

文章编号: 1673-1689(2006)05-0091-07

螺蛳腹足肌的酶解工艺

夏树华, 王璋*

(江南大学食品学院, 江苏无锡 214036)

摘要:以螺蛳的腹足肌部分为研究对象, 比较了几种酶对螺蛳蛋白的作用效果, 选择了一种新型酶 Proleather FG-F。以水解度和蛋白质得率为指标采用响应面分析法对酶解工艺进行了优化, 对酶解产物的相对分子质量分布范围、游离氨基酸含量及 ACE 酶抑制活性等进行了分析和比较。

关键词:螺蛳; 腹足肌蛋白; 酶水解 ACE 抑制活性

中图分类号: Q 556

文献标识码: A

Hydrolysis of *Bellamyia Purificata* Foot Muscle

XIA Shu-hua, WANG Zhang*

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The foot protein of *Bellamyia purificata* (mud snail) was investigated. The effect of several kinds of proteases on the hydrolysis of the foot protein were compared and Proleather FG-F was chosen. The Response Surface Methodology (RSM) was used to optimize the factors affecting Proleather FG-F hydrolysis. The relative molecular mass distribution, the free amino acids content and the angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of hydrolysates were quantitatively analysed and compared. The IC_{50} of Proleather FG-F hydrolysates before purification was 0.69 mg/mL.

Key words: *Bellamyia purificata*; foot protein; enzymatic hydrolysis; angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity

螺蛳广泛分布于我国长江流域, 是一种受到普遍欢迎的贝壳类水产, 从动物学分类上讲属于软体动物门 (*Mollusca*) 腹足纲 (*Gastropoda*) 前鳃亚纲 (*Prosobranchia*) 田螺科 (*Vivipariidae*)。螺蛳是田螺科若干小型种的通称, 其中最常见也是我们常食用的是梨形环棱螺 (*Bellamyia purificata*)^[1] 它的腹足肌是通常食用的部分, 即靠近螺蛳外壳开口处致密而富有弹性的肌肉组织, 而卷曲在螺壳尖端深处较柔软的部分是它的消化及生殖等器官。

螺蛳的价值主要体现在其具有很高的食用价

值、药用价值、营养价值及饲用价值。^[2] 从食品角度来讲, 螺蛳肉是一种高蛋白低脂肪的肉类, 是一种有待开发和利用的优质动物性食品及饲料资源, 但目前国内外鲜见把螺蛳作为食品资源而进行的全方面而深入的研究。

本研究中首先对螺蛳的软体部分从食品成分角度进行全面分析, 以腹足肌部分为原料, 通过优化酶解工艺得到具有较高的血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制活性的肽产物。

收稿日期: 2005-07-08; 修回日期: 2005-09-22.

作者简介: 夏树华 (1977-), 女, 河北三河人, 食品科学博士研究生; * 通讯作者。
万方数据

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料 实验用螺蛳是从无锡青山市场购得的新鲜螺蛳,去壳得到软体部分(得肉率约25%),然后手工将腹足肌部分分离出来(得肉率约为15%),储存于-20℃备用。

1.1.2 仪器与试剂 Waters 600 高效液相色谱仪:美国;Agilent 1100 安捷伦液相色谱仪:美国;KQ2200DB 型数控超声波发生器:昆山市超声仪器有限公司生产;高速分散机 ULTRA-TURRAX T 25;Neutralse 中性蛋白酶、碱性蛋白酶 Acalase 2.4L、复合蛋白酶 Protamex:丹麦诺维信(Novo)公司产品;木瓜蛋白酶:上海生物试剂公司产品;A. S. 1398 中性蛋白酶:无锡酶制剂厂;Proleather FG-F:日本天野酶制品株式会社(Amano Enzyme Inc.)产品。

1.2 实验方法

1.2.1 螺蛳肉基本成份 测定采用常规方法^[3]。

1.2.2 原料预处理 为提高螺蛳肉腹足肌部分的水分散性,将其在组织捣碎机内匀浆,然后将肉浆冷冻干燥,再用干磨机打成细粉备用。

1.2.3 对几种常用蛋白酶作用效果的比较 分别选用了 Neutralse、Acalase、A. S. 1398、Protamex、木瓜蛋白酶及 Proleather FG-F 等 6 种酶对螺蛳肉按各自的最适条件及推荐用量进行水解,然后比较蛋白质得率。

