

陈笑迎, 田桂芳, 陈智慧, 等. 贝类蛋白改性技术研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 420–428. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030163

CHEN Xiaoying, TIAN Guifang, CHEN Zhihui, et al. Research Progress on Modification Technology of Shellfish Protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(6): 420–428. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030163

· 专题综述 ·

贝类蛋白改性技术研究进展

陈笑迎¹, 田桂芳¹, 陈智慧², 桑亚新¹, 孙纪录^{1,*}

(1. 河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000;

2. 云南省曲靖农业学校生物技术学部, 云南曲靖 655000)

摘要: 贝类在水产品中占有重要的地位, 贝类蛋白营养丰富, 具有独特的风味和功能特性, 但由于贝类产品受地域的限制且易腐败, 其在食品工业中的实际应用较少。已有研究证明, 通过改性能进一步优化贝类蛋白的功能特性, 使其更好的应用于食品加工领域, 从而解决蛋白质资源短缺的问题。本文论述了物理改性法、化学改性法和酶解改性法三大类贝类蛋白改性技术的机制及优缺点, 不仅为改进贝类蛋白改性技术和开发新兴的贝类产品提供了理论支持, 还为拓宽贝类产品在食品工业中的应用范围提供了依据。

关键词: 贝类, 蛋白质, 物理改性, 酶解改性, 功能特性

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)06-0420-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030163

本文网刊:



Research Progress on Modification Technology of Shellfish Protein

CHEN Xiaoying¹, TIAN Guifang¹, CHEN Zhihui², SANG Yaxin¹, SUN Jilu^{1,*}

(1. College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China;

2. Department of Biotechnology, Qujing Agricultural School of Yunnan, Qujing 655000, China)

Abstract: Shellfish plays an important role in aquatic products. Shellfish protein is rich in nutrition and has unique flavor and functional characteristics. However, because of shellfish products are limited by regions and prone to spoilage, its practical application in food industry is less. Studies have proved that the functional characteristics of shellfish protein can be further optimized by modifying properties, so that it can be better applied to food processing, thus solving the problem of resource shortage in protein. This paper discusses the mechanism, advantages and disadvantages of three kinds of shellfish protein modification technologies, namely physical modification, chemical modification and enzymatic modification, which not only provides theoretical support for improving shellfish protein modification technology and developing new shellfish products, but also provides a basis for broadening the application range of shellfish products in food industry.

Key words: shellfish; protein; physical modification; enzymatic modification; functional properties

水产蛋白在总蛋白资源中占有重要的地位, 相较于陆地蛋白资源其优越性无法替代^[1]。由于水产蛋白比其他种类的蛋白质有更良好的乳化性及凝胶特性, 因此在食品工业中的应用更有优势^[2]。虽然水产蛋白有着良好的功能特性, 但受热后发生变性的可能性更高, 自然环境下容易发生腐败变质和微生物污染, 导致其稳定性比大多数陆地蛋白资源要低, 其功能特性也会因此受到影响, 这对水产蛋白在食品工业

中的应用和新产品的开发造成了阻碍^[3]。

贝类(Shellfish), 属软体动物, 是一种高蛋白、低脂肪的水产资源, 现存的种类有 11.5 万种。贝类肉质鲜美, 营养丰富, 在生活中广受各个年龄阶段消费者的喜爱^[4]。研究表明, 贝类还含有多种活性成分, 如牛磺酸、蛋白质、多肽、多糖等化合物, 因此具有较好的保健功能和药用价值^[5]。我国贝类产量巨大, 近年来, 由于人工养殖和水产增殖技术的不断发展,

收稿日期: 2021-03-15

基金项目: 国家重点研发计划资助(2019YFD0902003-03)。

作者简介: 陈笑迎(1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程, E-mail: 1194378661@qq.com。

* 通信作者: 孙纪录(1972-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: fm1311sun@163.com。

养殖贝类的产量逐年提高,到 2019 年,我国贝类海水养殖产量已达到 1500 万吨^[6]。我国目前已开展养殖生产或试验性生产的主要经济贝类有 60 多种,而已经能实现规模化养殖的贝类有 20 多种,包括牡蛎、贻贝、蛤、蚶、扇贝、鲍及蛭等^[7]。研究表明,海洋贝类中含有大量的蛋白质,在水产蛋白中贝类蛋白占据着重要的地位,但是天然贝类蛋白的结构和功能性质并不适合于食品加工领域^[7],因此,对贝类蛋白进行改性有着十分重要的意义。

本文论述了应用物理改性法、化学改性法和酶解改性法三种贝类蛋白改性技术的研究进展,阐述了各种技术对贝类蛋白结构和功能特性的影响,为贝类蛋白在食品工业中的进一步开发利用提供了参考。

1 贝类蛋白的氨基酸组成

表 1 汇总了常见贝类的蛋白质氨基酸组成,可以看出不同贝类蛋白质的氨基酸组成存在着一定的差异^[7],因此,相同的蛋白改性技术作用于不同的贝类蛋白可能会产生不同的影响。用相应的蛋白改性技术处理贝类蛋白,不仅能改变贝类蛋白的构象,还能改善贝类蛋白的一些功能性质^[8-9]。基于贝类蛋白所具有的良好营养和功能特性,为了使贝类蛋白资源得到更好的利用,需要将贝类蛋白进行改性以改善蛋白质的某些功能特性,缓解蛋白质资源短缺的现状,满足当前的市场需求,使贝类等水产品具有更广阔的应用市场。

2 物理改性法

物理改性法主要是将机械力、振荡、热能等物理手段作用于食品原料,对蛋白质的二、三和四级结构造成破坏,从而引起蛋白质功能特性改变的改性手段^[10]。物理改性法具有无污染,工艺简便的特点,在

