

doi: 10.11830/ISSN.1000-5013.201704016



海参内脏酶解制备海参肽工艺

杨东达, 秦洪, 黄雅燕, 叶 静, 张学勤, 肖美添

(华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 以蛋白水解度和酶解液中海参肽相对分子质量的分布作为指标,考察不同蛋白酶的酶解效果,筛选水解海参内脏的最适合蛋白酶,并通过单因素实验和正交实验优化酶解工艺.实验结果表明:胰蛋白酶的水解效果最佳,可用于水解海参内脏制备海参肽;在底物质量分数为 1.0%,加酶量为 $0.375\text{ L mkat} \cdot \text{g}^{-1}$,pH 值为 8.0,酶解温度为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$,水解时间为 5 h 的最优酶解条件下,海参内脏的水解度可达到 48.90%,酶解液中的多肽(2 000~5 000 u)质量分数为 52.68%,寡肽(含氨基酸)($\leq 2\text{ }000\text{ u}$)质量分数为 47.25%.

关键词: 海参肽; 海参内脏; 胰蛋白酶; 酶解法; 水解度

中图分类号: Q 814

文献标志码: A

文章编号: 1000-5013(2017)04-0531-06

Study on Preparation of Sea Cucumber Peptides by Enzymatic Hydrolysis of Sea Cucumber Viscera

YANG Dongda, QIN Hong, HUANG Yayan,
YE Jing, ZHANG Xueqin, XIAO Meitian

(College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

Abstract: The degree of hydrolysis and molecular weight distribution of peptides were employed as indicators to investigate the enzymatic hydrolysis effects of different proteases and screen out the suitable protease for the hydrolysis of sea cucumber viscera. Single factor and orthogonal experiments were used to optimize the hydrolysis process. The results showed that trypsin had the best hydrolysis efficacy and could be used for the preparation of sea cucumber peptides from sea cucumber viscera. The optimum hydrolysis conditions were as follows: percentage of substrate quality 1.0%, enzyme dosage $0.375\text{ L mkat} \cdot \text{g}^{-1}$, pH=8.0, temperature $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, and enzymolysis time 5 h. The degree of hydrolysis was 48.90% under the optimum hydrolysis conditions. The content of polypeptides (2 000-5 000 u) and oligopeptides (containing amino acid)($\leq 2\text{ }000\text{ u}$) in the hydrolysate were 52.68% and 47.25% respectively.

Keywords: sea cucumber peptide; sea cucumber viscera; trypsin; enzymatic hydrolysis method; degree of hydrolysis

海参中的蛋白质是其重要的营养成分,并且含有甘氨酸、谷氨酸、天门冬氨酸等近 20 种氨基酸,且多为人体必需氨基酸^[1].生物代谢实验^[2]已经证明,大部分蛋白质是通过多肽形式被人体吸收.海参肽的提取方法主要有水解法和酶解法.但由于水解法主要是利用酸或者碱水解蛋白质,其反应条件剧烈,严重破坏海参肽的结构,而且强酸、强碱容易腐蚀设备,对生产设备要求高,因此,酶解法成为近年来制备海参肽的主要方法.目前,海参肽大多是由海参体壁酶解制得,而海参价格昂贵,提取成本高.我国海参年产量超过 14 万 t^[3],在海参加工过程中,大量的海参内脏被废弃,造成海洋生物资源的极大浪费,这

收稿日期: 2017-02-22

通信作者: 肖美添(1968-),男,教授,博士,主要从事海洋功能产品开发的研究. E-mail:mtxiao@hqu.edu.cn.

基金项目: 福建省海洋高新产业发展专项项目(2013019);福建省泉州市科技计划重点项目(2014Z100)

些被废弃的海参内脏是制备海参肽和海参多糖等活性组分的良好原料. 据报道, 海参内脏中含有丰富的蛋白、多糖、脂肪、皂苷等营养成分^[4-5], 具有延缓衰老、增强免疫力、抗肿瘤、抗疲劳、抗凝血等活性^[6-7], 但有关海参内脏制备海参肽鲜有报道. 因此, 本文以海参内脏为原料, 采用酶法制备海参肽, 以蛋白水解度和酶解液中海参肽相对分子质量分布为指标, 筛选合适的蛋白酶, 并优化其酶解工艺.