1.2.4 优化酶解条件的设计方案 选定蛋白酶的种类后,选定底物浓度为 5%(以蛋白质计),酶解时间为 4 h,以酶用量(E/S)、酶解温度(T)和 pH 值 3 个因素作为因变量,采用响应面分析优化酶解条件,因素及水平见表 1。

表 1 优化实验方案表

Tab. 1 Coded levels value used in the RS optimization experiment

水平	因素		
	pH 值 X_1	E 质量分数/% X_3	温度/℃ X_2
-1	9	3	50
0	10	5	60
1	11	7	70

1.2.5 测定指标及测定方法

1) 水解度 水解度(DH)的测定采用 pH-Stat 法。^[4]

2) 蛋白得率 蛋白得率 = 酶解液中的蛋白质

量 × 100% / 原料中总的蛋白质质量

蛋白质含量测定采用微量凯氏定氮法^[3-4]。

3) ACE 酶抑制活性的测定^[5] 样品溶于超纯水,离心(7 200 g, 15 min)取上清液进行 ACE 抑制活性测定。取 10 μL 样品和 20 μL ACE(0.1 U 溶于 1.0 ml pH 8.3 0.05 mol/L 硼酸缓冲液,其中含 0.3 mol/L NaCl)于 37℃ 保温 6 min,加入 40 μL 6.5 mmol/L 底物(hippuryl-L-His-L-Leu 溶于相同的缓冲溶液中)37℃ 下反应 30 min 后,加入 80 μL 1 mol/L 的 HCl 溶液终止反应,至室温取 10 μL 反应产物进样,通过 RP-HPLC 洗脱图谱定量马尿酸生成量,以马尿酸的生成量来判断样品对 ACE 活性的抑制作用,同时做空白对照。

ACE 抑制活性根据下式计算:

样品的 ACE 活性抑制率(%) = (对照的马尿酸峰值 - 样品的马尿酸峰值) × 100 / 对照的马尿酸峰值

4) 酶解产物相对分子质量分布的测定

色谱条件如下:仪器:Waters 600 高效液相色谱仪(配 2487 紫外检测器和 M32 工作站);色谱柱:TSKgel2000 SWXL 300 mm × 7.8 mm;流动相:乙腈/水/三氟乙酸,45/55/0.1(V/V/V);检测:UV220 nm;体积流量 0.5 mL/min;柱温 30℃。

5) 酶解产物中游离氨基酸的测定

称取约 0.2 ~ 0.3 g 酶解产物,溶于 10 mL 3.5% 磺基水杨酸中,定容至 50 mL,室温下静置 2 h,用滤纸过滤,吸取 1 mL 滤液 10 000 r/min 离心 15 min,取清液上机测定(Agilent 1100 液相色谱仪)。

2 结果与讨论

2.1 螺蛳肉的基本成分

以螺蛳软体部分为原料进行基本成分分析,结果如表 2 所示。

表 2 螺蛳肉中各基本成分质量(除水分外都以干重计)

Tab. 2 The main components of *Bellamya purificata* muscle (calculated with dry weight except water content)

样品	成分/%				
	蛋白质	糖原	总脂肪	灰分	水分
全螺肉	55.69	21.81	2.73	19.08	80.87
腹足肌部分	59.58	22.86	0.65	16.48	78.82
其余部分(消化及生殖器官)	48.69	20.12	5.12	23.91	82.84

从表 2 中可看出螺蛳肉的蛋白质含量高达 55.69% ,脂肪含量仅为 2.73% ,是一种高蛋白低脂肪的肉类 ,此外糖原含量达到 21.81 % 。其中腹足肌部分的蛋白质和糖原含量较高 ,而脂肪、灰分及水分均较低。

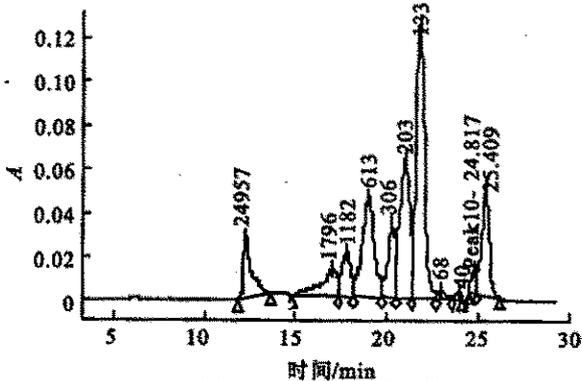
2.2 螺蛳肉粉的增溶

本研究中以螺蛳腹足肌做为研究对象和酶解底物 ,这是一种复杂的天然底物 ,水分散性或水溶性很差 ,其溶解程度不足以使酶作用达到较好效果 ,酶解产物中肽段长度相当不均匀 ,还会产生大量游离氨基酸 ,而具有生物活性的组分一般为短肽 ,因此底物溶解性不高会降低酶解产物中有效成分的含量。