食品原料的加工处理中占有重要的地位^[11]。

2.1 热处理

热处理是生活中贝类产品最常见的烹饪方式,主要有水煮、清蒸、焙烤、微波加热等。热处理对贝类蛋白质的影响较大,且不同的加热方式对贝类蛋白质会产生不同的影响^[12-13]。XIN 等^[14]用微波处理了南美白对虾,并检测了微波处理后蛋白质的二级结构、体外消化率和致敏性。在 75 ℃ 微波 10 min 下,β-折叠的含量达到最高,同温度处理 15 min 后,α-螺旋含量最低。随着微波温度的上升,蛋白质体外消化率和总可溶性蛋白含量逐渐降低,总抗氧化能力显著提高近 2 倍,致敏性也有所下降。研究表明,微波加热处理对于水产品蛋白改性有着较为明显的效果。

林玉锋等^[15]比较了四种不同的加热方式(清蒸、微波、水煮、焙烤)对牡蛎蛋白的影响。牡蛎蛋白的体外消化率在清蒸、焙烤和微波处理下明显提高,但水煮后牡蛎蛋白的体外消化率变化不大;另外,蛋白质氨基酸总量在热处理下均呈现上升趋势。郭子璇等^[16]从牡蛎中提取蛋白质,在水浴锅中对牡蛎蛋白进行热处理。结果表明,热处理后牡蛎蛋白的二级结构发生了较为显著的变化,β-转角减小,无规则卷曲增加,但三级结构无明显的变化;同时适当的热处理使牡蛎蛋白的疏水性增加,且起泡性、持油性和乳化性均有不同程度的改善;但是温度过高时会使蛋白质重新聚集,其溶解度、持油性和乳化稳定性都有所降低。这与 ZHANG 等^[17-18]对热处理后太平洋牡蛎水溶性、盐溶性蛋白理化性质和体外消化率的研究结果一致。由此可见,热处理在一定程度上可以优化贝类蛋白的某些功能特性,但加热时间过长会造成贝类蛋白中许多营养成分的流失,一些生物活性物质会受

表 1 5 种常见贝类的氨基酸组成
Table 1 Amino acid composition of five common shellfish

氨基酸(g/100 g蛋白)	牡蛎	贻贝	文蛤	河蚬	扇贝	参考文献
甘氨酸	7.03	10.40	4.50	4.58	6.97	[7]
丙氨酸	6.73	6.09	7.04	4.45	5.75	
缬氨酸	5.20	4.36	4.89	4.31	4.70	
亮氨酸	7.64	6.99	9.61	5.31	8.54	
异亮氨酸	4.89	4.10	6.71	3.79	4.88	
脯氨酸	4.28	4.18	1.09	2.75	2.79	
苯丙氨酸	4.59	3.08	3.60	3.35	4.18	
酪氨酸	3.98	3.27	2.32	2.59	3.48	
色氨酸	—	8.30	1.40	—	—	
丝氨酸	4.59	3.19	4.63	2.51	4.36	
苏氨酸	4.59	4.17	4.96	3.41	4.36	
甲硫氨酸	3.06	2.37	3.41	2.56	4.01	
半胱氨酸	—	4.50	1.51	5.10	—	
精氨酸	8.87	8.78	3.04	5.94	7.49	
组氨酸	1.77	1.47	1.70	1.85	1.60	
赖氨酸	9.17	6.15	7.78	5.13	8.71	
天冬氨酸	9.78	10.40	11.26	7.50	10.78	
谷氨酸	13.76	16.10	20.56	10.91	17.25	

到破坏,还会对有着特殊风味的贝类产品的色、香、味产生许多负面的影响。

2.2 非热加工

非热加工是一类新兴的食品加工技术,它可以减少热加工对蛋白质的色、香、味的影响及营养成分的破坏,尤其是消费者对水产类食品的新鲜、营养和安全要求越来越高,这极大的推动了水产品非热加工技术的发展。ZHANG 等^[19]比较了高压与传统的加热方式对鳕鱼蛋白质的影响。研究表明,与烘焙和蒸煮相比,高压处理后样品中总肽的含量相对更高,过敏性大幅度降低。高压处理还能提高可溶性蛋白氮的含量并避免蛋白质发生氧化,提高了消化率,改善了热加工带来的负面性质指标,能更好的改善鳕鱼蛋白的理化性质和提高鳕鱼的营养价值。表 2 以牡蛎蛋白为例,比较了热处理和三种非热加工技术对蛋白质的影响及优缺点,与热处理相比,大部分非热加工同样可以对贝类蛋白的结构和功能性质产生较大的影响,而且非热加工的缺点比热处理更小,使贝类营养成分保留的更好,由此可以得出,非热加工技术在蛋白改性方面有着更好的应用前景。

2.2.1 高压处理

2.2.1.1 超高压处理 超高压技术(Ultrahigh pressure processing, UHPP),通常也叫做静水压技术(High hydrostatic pressure, HHP)。其操作是用液体作为媒介,在适当的温度下对高压容器中密封的物料施加静高压,一段时间后,高压会造成物料中许多成分的非共价键受到破坏或是重新生成,进而引起酶、淀粉、