1 实验部分

1.1 材料与仪器

1) 材料. 实验的海参内脏均为刺参(*Stichopus japonicas*), 产地为福建霞浦; 中性蛋白酶($1.667\text{ mkat} \cdot \text{g}^{-1}$)、碱性蛋白酶($3.334\text{ mkat} \cdot \text{g}^{-1}$)、胰蛋白酶($4.167\text{ mkat} \cdot \text{g}^{-1}$)、木瓜蛋白酶($1.667\text{ mkat} \cdot \text{g}^{-1}$)、菠萝蛋白酶($8.335\text{ mkat} \cdot \text{g}^{-1}$), 均购自上海金穗生物科技有限公司; 已知相对分子质量(M_r)的标准品: 细胞色素 C(12 500), 胰蛋白酶抑制剂(6 511.44), 杆菌肽(1 422.69), Val-Tyr-Val(379.5), Gly-Tyr(238.2), 均购于中国计量科学研究院; 乙腈, 三氟乙酸, 色谱纯; 超纯水; 其他试剂均为分析纯.

2) 仪器. 精密 pH 计(美国奥豪斯仪器有限公司), Waters 1515 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), TSK 凝胶渗透色谱柱(SRT SEC-100, $\Phi 7.8\text{ mm} \times 300\text{ mm}$, 江苏苏州赛分科技有限公司), DK-S12 型电热恒温水浴锅(上海森信实验仪器有限公司), UV-1800 型紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司), TG6-WS 型台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司), 电子天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司).

1.2 实验方法

1.2.1 海参内脏的预处理 海参内脏洗净、冻干、粉碎, 并经 90 目筛网过滤, 备用.

1.2.2 海参内脏酶解最佳蛋白酶的筛选 准确称取一定量的海参内脏粉于反应器中, 加入 100 mL 的蒸馏水, 在不同蛋白酶最适 pH 值和温度条件下, 分别向一定量底物溶液中加入中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶、胰蛋白酶和菠萝蛋白酶, 加酶量 $0.200\text{ mkat} \cdot \text{g}^{-1}$, 酶解 5 h, 取出煮沸 5 min, 冷却, 离心($4\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 20 min). 取上清液定容至 100 mL, 测定其可溶性多肽质量分数和水解度, 并根据水解度及酶解液中海参肽的相对分子质量分布筛选最适蛋白酶.

1.2.3 最佳蛋白酶单因素酶解实验 以底物质量分数为 1.0%、加酶量为 $0.375\text{ mkat} \cdot \text{g}^{-1}$ 、酶解温度为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、酶解时间为 5 h 为单因素实验的基础条件, 以水解度为指标, 分别考察底物质量分数、加酶量、酶解温度和酶解时间对水解度的影响.

1.2.4 正交试验设计 综合考虑各因素对水解度的影响, 在单因素实验的基础上, 选择底物质量分数(A)、酶解温度(B)、酶解时间(C)和加酶量(D)等 4 个因素, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计对海参内脏酶解条件进行优化. 表 1 为正交试验因素水平表. 表 1 中: ω (底物)为底物质量分数; ρ 为加酶量; θ 为酶解温度; t 为酶解时间.

1.3 分析方法

1.3.1 海参内脏基本质量分数的测定 分别采用 GB/T 5009.3—2003 中的质量法^[8], GB/T 5009.6—2003 中的索氏提取法^[9], GB/T 5009.4—2010 中的马弗炉高温灰化法^[10], GB/T 5009.5—2010 中的微量凯氏定氮法^[11]和 GB/T 5009.8—2008 中的酸水解^[12]测定海参内脏的水分、脂肪、灰分、总蛋白和总糖的质量分数.