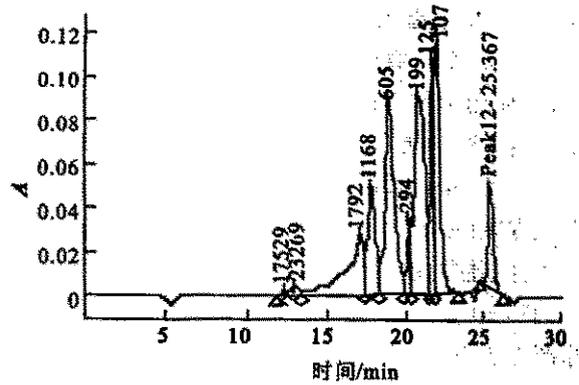
为提高酶的作用效果 ,提高短肽所占的比例 (短肽这一概念并无明确的相对分子质量的界定 ,研究中暂且只考虑 MW 150 ~ 1500 范围内的组分) ,减少长肽段和游离氨基酸 ,必须先提高螺蛳蛋白的分散性。

实验从原料预处理和样品溶解两个环节来解决这一问题。

2.2.1 螺蛳肉的原料预处理 螺蛳肉经冷冻干燥和碎粉 ,提高了水分散性。图 1 对比了在相同条件下分别以未经处理的肉浆和经处理后的肉粉作为原料的 Acalase 酶解产物 (pH 8.0 酶解 4 h) 的相对分子质量分布范围图谱。可以看出前者比后者多出一些相对分子质量大于 20 000 的长肽段部分 ,而且后者肽段长度分布更为均匀。经计算出峰面积 ,相对分子质量集中于 MW150-1500 短肽范围内的组分两者所占总肽的比例分别为 51.16% 和 68.44% 。这是由于肉粉的水分散性提高后 ,酶较容易深入到蛋白质分子内部 ,从肽段中部进行酶解 ,所得的短肽含量较高。这一结果也间接反映了原料水分散性的提高。



(a) 以未经处理的肉浆作为原料



(b) 以经处理后的肉粉作为原料

图 1 螺蛳肉的 Acalase 酶解产物的相对分子质量分布范围图谱

Fig. 1 The molecular weight distribution of the muscle hydrolyzed by Acalase

2.2.2 螺蛳肉粉的溶解 通过调节肉粉溶液体系的 pH 值 ,加入高速分散和超声波处理步骤来增加螺蛳肉粉在水中的溶解性和分散性。确定增溶的具体处理条件为 60 °C 下调至 pH 10 保持 40 min (pH 10 是 Proleather FG-F 蛋白酶酶解的最佳 pH 值) ;高速分散为 24 000 r/min ,共 3 次 ,每次 5 s ;超声波处理为 60 °C ,80 W ,处理 20 min。单纯从增溶角度来看料水比越小越有利 ,但底物浓度太小不利于酶解 ,因此按酶解要求将质量浓度定为 5 mg/mL (以蛋白质计) 。经过这样的处理 ,螺蛳蛋白的溶解度可从 20% 提高到 55.6% 。

2.3 螺蛳肉的酶解

2.3.1 几种常用蛋白酶的作用效果的比较 以蛋白质得率为指标比较了几种常用蛋白酶以相同的酶活力在最适条件下的作用效果 ,见表 3。

表 3 螺蛳肉的几种常用蛋白酶酶解作用条件及效果比较
Tab. 3 The conditions and effect of the muscle hydrolysis by several common proteinase

酶种	酶解时间/ h	酶解温度/ °C	pH 值	蛋白质 得率/%
Neutrase	4	55	7.0	66.42
Acalase	4	55	8.0	82.02
A. S. 1398	4	45	7.0	76.53
木瓜蛋白酶	4	55	7.0	34.66
Protamex	4	50	7.0	51.74

