W H, ZHANG C H, et al. Effects of UV-C irradiation on enzymatic properties of main endogenous enzymes in the head of *Litopenaeus vannamei* [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(19): 32-37.
- [21] 潘滨, 谢月霞, 戴君勇. 凡纳滨对虾蛋白酶的分离纯化及生化特性[J]. 水产科学, 2009, 28(12): 763-766.
PAN B, XIE Y X, DAI J Y. Purification and biochemical properties of protease from white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Fisheries Science, 2009, 28(12): 763-766.

(下转第 200 页)

- 艺优化及功能特性研究[J]. 中国调味品, 2021, 46(12): 42-48.
- WU L P, SUN H, ZHU T T, et al. Study on process optimization and functional properties of soluble dietary fiber from fermented bamboo shoots[J]. China Condiment, 2021, 46(12): 42-48.
- [9] 万仁口, 李功景, 贺杨正, 等. 竹笋膳食纤维的结构特性及其功能性质[J]. 中国食品学报, 2021, 21(5): 75-82.
- WAN R K, LI G J, HE Y Z, et al. Structural and functional properties of dietary fiber from bamboo shoots[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(5): 75-82.
- [10] DANG T, VASANTHAN T. Modification of rice bran dietary fiber concentrates using enzyme and extrusion cooking [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 773-782.
- [11] 任颢珂, 陈莉, 卢红梅, 等. 响应面法优化薏仁米糠蛋白碱提工艺的研究[J]. 中国酿造, 2017, 36(8): 99-103.
- REN X K, CHEN L, LU H M, et al. Optimization of alkali extraction process of adlay bran protein by response surface methodology[J]. China Brewing, 2017, 36(8): 99-103.
- [12] 杨华连, 陈莉, 卢红梅, 等. 薏仁米糠多肽的功能特性研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(4): 126-130.
- YANG H L, CHEN L, LU H M, et al. Functional properties of adlay bran polypeptide[J]. China Brewing, 2019, 38(4): 126-130.
- [13] 蔡莹. 超临界 CO₂ 流体提取薏仁米糠油及其分析[D]. 上海: 上海交通大学, 2013: 51-54.
- CAI Y. Technology for supercritical CO₂ extraction of pearl barley rice bran oil and composition analysis[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2013: 51-54.
- [14] BENITEZ V, REBOLLO-HERNANZ M, HERNANZ S, et al. Coffee parchment as a new dietary fiber ingredient: Functional and physiological characterization [J]. Food Research International, 2019, 122: 105-113.
- [15] GU M, FANG H, GAO Y, et al. Characterization of enzymatic modified soluble dietary fiber from tomato peels with high release of lycopene[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 99: 105321.
- [16] GAN J P, HUANG Z Y, YU Q, et al. Microwave assisted extraction with three modifications on structural and functional properties of soluble dietary fibers from grapefruit peel[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101: 105549.
- [17] LIU Y L, ZHANG H B, YI C P, et al. Chemical composition, structure, physicochemical and functional properties of rice bran dietary fiber modified by cellulase treatment[J]. Food Chemistry, 2021, 342: 128352.
- [18] LI B, YANG W, NIE Y, et al. Effect of steam explosion on dietary fiber, polysaccharide, protein and physicochemical properties of okara[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 94: 48-56.
- [19] 李梁, 聂成玲, 薛蓓, 等. 响应面法优化酶辅助提取苹果梨渣中可溶性膳食纤维工艺及品质分析[J]. 中国食品添加剂, 2016, 16(12): 156-163.
- LI L, NEI C L, XUE B, et al. Optimization of SDF extraction in pingguoli pear residue using cellulase by response surface methodology and quality analysis[J]. China Food Additives, 2016, 16(12): 156-163.
- [20] 唐孝青, 焦凌霞, 樊明涛, 等. 梨渣可溶性膳食纤维的提取及抗氧化特性[J]. 西北农业学报, 2010(9): 97-102.
- TANG X Q, JIAO L X, FAN M T, et al. Extraction and antioxidant properties of soluble dietary fiber from pear residue [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2010(9): 97-102.
- [21] 朱仁威, 黄亮, 谭沙, 等. 米糠膳食纤维提取和改性及功能性质的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(5): 12-16.
- ZHU R W, HUANG L, TAN S, et al. Research progress on extraction, modification and functional properties of rice bran dietary fiber[J]. Cereals & Oils, 2022, 35(5): 12-16.
- [22] 马梦梅, 木泰华, 闫治斌, 等. 茴香及其秸秆膳食纤维的组成成分、结构与物化功能特性[J]. 中国食品学报, 2016, 16(5): 205-216.
- MA M M, MU T H, YAN Z B, et al. Chemical composition, structure, physicochemical and functional properties of dietary fiber obtained from fennel and its straw [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(5): 205-216.
- [25] JE J Y, PARK S Y, HWANG J Y, et al. Amino acid composition and in vitro antioxidant and cytoprotective activity of abalone viscera hydrolysate [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 16: 94-103.
- [26] UDENIGWE C C, ALUKO R E. Chemometric analysis of the amino acid requirements of antioxidant food protein hydrolysates [J]. Sciences International Journal of Molecular, 2011, 12(5): 3 148-3 161.
- [27] 胡玲萍, 张晓梅, 张鸿伟, 等. 南极磷虾自溶前后氨基酸和胰蛋白酶降解产物的变化[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 1-6.
- HU L P, ZHANG X M, ZHANG H W, et al. Changes in amino acids and tryptic peptides from Antarctic krill protein before and after autolysis[J]. Food Science, 2019, 40(11): 1-6.

(上接第 153 页)

- [22] 陈志锋. 生晒毛虾酶解制备虾风味基料的研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(4): 19-22, 76.
- CHEN Z F. Research on preparation of shrimp flavoring base from dried[J]. Food & Machinery, 2012, 28(4): 19-22, 76.
- [23] 薛勇, 赵明明, 王超, 等. 响应面法优化南极磷虾蛋白自溶工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(4): 346-348, 373.
- XUE Y, ZHAO M M, WANG C, et al. Optimization of autohydrolysis of antarctic krill by response surface method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(4): 346-348, 373.
- [24] FAO/WHO. Protein quality evaluation: Reports of a joint FAO/WHO expert consultation[J]. FAO Food and Nutrition Paper, 1991, 51: 1-66.