1.3.2 可溶性多肽质量分数的测定 采用 Folin-酚试剂法^[13]测定, 取酶解液, 定容至 100 mL 量瓶, 取 5.0 mL 溶液, 并加入 5.0 mL, 质量分数为 10% 的三氯乙酸溶液, 混合振荡, 离心($4\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 20 min); 取上清液 1.0 mL 溶液, 加入 5.0 mL 的福林酚试剂甲液, 混匀, 于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下放置 10 min; 然后, 加入 0.5 mL 福林酚试剂乙液, 立即振荡混匀, 在 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保温 30 min. 以不加标准蛋白试管中的溶液为空白, 在 650 nm 下测定吸光度值($D(650)$), 代入由牛血清白蛋白为标准品绘制的标准曲线中, 即可求得可溶性蛋白的质量分数.

表 1 正交试验因素水平表

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	A	B	C	D
	$\omega(\text{底物})/\%$	$\theta/^{\circ}\text{C}$	t/h	$\rho/\text{mkat} \cdot \text{g}^{-1}$
1	0.5	30	4	0.250 1
2	1.0	37	5	0.375 1
3	2.0	40	6	0.500 1

1.3.3 水解度的测定 采用三氯乙酸(TCA)沉淀法^[14]测定水解度 DH($DH=\frac{N_2-N_1}{N_0-N_1}\times 100\%$, 其中: N_2 为反应后酶解液中 10%TCA 可溶性多肽质量分数; N_1 为反应前蛋白液中 10%TCA 可溶性多肽质量分数; N_0 为海参内脏中总蛋白质量分数).

1.3.4 酶解液中海参肽相对分子质量分布的测定 采用高效液相色谱法(HPLC)测定海参肽的相对分子质量分布. 参照黄雅燕等^[15]的方法并略作改进,即色谱柱为 SRT SEC-100, $\Phi 7.8\text{ mm}\times 300\text{ mm}$, 流动相为乙腈:水:三氟乙酸(体积比为 20.0:80.0:0.1),检测波长为 220 nm,流速为 0.5 mL \cdot min⁻¹,进样量为 10 μ L,柱温为 30 $^{\circ}$ C.

以不同相对分子质量标准品保留时间 R_t 为横坐标,以相对分子质量对数 $\lg M_r$ 为纵坐标,绘制 R_t - $\lg M_r$ 标准曲线,相对分子质量校正的线性回归方程为 $\lg M_r=4.97-0.078\times R_t$, $R^2=0.995\ 5$. 取酶解液适量,经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,进行色谱分析,计算相对分子质量,并采用峰面积归一法计算海参肽相对分子质量的分布情况.

1.3.5 数据处理及分析 采用 Origin 9.0 和 SPSS 17.0 统计软件对实验结果进行处理.

2 实验结果与分析

2.1 海参内脏基本组成

海参内脏基本组成,如表 2 所示.由表 2 可知:洗净干燥后的海参内脏中,总蛋白质质量分数最高,占总质量的 59.50%,其次为灰分和粗脂肪.因此,海参内脏可以做为制备海参肽良好的蛋白来源.

表 2 海参内脏中主要化学成分
Tab. 2 Main chemical compositions of sea cucumber

成分	总蛋白质	多糖	粗脂肪	水分	灰分
$w/\%$	59.50	3.25	7.64	8.30	11.00

2.2 蛋白酶水解海参内脏效果

不同蛋白酶水解海参内脏效果的比较,如表 3 所示.由表 3 可知:碱性蛋白酶水解度最大,其次为胰蛋白酶和中性蛋白酶,但 3 种蛋白酶水解度相差不大,因此,进一步比较海参肽中相对分子质量分布,作为判断酶解效果优劣的指;胰蛋白酶酶解液中寡肽质量分数最高,风味蛋白酶次之.