蛋白质等生物大分子物质失活、糊化与变性,同时还能杀死细菌等微生物^[23]。超高压处理主要破坏贝类蛋白的三、四级结构中的非共价键,对共价键的改变并不明显^[24]。研究表明,超高压处理对蛋白质凝胶性能的改变最为明显,这是因为蛋白质的体积在静高压密封容器中会不断缩小,使构成立体结构的化学键被破坏或重新形成,从而导致蛋白质的变性^[25-26]。在超高压改性时,蛋白质结构的变化与压力的大小有关,低于 150 MPa 的压力处理会促进低聚蛋白质的结构解离,高于 150 MPa 的压力处理会使蛋白质分离与解链后产生的低聚体亚单位再次结合。高于 200 MPa 的超高压处理会造成蛋白质的三级结构出现显著的变化;但其二级结构在高于 700 MPa 的压力下才发生改变,并且此变化是非可逆变性^[27]。

赵伟等^[20]采用超高压技术作用于新鲜牡蛎样品,当超高压压力由 200 MPa 升至 600 MPa 时,牡蛎肌动蛋白和肌球蛋白内部的自由水溶出,部分蛋白质水解酶的活性增强,致使蛋白质部分水解,游离氨基酸浓度明显增加。超高压使牡蛎组织中的部分盐溶性蛋白质溶出,蛋白质结构之间相互结合的更加紧密,使牡蛎表面的肌纤维结构逐渐消失,牡蛎肉的凝胶性能有所改善。由此可见,在超高压处理后,牡蛎蛋白质发生了一定程度的变性,肌纤维的溶解度有所提高,但对蛋白质功能性质的改善只有在压力较大时(>700 Mpa)才比较明显。

2.2.1.2 高压均质处理 高压均质技术(High pressure homogenization, HPH)又称动态高压(Hynamic

表 2 4 种物理改性方法对牡蛎蛋白的影响

Table 2 Effects of four physical modification methods on oyster protein

改性方法	热处理	超高压处理	高压均质	超声波处理
α -螺旋	无显著变化	—	减小	减少
β -折叠	无显著变化	—	无显著变化	增加
β -转角	减少	—	增加	无明显变化
无规则卷曲	增加	—	增加	增加
三级结构	影响较小	>300 MPa有显著变化	有明显变化	有明显变化
溶解度	先减小后增大	增大	增大	增大
Zeta电位值	—	—	增大	增大
粒径	先增加后减小	—	减小	减小
疏水性指数	增加	—	增加	增加
持水性	先降低后增加	—	降低	降低
持油性	先增加后降低	—	增加	增加
乳化性	增大	增大	增大	增加
起泡性	增大	增大	增大	增加
凝胶性能	—	有显著改善	有一定改善	有一定改善
优点	操作方便,改性条件简单,对蛋白质结构和功能特性影响较大	绿色环保,无污染,有杀菌灭酶的作用,能降低贝类蛋白的致敏性,不破坏营养成分	操作简单环保,不破坏营养成分,能降低贝类蛋白的致敏性,不破坏营养成分	无污染,能明显改变蛋白质结构和理化性质;既能对原料进行检测又能用于改性,还能降低贝类蛋白的致敏性
缺点	很容易会破坏蛋白质的营养成分,对贝类产品的色、香、味产生负面影响	能耗大,成本高,对蛋白质二级结构的影响不明显	只能用于处理液体样品	高强度的超声波会造成部分营养成分流失和生物活性物质的破坏;长时间高强度超声波还会产生多余热量
参考文献	[15-16]、[17-18]	[20]	[21]	[21-22]

high pressure, DHP), 常用来处理流体^[28]。其机制是液体样品在高压下通过直径不大于 2 μm 的狭窄可变孔隙, 之后压力下降至大气压, 液体流速在阀两侧压力差的作用下急剧增加, 使液体被均质并对蛋白质分子起到一定的修饰作用, 从而改变蛋白质分子的构象和理化性质, 改善并优化蛋白质的功能性质, 在贝类蛋白质的改性中被广泛地应用^[29-30]。

吴凡^[21]将牡蛎蛋白悬浊液分别进行不同压力的高压均质处理。结果表明, 当压力为 80 MPa 时, 高压均质使牡蛎蛋白 α -螺旋减小的同时生成为 β -转角和无规则卷曲, 蛋白质表面疏水性和游离氨基酸浓度增加, 蛋白质粒度明显减小, Zeta 电位绝对值上升。蛋白质分子内的氢键被破坏, 牡蛎蛋白的溶解度最大, 持水性降低, 持油性增加, 蛋白质乳化性和起泡性均得到改善。但压力增大到 100 MPa 时, 牡蛎蛋白重新聚集, 致使力度增大, 溶解度和表面疏水性均减小, 对牡蛎蛋白反而会产生负面影响。这与查越^[31]用高压均质处理贻贝蛋白所得的结论相一致。由此可见, 用高压均质对贝类蛋白改性处理时, 蛋白质功能性质因压力逐渐上升会产生不同甚至相反的变化, 因此要严格控制改性时的参数指标, 尽量避免对贝类蛋白的功能性质产生不利影响。

2.2.2 超微粉碎技术 超微粉碎技术是将直径 3 mm 以上的物料颗粒放入粉碎设备中, 经过处理后可将直径减小至 10~25 μm , 大大增加了物料的表面积和空隙率, 得到的物料具有独特的物理和化学性质^[32]。贝类蛋白改性一般使用机械粉碎法^[33]。机械粉碎是利用设备中的挤压、摩擦、冲击和剪切等机械力破碎物料, 一般情况下, 剪切摩擦力粉碎的物料粒度最细, 冲击粉碎的物料粒度分布最宽, 挤压粉碎的物料粒度最粗^[34]。机械粉碎法又可以分为干法粉碎和湿法粉碎, 干法粉碎有旋转球磨式、高频振动式、气流式、捶击式和自磨式等, 湿法粉碎主要是胶体磨和均质机^[35-36]。超微粉碎技术的应用拓宽了贝类蛋白质深加工的范围, 使贝类产品的溶解性、分散性、吸附性等均有良好的改善, 提高了贝类产品的质量。