由表 3 中可以看出 Acalase 碱性蛋白酶和 A. S. 1398 中性蛋白酶作用的蛋白质得率较高 ,酶解效果较好。其中 Acalase 在碱性环境下 (螺蛳肉呈碱性) 活性较高 ,是一种专一性广泛的内切蛋白酶 ,水解蛋白质时具有较多的切割位点。

2.3.2 酶种的选择与 Proleather FG-F 酶活测定

如前所述, 研究中希望能提高酶解产物中短肽的含量, 使用目前常用的蛋白酶所得到的酶解产物即使具有较高的蛋白提取率(如 Alcalase 碱性蛋白酶、A. S. 1398 中性蛋白酶等), 其相对分子质量分布范围也很宽(见图 1(b)及图 2), 可以看出是从长肽到游离氨基酸的混合物, 而短肽在其中并不特别占优势, 需要大量后续提纯步骤, 这不可避免会造成目标产物的损失。通常不能做到在保证较高的水解度的同时产生较少的游离氨基酸。

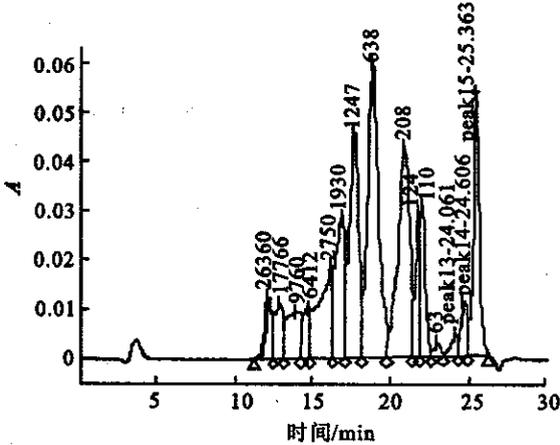


图2 螺蛳肉的 A. S. 1398 酶解产物的相对分子质量分布范围图谱(MW150 ~ 1500 范围内的组分占 57.54%)

Fig. 2 The molecular weight distribution of the muscle hydrolyzed by A. S. 1398

本实验力求在所使用的酶种上有所突破, 从根本上改变这一现状。经过查找发现日本 Amano 公司称其生产的 Proleather FG-F 是在较强碱性条件下不产生游离氨基酸的一种蛋白酶。这种酶可以在宽广的碱性 pH 值范围内保持较高的酶活, 经测定其最适 pH 值高达 pH10。

由于实验中采用碱溶法进行原料预处理, 因此这种酶十分适合本研究的实际情况。

2.3.3 Proleather FG-F 酶解条件的优化 影响酶解过程的有 pH 值、温度、加酶量(E/S)、底物浓度及酶解时间等因素。由于本实验中的底物溶解度不高且粘度较大, 从溶解角度来讲, 底物浓度越小越有利, 但较大的底物浓度对酶解过程较为经济, 经比较将底物浓度定为 5 mg/mL(以蛋白质计)。在单因素实验的基础上选择 pH 值、温度和加酶量(E/S)三个因素对 Proleather FG-F 的作用条件进行了中心组合设计优化, 并做响应面与等值线图, 在此基础上再结合酶解进程确定酶解时间。单因素实验中影响较显著的 pH 值与水解度的关系见图 3,

与酶活测定的结果较吻合。其中 pH11 下的酶解初速度很高, 这可能是由于底物此时的溶解度较大且酶活也较高, 但酶在如此高的 pH 值下不稳定, 因此 20 min 后水解度的增大就较为缓慢了。

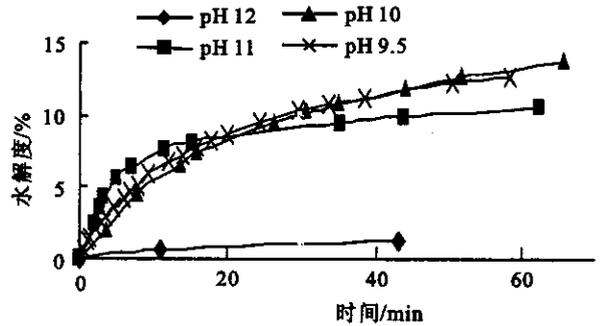


图3 pH 值对水解度的影响(60 °C E/S 质量比为 5:10, 底物质量浓度 5 mg/dL)

Fig. 3 The effect of pH on DH (60 °C, E: S = 5: 10, [S] 5 mg/mL)