表 3 蛋白酶酶解效果的比较
Tab. 3 Enzymolysis effect comparison of proteases

种类	酶解条件	水解度/%	相对分子质量分布/%	
			多肽	寡肽(含氨基酸)
中性蛋白酶	45 $^{\circ}$ C, pH =7.0	41.34	71.89	27.84
碱性蛋白酶	50 $^{\circ}$ C, pH =10.2	43.41	72.52	27.20
风味蛋白酶	53 $^{\circ}$ C, pH =6.5	16.11	60.94	39.32
胰蛋白酶	37 $^{\circ}$ C, pH =8.0	41.95	52.68	47.25
菠萝蛋白酶	53 $^{\circ}$ C, pH =7.0	37.97	78.57	20.89

胰蛋白酶酶解液中多肽和寡肽的相对分子质量分布,如图 1 所示.由图 1 可知:相对分子质量 $\leq 2\ 000\text{ u}$ 的寡肽(含氨基酸)质量分数为 47.25%,而相对分子质量为 2 000~5 000 u 的多肽质量分数为 52.68%.因此,综合考虑海参内脏的水解度及海参肽中相对分子质量分布,选择胰蛋白酶作为最佳水解用酶.

2.3 胰蛋白酶酶解条件的优化

按照酶解工艺,以蛋白水解度为指标,

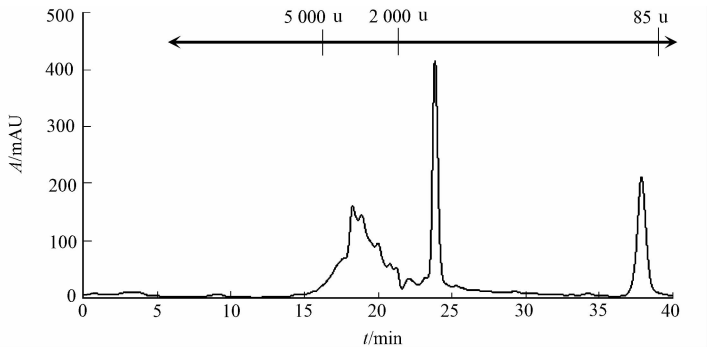


图 1 胰蛋白酶酶解液的液相色谱图
Fig. 1 HPLC diagram of trypsin hydrolysate

考察底物质量分数、加酶量、酶解温度和酶解时间对水解度的影响,如图 2 所示.由图 2 可知:各个因素对酶解过程都有一定程度的影响,经优化,底物质量分数为 1.0%,加酶量为 0.375 1 mkat · g⁻¹,温度为 37 ℃,时间为 5 h 是胰蛋白酶酶解海参内脏的最佳条件.