查越^[31]将贻贝蛋白提取后脱脂干燥制成蛋白粉, 在 20 Hz 下用球磨仪处理, 对贻贝蛋白进行改性。结果表明, 20 min 的球磨贻贝蛋白的二、三、四级结构均发生了不同程度的改变, 蛋白粉的亮度也有所增加, 颜色更浅。经检测证明, 球磨后贻贝蛋白的 α -螺旋减少, β -转角和无规则卷曲增加。蛋白质分子的粒径减小, 溶解度减小, 表面疏水系数增加, 持水性减小, 同时持油性增加; 体外消化率与游离氨基酸浓度也有明显的增加。

2.2.3 超声波技术 超声波(Ultrasound)是频率高于 20 kHz 的机械振动波, 是一种绿色环保的食品加工技术, 被广泛的应用于食品、药品和农作物等物质的提取和改性^[37]。图 1 列出了超声波改性的机制,

超声波机械效应产生的震动可以改善物料的乳化性能和凝胶性能。超声波在传播介质质点振动的加速度非常之大, 当超声波的强度在流体物料中上升到一定数值后, 空化效应就随之出现^[38]。超声波在介质中传播时, 会使介质产生压缩和膨胀(压缩会产生正压, 而膨胀会产生负压), 并且周期性循环, 将气泡压缩回液体。当负压大于水分子对气体分子的作用力时, 气体就会从液体中脱离出去, 产生的气泡被称作空穴气泡^[39-40]。气泡在快速的周期性振荡中会发生剧烈的崩溃, 产生短暂的高能环境, 在空穴区域制造出高剪切力和强湍流作用, 同时部分声波能量会被逐渐接收并转化为热量, 产生热效应。在空化过程中, 局部的升温 and 压力的瞬时增强会产生声化学效应, 使液体物料中的悬浮颗粒发生变化。高强度的超声波技术主要是通过声场产生的空化效应, 使食品物料之间的化学键被破坏, 暴露出反应位点, 大大加快反应的进行速率^[41-42]。

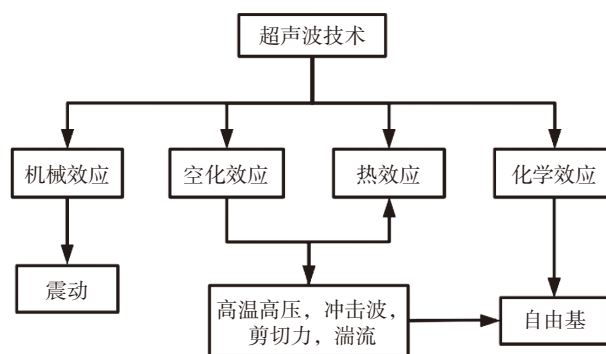


图 1 超声波蛋白改性机制^[39]

Fig.1 Mechanism of ultrasonic protein modification^[39]

低强度的超声波(<1 W)常用于检测食品的理化性质, 在食品加工行业属于非破坏性技术^[43]。高强度的超声波(>10 W)则主要用于理化改性, 如改善蛋白质理化性质、钝化酶活性、提高化学反应速率等^[44-45]。如 TANG 等^[46]用高强度超声处理低盐条件下的罗非鱼肌动球蛋白, 结果显示高强度的超声波改变了肌动球蛋白的构象, 蛋白质的溶解性与表面疏水系数均有变化。已有的研究证明, 将蛋白质悬浊液进行超声波处理, 蛋白颗粒尺寸及流体动力学动量会因空穴效应而明显减小^[47], 蛋白质的二、三、四级结构会发生明显变化, 物理、化学性质和乳化、凝胶性质均可得到明显的改善, 同时还可在一定程度上降低水产蛋白的致敏性^[48]。

YU 等^[22]对不同超声波处理(20 Hz; 200、400、600 W)的牡蛎分离蛋白结构和功能变化进行了研究。研究表明, 随着超声波功率和超声时间的增加, α -螺旋含量逐渐降低, 而 β -折叠和无规卷曲不断增加, β -转角的变化并不显著。超声波处理导致蛋白质分子拉伸和折叠, 二硫键断裂, 游离巯基含量增加, 隐藏的疏水基团暴露, 从而造成表面疏水系数升高。超声波还能减小牡蛎蛋白的粒径, 增加 Zeta 电位绝对

值。在 600 W 超声波处理 15 min 时,蛋白质的溶解度达到最大,但同功率下处理时间增加到 30 min 时,由于蛋白质分子膨胀,疏水基团暴露,反而使蛋白质的溶解度下降。与此同时,超声波处理后蛋白质的持水能力下降,持油能力增加。此外,起泡性与起泡稳定性、乳化活性指数和乳化稳定性指数在超声波处理后均有所增加。这与吴凡^[21]对牡蛎蛋白超声波改性的结果一致。但查越^[31]对紫贻贝进行超声波蛋白改性时,二级结构的变化与上述不同, α -螺旋的百分含量上升, β -折叠和 β -转角的含量上升。表明蛋白质样品的组成不同,超声波改性后蛋白质结构与功能特性的变化也不尽相同。