在底物浓度 5 mg/mL 和酶解 4 h 的条件下 pH 值、温度和加酶量三个因素的响应面实验优化结果见表 4。

表 4 响应面实验设计及结果

Tab. 4 RSM test design showing DH (%) and protein recovery (%)

实验号	X_1	X_2	X_3	Y_1 DH/%	Y_2 蛋白质 得率/%
1	0	-1	-1	16.59	72.90
2	0	-1	1	14.65	64.28
3	0	1	-1	18.78	80.23
4	0	1	1	17.14	75.02
5	-1	0	-1	16.05	74.06
6	-1	0	1	15.78	71.94
7	1	0	-1	14.71	63.97
8	1	0	1	13.16	60.44
9	-1	-1	0	16.95	76.82
10	-1	1	0	19.03	80.95
11	1	-1	0	15.08	69.07
12	1	1	0	17.77	78.51
13	0	0	0	19.47	84.02
14	0	0	0	19.56	84.96
15	0	0	0	19.35	83.48

用 SAS 中的 RS REG 程序对表 4 中的数据进行回归分析, 可得到三元二次方程:

$$Y = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3 + a_{11} X_{12} + a_{22} X_{22} + a_{33} X_{32}$$

方程中的各项回归系数具体数值见表 5, 同时可得到方差分析表(见表 6)。水解度和蛋白得率的总回

归方程在 $\alpha = 0.01$ 水平上均显著,但交互项不显著。从因素检验可以看出,pH 对水解度和蛋白得率的影响最大,温度的影响次之,酶浓度的影响在本实验范围内最小。此外实验中还发现虽然加大加酶量能提高水解度,但在加酶量 5% 以上时水解

度增加得并不显著,考虑到经济因素,在加酶量 5% 情况下从回归方程计算出最佳酶解条件如表 7,达到最大水解度与蛋白质得率所需的因素条件基本相近。

表 5 回归系数表

Tab. 5 Regression coefficients fitted from RSM

系数	a_0	a_1	a_2	a_3	a_{12}	a_{13}	a_{23}	a_{11}	a_{22}	a_{33}
Y_1	-276.61	44.490 0	0.318 8	2.629 0	-0.073 8	-0.004 5	0.023 8	-2.246 3	-0.039 1	-0.023 1
Y_2	-866.72	132.057 1	-0.616 5	10.541 9	0.188 8	-0.000 3	0.077 6	-6.860 4	-0.376 4	-0.093 4

表 6 方差分析表

Tab. 6 Square analysis

来源	自由度	平方和		R^2		F 值		显著水平	
		Y_1	Y_2	Y_1	Y_2	Y_1	Y_2	Y_1	Y_2
回归项	一次项	325.702 6	355.796 1	0.402 0	0.407 3	29.06	13.23	0.001 4	0.008 2
	二次项	35.762 5	462.696 9	0.559 3	0.529 7	40.43	17.20	0.000 6	0.004 6
	交互项	0.997 6	10.211 1	0.015 6	0.011 7	1.13	0.38	0.421 5	0.772 5
	总回归	62.462 7	828.704 0	0.976 9	0.948 7	23.54	10.27	0.001 4	0.009 8
	X_1	27.948 7	316.985 7	6.987 2	79.246 4	23.70	8.84	0.001 9	0.010 8
	X_2	13.207 5	168.570 1	3.301 9	42.142 5	11.20	4.70	0.010 4	0.060 2
	X_3	25.028 4	394.939 3	6.257 1	98.734 8	21.22	11.01	0.002 5	0.017 2

表 7 由回归方程计算出的最佳酶解条件

Tab. 7 The optimized hydrolysis conditions fitted from the regression equation

条件	水解度/%	蛋白质得率/%
pH	9.8	9.6
温度	58.5	58.5
最大值	19.78	86.28

在 pH9.8、加酶量 5 mg/mL 及 58.5 °C 下酶解 4 h 以后水解度增加趋于缓慢,因此选取 4 h 做为酶解时间。在最优条件下,做验证实验所得水解度与蛋白得率分别为 19.65% 与 86.02%。Proleather FG-F 所得的蛋白得率略优于表 3 中 Acalase 作用 4 h 所得的蛋白得率。

将酶质量浓度固定为 5 mg/mL,分别根据两个回归模型用 Matlab 软件作响应面图及等值线图,突出 pH 值与温度两个主要因素对指标的影响,见图 4。由响应面图可以直观的看出 pH 值和温度对响应值的影响,由等值线图可看出最佳酶水解条件下 pH 值和温度的取值。