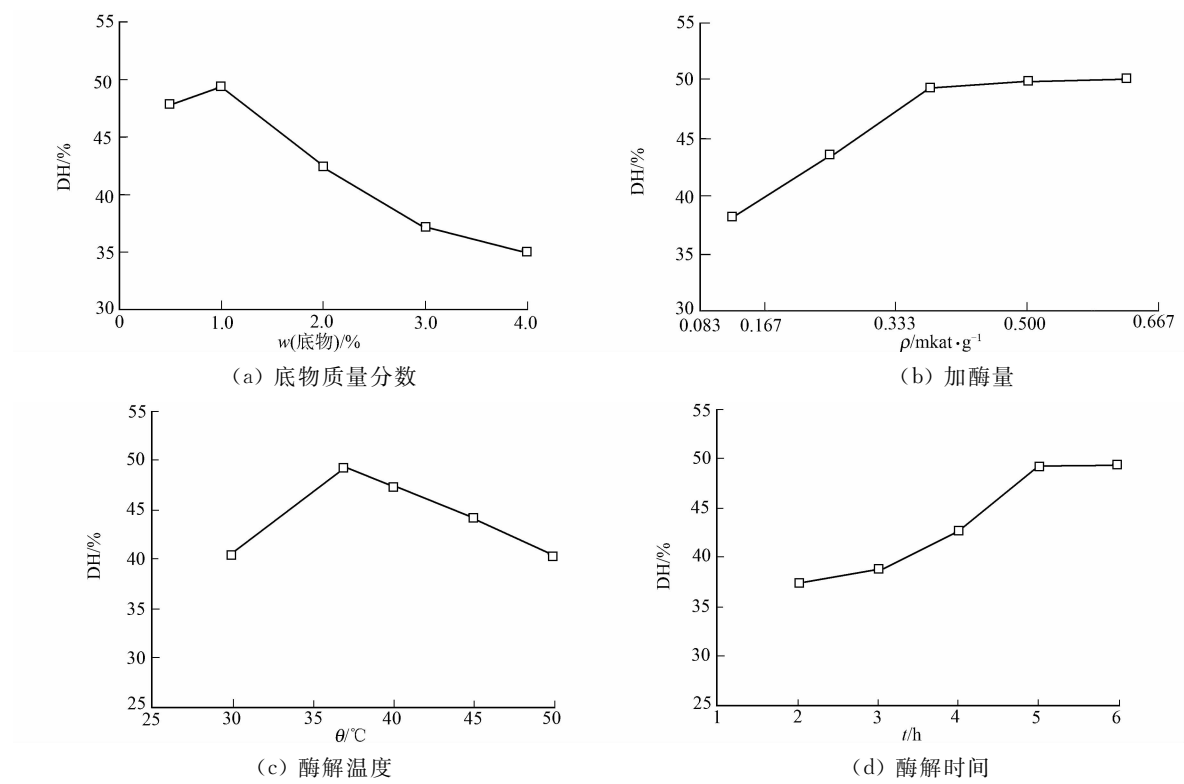


图 2 酶解条件对水解度的影响

Fig. 2 Influence of enzymolysis conditions on degree of hydrolysis

2.4 正交试验优化酶解条件

正交试验结果和极差、方差分析表,分别如表 4,5 所示.由表 4 可知:各因素对胰蛋白酶水解度的影响的大小顺序为 A>D>B>C,即底物质量分数>加酶量>温度>时间.其中,底物质量分数对水解度的影响呈极具统计学意义($P<0.01$),加酶量对水解度的影响呈具有统计学意义($P<0.05$),温度对水解度的影响不具统计学意义,但是考虑到温度是影响酶活的重要因素,因此,温度选择 37 ℃.最优条件为 A₂B₂C₂D₂,即底物质量分数为 1.0%,加酶量为 0.375 1 mkat · g⁻¹,温度为 37 ℃,时间为 5 h.

表 4 正交试验结果及极差分析

Tab. 4 Result of orthogonal experiment and analysis of difference

实验号	因素				DH/%
	A	B	C	D	
实验 1	1	1	1	1	38.82
实验 2	1	2	2	2	48.17
实验 3	1	3	3	3	43.56
实验 4	2	1	2	3	45.26
实验 5	2	2	3	1	43.10
实验 6	2	3	1	2	42.88
实验 7	3	1	3	2	31.31
实验 8	3	2	1	3	33.21
实验 9	3	3	2	1	26.10
k ₁	43.52	38.46	38.30	36.01	
k ₂	43.75	41.49	39.84	40.79	
k ₃	30.21	37.51	39.32	40.68	
R	13.54	3.98	1.54	4.78	

进一步在最优条件下进行验证实验,重复 3 次,其水解度分别为 48.63%,48.90%,49.16%。这说明通过正交试验优化得到的最优实验条件,可以用于海参内脏的酶解制备海参多肽。

表 5 正交设计方差分析表
Tab. 5 Variance analysis of orthogonal experiment

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	360.54	2	104.65	$F_{0.100}(2,2)=9$	* *
B	25.69	2	7.45	$F_{0.050}(2,2)=19$	
C	3.45	2	1.00	$F_{0.025}(2,2)=39$	
D	44.90	2	13.03	$F_{0.010}(2,2)=99$	*
总和	434.82	8			

“*”表示具有统计学意义($P<0.05$);“* *”表示极具统计学意义($P<0.01$)

3 讨论

蛋白质为刺参的主要营养成分,占体壁总质量的 70%以上,刺参内脏中蛋白质质量分数亦较高。刘小芳等^[16]对乳山刺参体壁和内脏基本营养成分进行了分析,其中,刺参内脏蛋白质质量分数占总质量的 34.90%。实验对海参内脏基本组成进行分析发现,蛋白质质量分数最高,占总质量的 59.50%,但脂肪质量分数较低,占总质量的 7.64%,可见海参内脏是制备高活性海参肽的良好资源。