3 化学改性法

化学改性主要是利用化学方法引入新的化学基团或改变蛋白质中某些氨基酸集团,化学改性法有很多种,如常见的糖基化、酰基化、磷酸化在蛋白质资源中应用较多;还有酯化、共价交联及氧化作用等也可作用于蛋白改性^[49]。化学改性法操作简单,产品稳定性高,但由于大多数化学改性会破坏蛋白质的营养价值并且可能会产生有毒物质,有的方法还会对环境造成一定的污染,目前为止有关贝类蛋白的化学改性研究相对较少,已有的贝类蛋白化学改性方法主要是糖基化^[50]。糖基化是还原糖末端与蛋白质分子的氨基或羧基相结合的化学反应^[51],其反应机理如图 2 所示,主要分为三个阶段,第一阶段蛋白质氨基酸残

基末端的氨基与还原糖的羧基结合,进行 Amadori 分子重排;第二阶段受 pH 的影响生成不同的中间产物;第三阶段氨基化合物与醛缩合,生成黑色素和中间产物,最后中间产物也会进一步缩合或聚合生成黑色素。该反应条件温和安全且只有糖和蛋白质作为反应物,是一种理想的贝类蛋白改性方法^[52]。

姜梦云等^[53]将 3 种还原糖与栉孔扇贝闭壳肌的分离蛋白进行糖基化反应。结果表明,糖基化使扇贝闭壳肌蛋白发生了一些变化。如赖氨酸的含量显示出不同程度的降低,果糖胺的含量也出现不同程度的升高。并且在糖基化过程中,温度和 pH 的波动也会使蛋白改性的结果产生一些偏差。该研究表明不同的还原糖对糖基化的结果有不同的影响,温度可以促进反应的进行,且糖的浓度对结果影响不大,但未对改性后蛋白质功能性质的改善及碱溶蛋白糖基化探究。牛改改等^[54]用还原糖(葡萄糖、乳糖和半乳糖)对牡蛎蛋白多肽进行了干法糖基化改性,并检测了产物的功能特性与抗氧化性。总体来看,单糖对牡蛎蛋白多肽的改性效果比多糖要好,其中,还原糖与牡蛎蛋白肽组合的料液比不同,对产品的功能特性和抗氧化能力的改善也不相同。综上所述,糖基化作为常见的化学改性方法,可以改变贝类蛋白的一些功能性质,并且改性结果受还原糖和贝类蛋白的种类影响较大,但对贝类蛋白糖基化后其结构和具体功能性质的变化还需更深入的探究。

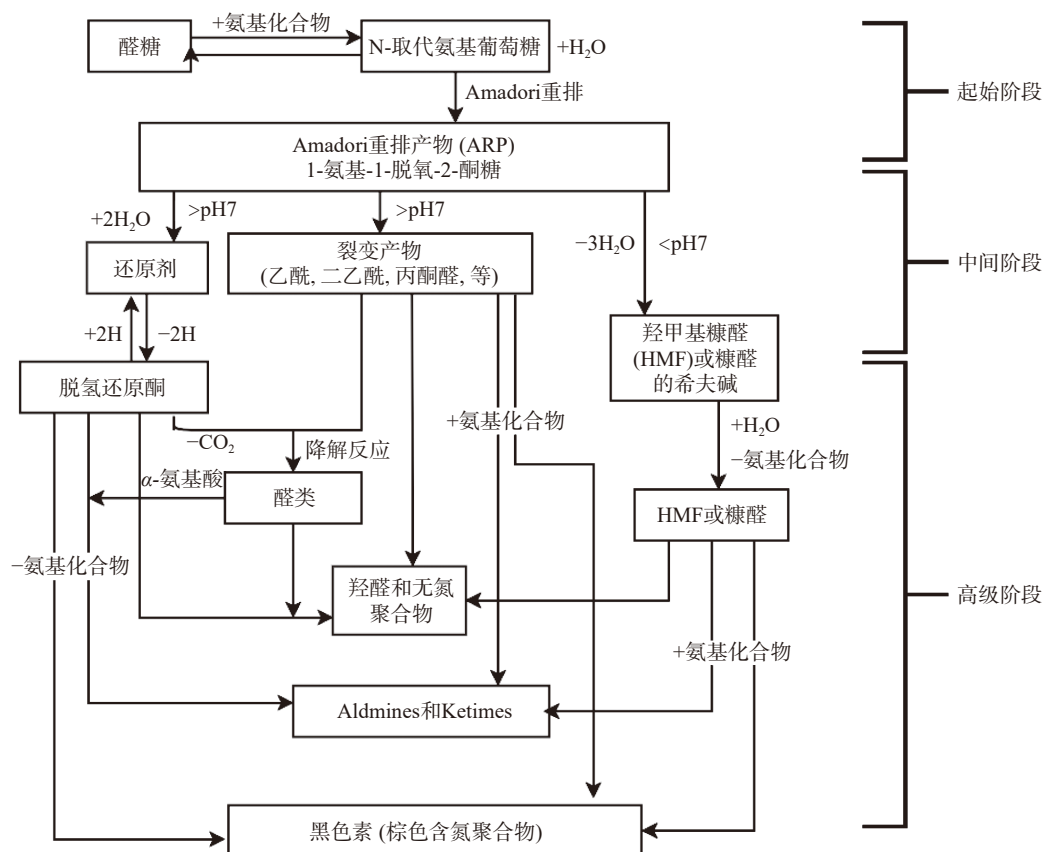


图 2 蛋白质糖基化改性过程的反应机理^[50]

Fig.2 Reaction mechanism of protein glycosylation^[50]