万方数据

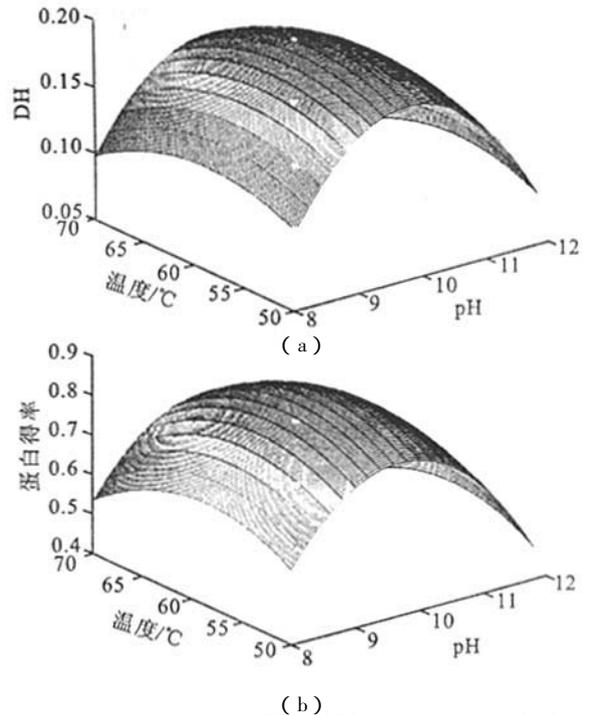


图 4 Proleather FG-F 酶解过程中 DH(a)和蛋白得率(b)的响应面图和等值线图

Fig. 4 Response Surface and isoline graph of DH(a) and protein recovery(b)in Proleather FG-F hydrolysis

2.3.4 酶解产物的分析 对 Proleather FG-F 的酶解产物进行了分析,包括相对分子质量分布范围、游离氨基酸含量以及 ACE 抑制活性的测定三方面,并与常用酶中作用效果较好的 Acalase 碱性蛋白酶、A. S. 1398 中性蛋白酶进行了比较。

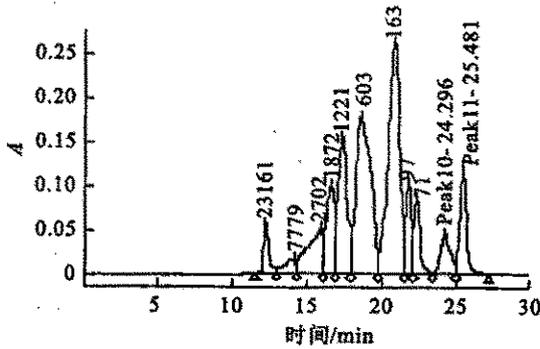
1) 酶解产物的相对分子质量分布范围

图 5 对不同预处理与酶解条件下所得的酶解产物的相对分子质量分布范围进行了比较与分析。通过出峰面积的计算,将每个样品中 MW150 ~ 1500 范围内的短肽组分所占总肽的比例列于表 8。