采用的胰蛋白酶是一种肽链内切酶,能消化溶解变性的蛋白质,它作用于多肽链中赖氨酸和精氨酸残基中的羧基侧端,是酶解蛋白质中常用的蛋白酶。龚丽芬等^[17]采用胰蛋白酶酶解文蛤,并测定了氨基酸质量分数,结果表明胰蛋白酶酶解的文蛤提取液中氨基酸质量分数大于热水提取法的质量分数。王金水等^[18]研究了胰蛋白酶水解谷朊粉得到的的酶解产物的抗氧化活性,其还原力为 0.81,说明其酶解产物具有较好的抗氧化能力。施文卫等^[19]通过胰蛋白酶制备鹰嘴豆活性肽,具有较好的抗氧化活性,所得酶解产物对超氧阴离子自由基的清除率为 67.59%。

另外,由于蛋白酶的切割位点不同,采用不同的蛋白酶水解,其水解度存在一定的差异。如周洁静等^[20]采用木瓜蛋白酶酶解海参肠制备海参肽,并通过正交实验优化酶解工艺,在最佳水解条件下,水解度达到 42.2%。刘程惠等^[21]通过胰蛋白酶水解海参,在最佳酶解条件下,其水解度达到 32.93%。Yan 等^[22]以水解度为指标,筛选了多种蛋白酶酶解海参内脏,结果表明,胰蛋白酶酶解效果最佳,水解度达到 32.38%。袁坤山等^[23]采用复合蛋白酶酶解糙刺参内脏制备海参肽,并通过响应面法优化酶解工艺,在最佳水解条件下,水解度达到 49.32%,与文中的水解度相差不大。

现有文献报道中,海参肽的制备一般仅以水解度作为指标评价酶解效果,而海参肽的生物活性与其相对分子质量是息息相关的。相对分子质量在 2 000 u 以下的寡肽主要是通过食物中的蛋白质经过特定的酶水解获得,食用后可以避免肠道酶的水解消化而直接进入小肠被吸收,提高了胃肠对多肽和氨基酸的吸收速率^[2]。王静等^[24]以海参中蛋白酶使其机体自溶,通过超滤进行分级分离并研究其抗氧化活性,结果发现,相对分子质量在 3 000 u 以下的海参肽,其抗氧化活性最强。袁坤山等^[25]利用木瓜蛋白酶酶解糙刺参内脏,酶解产物的相对分子质量在 2 000 u 以下的组分占总质量的 99.52%,500 u 以下的组分所占比例则为 80.00%,其 Vc 抗氧化活性当量值(VcEAC)为 44.95 mg·g⁻¹,说明所得糙刺参内脏蛋白酶解物具有较高的抗氧化活性。此外,通过酶法制得的海参肽还具有其余的生物活性。袁文鹏等^[26]测定仿刺参肠水解液对小鼠负重游泳试验的影响,结果显示能够明显延长小鼠负重游泳时间,说明仿刺参肠水解液具有显著的抗疲劳活性。

以实验开发的酶解工艺制得的海参内脏酶解液中多肽(2 000~5 000 u)质量分数为 52.68%,寡肽(含氨基酸)(≤2 000 u)质量分数为 47.25%,提示制备所得的海参肽可能具有多种生物活性,有关海参肽的生物活性与相对分子质量关系有待进一步研究。

文中对海参内脏酶法制备海参肽的工艺条件进行优化,通过单因素和正交试验优化了胰蛋白酶对海参内脏的酶解工艺。其最佳的酶解条件:底物质量分数为 1.0%,加酶量为 0.375 1 mkat·g⁻¹,温度为 37 ℃,酶解时间为 5 h,pH 值为 8.0。在此最优条件下,海参内脏的水解度为 48.90%,酶解液中相对