4 酶解改性法

酶解改性技术一般是指用蛋白酶对蛋白质溶液进行不同程度的水解,即在蛋白酶的作用下,引起氨基酸残基的变化,同时多肽链也会发生改变,蛋白质的理化性质受到影响,从而能获得较好功能特性蛋白质的过程^[55]。酶解改性时的影响因素有很多,常见的有温度、时间、pH、底物浓度、加酶量等,在贝类蛋白酶解改性中,pH、温度和时间影响最大^[56]。贝类蛋白酶解改性常用于收集贝类短肽和生物活性物质以及生产有特殊风味的贝类酶解产品等^[57]。酶改性的条件较为温和,有着高品质、高效率 and 反应的高度专一化的优点,且不会减弱食品原料中蛋白质的营养价值,因此酶改性将具有更大的市场潜力^[58]。

对贝类蛋白进行酶解能降低其分子量,得到短肽链多肽等具有生物活性的产物,还能提高可电离组分的含量、使更多的疏水基团暴露出来,改变蛋白质与周围环境的物理、化学相互作用,增加人体对蛋白质的消化吸收率^[59]。贝类根据种类的不同酶解时所使用的酶也不同。贝类酶解使用的酶主要有中性蛋白酶,风味蛋白酶,木瓜蛋白酶,菠萝蛋白酶,胃蛋白酶,枯草杆菌酶等^[60],其来源、最适 pH 和酶切位点见表 3。

高雅鑫等^[61]研发了 Box-Behnke 法优化中性蛋白酶和风味蛋白酶协同酶解牡蛎蛋白,得到了最佳的工艺条件为:中性蛋白酶:风味蛋白酶=1:1,料水比 1:6,加酶量 4.7%;改性条件为 51.7 ℃、pH7.4 下反应 3 h。得到的酶解液氨基氮含量为 8.197 mg/g,丝氨酸、组氨酸、精氨酸的含量有所升高,由此可见酶解能促进一些呈味氨基酸游离出来,并平衡人体必需氨基酸和非必需氨基酸的比例,改善贝类蛋白的感官指标,此外改性后的产物还含有对视觉、神经发育及心血管功能有重要作用的生物活性物质—牛磺酸^[62]。因此酶解不仅能改善贝类蛋白的风味,还有利于增加贝类的营养价值和生物活性物质的含量,并且得到的酶解产物能进一步用于精深加工。柏昌旺^[63]研究了牡蛎短肽的酶解工艺,确定了酶解改性牡蛎的最佳工艺条件为:料液比为 1:3.9,改性温度为 47 ℃,动物蛋白酶添加量 3300 U/g,反应时间为 3 h。经工艺优化后,酶解改性的加酶量更少,反应时间更短,反应产物的得率更高,且异味更小色泽更好,更适用于后续的食品加工,该工艺在贝类蛋白精深加工方面有

着较好的前景。

贝类蛋白在酶解过程中会产生生物活性肽,目前研究最多的是通过控制贝类蛋白的酶解程度,来获得具有抗氧化能力的酶解产物。李姣等^[64]用海洋芽孢杆菌产的蛋白酶对扇贝蛋白质进行酶解,得到的产物均能显示一定的自由基清除能力。庞忠莉等^[65]优化了动物蛋白酶和风味蛋白酶协同酶解牡蛎干酶解液工艺,使水解度可达 33.7%,并对其酶解产物进行了体外抗氧化活性评价,结果表明酶解后蛋白质回收率为 78.75%,牡蛎干酶解产物具备一定的抗氧化能力,但最终产物的腥味较重,可能不适合直接应用于食品工业中。张泽等^[66]优化了中性蛋白酶和胰蛋白酶协同水解牡蛎蛋白工艺,该工艺水解度为 27.09%,最终酶解产物的还原能力和较强的 DPPH 自由基清除能力。综上所述,贝类蛋白在水解过程中受蛋白酶种类的影响较大,酶解工艺的差异也可能会影响其水解度和生物活性肽的种类,且不同种类的贝类蛋白水解后酶解产物的抗氧化能力和感官指标也不相同。因此,酶解改性的具体机制还需进一步深入挖掘,酶解工艺的优化在减少加酶量以降低成本和减少腥味以改良感官品质等方面应进一步改进,使最终酶解产物能更好地适用于食品加工领域。

5 总结与展望

贝类蛋白是极为优质的蛋白质资源,物理改性法、化学改性法和酶解改性法均能使贝类蛋白的结构和功能特性有不同程度的改善。物理改性法涉及的蛋白质功能特性改变较多,其中的非热加工技术基本不影响贝类蛋白的营养价值且产生的负面影响小,在贝类蛋白改性的领域占有重要的地位,但未来可能要考虑降低成本和能耗的问题;化学改性法操作简单,产品稳定,成本较低,但会破坏贝类蛋白的营养价值和一些感官指标,包括糖基化也会产生不利的褐变反应,因此化学改性并非贝类蛋白改性的理想方法;酶解改性法具有较强的专一性,且效率 and 安全性较高;但酶源及其作用机制需要继续探究以便降低酶的应用成本,酶解改性工艺条件的优化也需要更深入的研究开发。因此,在满足降低成本、提高效率、延长贝类产品的货架期和保证安全性的同时,想要获得具有良好功能性质和加工适性的稳定贝类蛋白,可以考虑联合多种改性方法作用于贝类蛋白,尤其是非热加工技术辅助酶解改性可能在将来成为贝类蛋白改性

表 3 常用蛋白酶的性质及酶切位点
Table 3 Properties and restriction sites of common proteases

酶	来源	最适pH	酶切位点	参考文献
中性蛋白酶	枯草芽孢杆菌	6.8~7	组氨酸, 苯丙氨酸, 丙氨酸, 甘氨酸	[57-58]
风味蛋白酶	米曲霉	6~7	亮氨酸, 苯丙氨酸, 异亮氨酸, 酪氨酸	
木瓜蛋白酶	木瓜果实	5~7	L-精氨酸, L-赖氨酸, 甘氨酸, L-瓜氨酸	
菠萝蛋白酶	菠萝果实	5~7.5	赖氨酸, 丙氨酸, 甘氨酸, 酪氨酸	
胃蛋白酶	胃黏膜	2~3	色氨酸, 酪氨酸, 苯丙氨酸, 亮氨酸	
枯草杆菌酶	枯草杆菌	6.5~8.5	色氨酸酪氨酸, 苯丙氨酸	