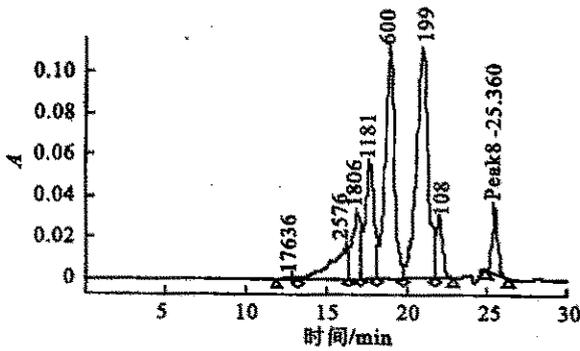
表 8 不同酶解产物中 MW150 ~ 1500 范围内的短肽组分所占比例

Tab. 8 The content of MW150 ~ 1500Da peptide in the different hydrolysates

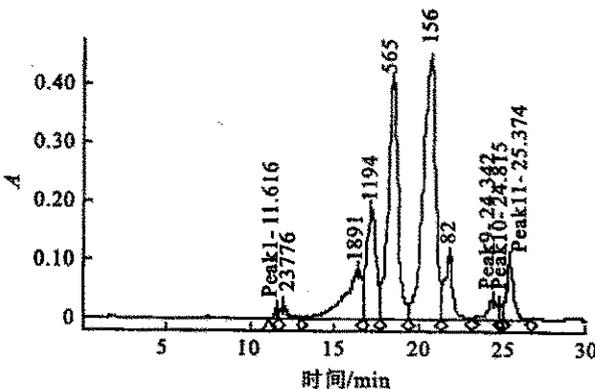
a	b	c	d
62.01	83.43	84.65	84.04



(a) 未经增溶预处理,自然 pH 值、60 °C 下酶解 1 h

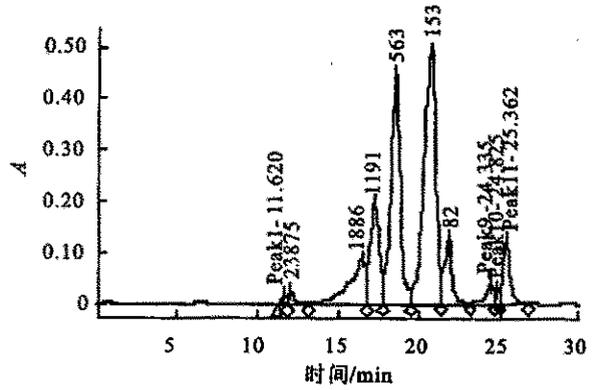


(b) 经增溶预处理,最佳条件下酶解 1 h



(c) 经增溶预处理,最佳条件下酶解 4 h

万方数据



(d) 经增溶预处理,最佳条件下酶解 5 h

图 5 不同条件下酶解产物的相对分子质量分布范围图谱

Fig. 5 The molecular weight distribution of the hydrolysates obtained under different conditions

分析以上图表并结合前述酶解条件的优化结果可以得出结论,样品预处理阶段的增溶处理与较适合的酶解条件均可以提高酶解产物中短肽的含量,其中经增溶处理的样品的酶解产物中相对分子质量超过 20 000 的组分基本消失。而水解时间过长时酶解产物中游离氨基酸增多,短肽的含量会有所下降(表 8 中水解 4 h 的样品中 MW150 ~ 1 500 范围内的短肽组分所占比例最大)。这也从另一个角度验证了样品增溶与优化酶解的效果。

2) 酶解产物的游离氨基酸质量分数

表 9 结合相对分子质量分布范围和游离氨基酸含量两项指标对最佳条件下酶解 4 h 的 A. S. 1398、Acalase 和 Proleather FG-F 的酶解产物进行了比较。从营养吸收和生物活性的角度来看,一种酶解产物中的短肽含量越高越好,而游离氨基酸则反之。可以看出 Proleather FG-F 酶解产物的组成更佳。

表 9 不同酶解产物中短肽及游离氨基酸质量分数的比较

Tab. 9 Content of short peptides and free amino acids in the different hydrolysates

酶种	水解度/%	短肽比例/%	游离氨基酸质量分数/%
A. S. 1398	7.8	57.54	5.15
Acalase	16.7	68.44	17.01
Proleather	19.65	84.65	5.80

3) 酶解产物的 ACE 抑制活性

取不同浓度的 3 种酶解产物(最佳条件下酶解 4h)进行 ACE 抑制率的测定,结果如图 6。从图中我们可以看出,在相同浓度下,Proleather FG-F 酶解产物的活性要远远高于其它两种酶。尤其是在常

用酶中水解效果较好的 Acalase 从水解度角度来讲与 Proleather FG-F 相差不大,但 ACE 抑制活性却明显较低。对图中数据分别取倒数作图可得直线方程,由方程可计算出 Proleather FG-F 的粗酶解产物的 IC_{50} (半抑制浓度,即抑制率为 50% 时的底物浓度)为 0.69 mg/mL。

目前有关酶解产物的 ACE 抑制活性的报道中很少见到关于以天然动物体做为原料得到未经提纯的酶解产物的 IC_{50} 值。赵利以酪蛋白为底物经酶解所得的酪蛋白非磷肽 (CNPP) 未经进一步提纯前所测定的 IC_{50} 是 0.63 mg/mL^[5],而张国胜等对大豆蛋白抗高血压活性肽的研究发现在数种酶的酶解产物中效果最好的 IC_{50} 为 0.846 mg/mL^[6],本实验结果与之较为接近。本研究中以螺蛳腹足肌这种复杂的天然体系做为酶解的底物,粗酶解产物中除肽类(约 62% w/w)外还含有大量的糖类物质以及盐分,相信经过分离提纯后会得到较好的活性。