分子质量在 2 000 u 以下的寡肽(含氨基酸)质量分数为 47.25%。研究可为实现海参内脏高值化开发利用提供坚实的实验基础,有关海参肽的生物活性有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 周靖宇. 海参用于保健食品功能原料的药理研究进展[J]. 药学研究, 2011, 30(6): 346-348.
- [2] 张君慧, 张晖, 王兴国, 等. 抗氧化活性肽的研究进展[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(6): 227-233.
- [3] JIANG Y, WANG Y, MAI K, *et al.* Effects of different microbes on fermenting feed for sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) [J]. Journal of Ocean University of China, 2015, 14(5): 873-880.
- [4] BPRDBAR S, ANWAR F, SAARI N. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods: A review[J]. Marine Drugs, 2011, 9(10): 1761-1805.
- [5] WANG Yanchao, SU Wei, ZHANG Cuiyu, *et al.* Protective effect of sea cucumber (*Acaudina molpadioides*) fucoidan against ethanol-induced gastric damage[J]. Food Chemistry, 2012, 133(4): 1414-1419.
- [6] TAKASHI H, NOBUHIRO Z, KYOKO Y, *et al.* Recent advances in researches on physiologically active substances in holothurians[J]. Journal of Ocean University of China, 2005, 4(3): 193-197.
- [7] LIU Xin, SUN Zhenliang, ZHANG Miansong, *et al.* Antioxidant and antihyperlipidemic activities of polysaccharides from sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 90(4): 1664-1670.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 食品中水分的测定: GB 5009.3—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 食品中粗脂肪的测定: GB/T 14772—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 食品中灰分的测定: GB 5009.4—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 食品中蛋白质的测定: GB 5009.5—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [12] 中华人民共和国卫生部. 食品中蔗糖的测定: GB/T 5009.8—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [13] 余冰宾. 生物化学实验指导[M]. 北京: 清华大学出版社, 2004: 133-135.
- [14] 李冬燕, 曹荣, 刘淇, 等. 海参肠高效酶解工艺研究[J]. 湖南农业科学, 2012(3): 84-86.
- [15] 黄雅燕, 王文平, 肖美添. 碱性蛋白酶水解豆粕制备大豆多肽[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 2013, 34(6): 674-677.
- [16] 刘小芳, 薛长湖, 王玉明, 等. 乳山刺参体壁和内脏营养成分比较分析[J]. 水产学报, 2011, 35(4): 587-593.
- [17] 龚丽芬, 郑志福, 陈碧娥. 胰蛋白酶酶解文蛤的工艺条件[J]. 氨基酸和生物资源, 2003, 25(2): 45-47.
- [18] 王金水, 赵谋明, 蒲首丞, 等. 胰蛋白酶水解谷朊粉的酶解产物抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2005(10): 93-96.
- [19] 施文卫, 王伟, 胡冰, 等. 胰蛋白酶制备鹰嘴豆抗氧化肽的条件优化[J]. 食品科学, 2016(15): 185-191.
- [20] 周洁静, 谢蓝华, 杜冰. 海参肠胶原蛋白酶解工艺及抗氧化性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(5): 1401-1407.
- [21] 刘程惠, 董秀萍, 赵露露, 等. 胰蛋白酶酶解法制备海参肽的工艺条件[J]. 大连轻工业学院学报, 2006, 25(2): 83-85.
- [22] YAN Mingyan, TAO Haiteng, QIN Song. Effect of enzyme type on the antioxidant activities and functional properties of enzymatic hydrolysates from sea cucumber (*Cucumaria frondosa*) viscera [J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2016, 25(6): 940-952.
- [23] 袁坤山, 郑艺, 刘梅, 等. 酶解糙刺参内脏团蛋白制备抗氧化肽的工艺研究[J]. 海洋科学, 2014(11): 47-55.
- [24] 王静, 张京楼, 王铎喜, 等. 海参多肽的抗氧化性能研究[J]. 食品与机械, 2010, 26(2): 67-71.
- [25] 袁坤山, 郑艺, 于跃芹, 等. 响应面法优化糙刺参内脏团制备抗氧化肽的酶解工艺[J]. 食品科技, 2014(8): 225-231.
- [26] 袁文鹏, 张绵松, 刘昌衡, 等. 仿刺参肠酶解条件的优化及其抗疲劳活性的研究[J]. 食品工业, 2015(8): 163-167.

(责任编辑: 陈志贤 英文审校: 刘源岗)