技术研究的热点,如超声波辅助酶解改性等。研发合适的贝类蛋白改性技术不仅可以很好地解决目前蛋白质资源短缺的问题,还是拓宽贝类蛋白在食品工业中应用范围的重要途径。

参考文献

- [1] 张晶晶,郑惠娜,章超桦,等.水产蛋白的提取及其改性研究进展[J].安徽农业科学,2014,42(11):3401-3403. [ZHANG Jingjing, ZHENG Huina, ZHANG Chaohua, et al. Research progress of extraction and modification of aquatic protein[J]. Journal of Anhui Agri, 2014, 42(11): 3401-3403.]
- [2] HARNEDY A P, FITZGERALD J R. Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review[J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(1): 6-24.
- [3] 刘媛,王健,孙剑峰,等.我国海洋贝类资源的利用现状和发展趋势[J].现代食品科技,2013,29(3):673-677. [LIU Yuan, WANG Jian, SUN Jianfeng, et al. Utilization Status of the Resource of Marine Shellfish in China and Preliminary Study on its Development[J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(3): 673-677.]
- [4] 张惠婷.海水养殖贝类加工利用研究进展及展望[J].福建轻纺,2021(1):43-45. [ZHANG Huiting. Research progress and Prospect of processing and utilization of mariculture shellfish[J]. Fujian Textile, 2021(1): 43-45.]
- [5] 曾庆斌,曾庆孝.海洋贝类(牡蛎、扇贝、文蛤等)功能性食品的开发利用[J].氨基酸和生物资源,2002(3):31-34. [ZENG Qingzhu, ZENG Qingxiao. Development and utilization of functional food of marine shellfish[J]. Amino Acids and Biological Resources, 2002(3): 31-34.]
- [6] 刘志芳,赵前程,刘志东,等.贝类多糖研究进展[J].食品与发酵工业,2021,47(9):299-306. [LIU Zhifang, ZHAO Qiancheng, LIU Zhidong, et al. Research progress of polysaccharides derived from shellfish[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(9): 299-306.]
- [7] 章超桦,秦小明.贝类加工与利用[M].北京:中国轻工业出版社,2014:40-42. [ZHANG Chaohua, QIN Xiaoming. Processing and utilization of shellfish[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2014: 40-42.]
- [8] 何大博,仝其根.鸡蛋蛋白质改性研究进展[J].农产品加工,2018(3):47-51,54. [HE Dabo, TONG Qigen. Advances in modification methods of egg proteins[J]. Farm Products Processing, 2018(3): 47-51, 54.]
- [9] 吴曼铃,时瑞,胡锦鹏,等.提高鱼蛋白溶解性的改性技术研究进展[J].食品科技,2020,45(11):138-142. [WU Manling, SHI Rui, HU Jinpeng, et al. Research progress of modifying methods for improving solubility of fish protein[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(11): 138-142.]
- [10] 周丽媛,唐晓珍,李宁阳,等.物理改性技术在食品加工副产物综合利用中的应用[J].中国调味品,2019,44(10):178-181,186. [ZHOU Liyuan, TANG Jiazhen, LI Ningyang, et al. Application of physical modification technology in comprehensive utilization of food processing by-products[J]. China Condiment, 2019, 44(10): 178-181, 186.]
- [11] 姜昕,王锡昌,潘凤涛,等.物理法改善鱼肉蛋白功能特性研究进展[J/OL].食品与发酵工业,2021-02-18:1-10. https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.024853. [JIANG Xin, WANG Xichang, PAN Fengtao, et al. Physical methods of modifying functional properties of fish meat protein[J]. Food and Fermentation Industries: 1-10[2021-02-18]. https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.024853.]
- [12] LIU Zhongyuan, ZHOU Dayong, LI Ao, et al. Effects of temperature and heating time on the formation of aldehydes during the frying process of clam assessed by an HPLC-MS/MS method[J]. Food Chemistry, 2020, 308: 125650.
- [13] 郁浩,王志耕,吴洪义,等.微波能强度与鸡胸肉中蛋白质变性的关系[J].食品工业科技,2012,33(17):131-133,138. [YU Hao, WANG Zhigeng, WU Hongyi, et al. The relationship between microwave energy intensity and protein denaturation of chicken breast[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(17): 131-133, 138.]
- [14] XIN Dong, JIN Wang, Vijaya Raghavan. Impact of microwave processing on the secondary structure, in-vitro protein digestibility and allergenicity of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) proteins[J]. Food Chemistry, 2021, 337: 127811.
- [15] 林玉锋,黄后培,刘嘉怡,等.不同烹饪方式对牡蛎蛋白质营养成分品质的影响[J].食品科技,2020,45(07):143-151. [LIN Yufeng, HUANG Houpei, LIU Jiayi, et al. Effect of different cooking methods on the nutritional quality of oyster protein[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(07): 143-151.]
- [16] 郭子璇,陈慧,王震宇,等.热处理对牡蛎蛋白结构及功能特性的影响[J].大连工业大学学报,2020,39(4):235-240. [GUO Ziyuan, CHEN Hui, WANG Zhenyu, et al. Effect of heat treatment on structure and function of oyster protein[J]. Journal of Dalian Polytechnic University, 2020, 39(4): 235-240.]
- [17] ZHANG Fan, JIANG Suisui, FENG Xue, et al. Effect of heat treatment on physicochemical state and in vitro digestion of salt-soluble protein from Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. LWT, 2020, 134: 110126.
- [18] ZHANG Fan, JIANG Suisui, FENG Xue, et al. Physicochemical state and in vitro digestibility of heat treated water-soluble protein from Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. Food Bioscience, 2020, 34(C): 100528.
- [19] ZHANG Yifeng, BI Yuge, WANG Qi, et al. Application of high pressure processing to improve digestibility, reduce allergenicity, and avoid protein oxidation in cod (*Gadus morhua*)[J]. Food Chemistry, 2019, 298: 125087.
- [20] 赵伟,杨瑞金,张文斌,等.超高压处理对牡蛎超微结构、组分及蛋白质变性的影响[J].食品与发酵工业,2011,37(5):7-11. [ZHAO Wei, YANG Ruijin, ZHANG Wenbin, et al. Effects of ultra high pressure treatment on ultrastructure, components and protein denaturation of oyster[J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(5): 7-11.]
- [21] 吴凡.物理加工对牡蛎(*Ostrea edulis*)蛋白结构和功能性质的影响[D].大连:大连工业大学,2019. [WU Fan. Effects of physical processing on structure and functional properties of oyster protein[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2019.]
- [22] YU Cuiping, WU Fan, CHA Yue, et al. Structural and functional changes in ultrasonicated oyster protein isolates[J]. International Journal of Food Engineering, 2019, 15: 3-4.
- [23] XU Lili, LIN Hong, LI Zhen Xing, et al. Influence of non-