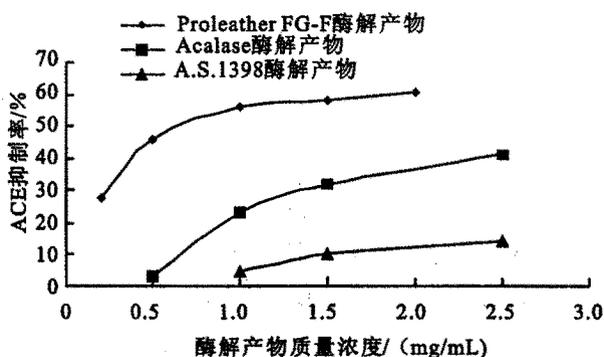


图 6 3 种酶解产物的 ACE 抑制率与浓度之间关系的对比

Fig. 6 The effect of three hydrolysate concentrations on ACE inhibition

ACE 抑制活性与其肽段的氨基酸结构和组成密切相关。对肽结构与 ACE 抑制活性关系的研究发现 C 末端是 Pro、Phe、Tyr 或序列中含有疏水性氨基酸是维持高 ACE 抑制活性所必需的^[7,8]。由于不同的蛋白酶对蛋白质水解存在特异性,水解产物的末端氨基酸组成不同,可能造成 ACE 抑制活性存在差异。具有 ACE 抑制活性的多肽主要集中在相对分子质量较小的组分(2~5 肽)^[9]。

经测定,在常用酶种的酶解产物中 Acalase 所得的 ACE 抑制率较高,这也与许多相关报道相符。这是由于而 Acalase 是一种专一性广泛的内切蛋白酶,水解蛋白质时具有较多的切割位点,可以达到较高的水解度,产物中的分子较小的组分较多,而且它对羧基端是疏水性氨基酸的肽作用有特异性,所以 Acalase 的水解产物 ACE 抑制活性较强。

但对于螺蛳肉来讲从图中可以明显看出 Proleather FG-F 酶解产物的 ACE 抑制率要远远高于 Acalase。目前尚不清楚 Proleather FG-F 是否对疏水性氨基酸有特异性作用,但由于这种酶产生的游离氨基酸较少且酶解产物的分布集中于短肽范围内,这使其酶解产物中可能具有生物活性的组分所占的比例较大,这也许可以解释以上的实验结果。

3 结 论

经过对螺蛳腹足肌酶解工艺的研究,发现最适酶种为 Broleather FG-F。经响应面优化得出其最佳酶解条件为:加酶量 5 mg/mL,温度 58.5 °C, pH 5.6~5.8,底物质量浓度 5 mg/mL,酶解时间 4 h。其酶解产物中短肽比例为 84.65%,游离氨基酸质量分数为 5.80%,ACE 半抑制质量浓度 IC_{50} 为 0.69 mg/mL,均达到最优。

参考文献:

- [1] 曹正光,蒋忻坡,安婴. 河沟螺蛳的增殖研究[J]. 水产科技情报,1996,23(3):108-114.
- [2] 中一贝,刘慧懿. 食物营养与健康(水产篇)[M]. 北京:中国物资出版社,2001.12.
- [3] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,1990.
- [4] Alde-Nissen J. Enzymatic hydrolysis of food proteins[M]. London: Elsevier Applied Science Publishers, 1986, 122-123.
- [5] 赵利. 牛乳酪蛋白非磷肽的研究[D]. 无锡:江南大学,2004.
- [6] 张国胜,孔繁东,祖国仁,等. 大豆蛋白抗高血压活性肽的研究[J]. 中国乳品工业,2004,32(8):12-14.
- [7] Kohmura M, Nnio Kubo K, et al. Inhibition of angiotensin converting enzyme by synthetic peptides of human β -casein[J]. *Agric Biol Chem*, 1989, 53(8):2107-2114.
- [8] Miyoshii S, Tanaka H. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor derived from *Ficus Carica*[J]. *Agric Biol Chem*, 1989, 53(10):2763-2767.
- [9] Hong-Son Cheung, Feng-lai Wang, Miguel A Ondetti, et al. Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin-converting enzyme[J]. *J Biol Chem*, 1980, 255(2):401-407.