thermal extraction technique and allergenicity characteristics of tropomyosin from fish (*Larimichthys crocea*) in comparison with shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and clam (*Ruditapes philippinarum*) [J]. *Food Chemistry*, 2020, 309: 125575.

[24] 李明月, 杜钰, 姚晓玲, 等. 超高压处理对蛋白质功能特性的影响 [J]. 食品科技, 2018, 43(1): 50–54. [LI Mingyue, DU Yu, YAO Xiaoling, et al. Effects of ultrahigh pressure processing on protein functional properties[J] *Food Science and Technology*, 2018, 43(1): 50–54.]

[25] 程凯丽, 胡志和, 赵旭飞, 等. 超高压处理对乳制品中蛋白质和酶的影响研究进展 [J]. 乳业科学与技术, 2019, 42(6): 34–40. [CHENG Kaili, HU Zhihe, ZHAO Xufei, et al. A review of the effect of high hydrostatic pressure on proteins and enzymes in dairy products[J]. *Journal of Dairy Science and Technology*, 2019, 42(6): 34–40.]

[26] 周一鸣, 刘倩, 周小理, 等. 超高压对食品蛋白质结构性质影响的研究进展 [J]. 食品工业, 2018, 39(7): 285–288. [ZHOU Yiming, LIU Qian, ZHOU Xiaoli, et al. A review on effect of ultrahigh pressure on structure and properties of food protein[J]. *The Food Industry*, 2018, 39(7): 285–288.]

[27] 李正龙. 超高压技术对鳗鱼原肌球蛋白结构与功能及鱼丸品质的影响研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2019. [LI Zhenglong. Studies on the structure and function of tropomyosin and eel balls quality treated with ultrahigh pressure technology[D]. Xiamen: Xiamen University, 2019.]

[28] 李雨枫, 薛思雯, 衣晓坤, 等. 高压均质处理对不同浓度肌原纤维蛋白水悬液理化特性及蛋白结构的影响 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(21): 1–6, 12. [LI Yufeng, XUE Siwen, YI Xiaokun, et al. Effects of high pressure homogenization on physicochemical properties and protein structure of myofibrillar protein aqueous suspensions with different concentrations[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(21): 1–6, 12.]

[29] WU Di, WU Chao, WANG Zhenyu, et al. Effects of high pressure homogenize treatment on the physicochemical and emulsifying properties of proteins from scallop (*Chlamys farreri*) [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 94: 537–545.

[30] WANG Yahui, JIANG Suisui, ZHAO Yuanhui, et al. Physicochemical and rheological changes of oyster (*Crassostrea gigas*) protein affected by high-pressure homogenization [J]. *LWT*, 2020, 134: 110143.

[31] 查越. 物理加工对紫贻贝 (*Mytilus edulis*) 蛋白结构和功能性质的影响 [D]. 大连: 大连工业大学, 2019. [CHA Yue. Effects of physical processing on the structure and functional properties of mussel (*Mytilus edulis*) protein[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2019.]

[32] 加娜尔古丽·阿热恩哈孜, 张建鹏, 宫元娟. 超微粉碎技术在农产品加工中的应用及研究进展 [J]. 农业科技与装备, 2013(7): 58–59, 62. [JIA Na'erguli·A Reehazi, ZHANG Jianpeng, GONG Yuanjuan. Application and headway of ultra-fine pulverization in farm products processing[J]. *Agricultural Science & Technology and Equipment*, 2013(7): 58–59, 62.]

[33] SUN Chanchan, LIU Rui, NI Kai, et al. Reduction of particle size based on superfine grinding: Effects on structure, rheological and gelling properties of whey protein concentrate [J]. *Journal of Food Engineering*, 2016, 186: 69–76.

[34] ZHAO Xiaoyan, SUN Lu, ZHANG Xiaowei, et al. Effects of ultrafine grinding time on the functional and flavor properties of soybean protein isolate [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2020, 196: 111345.

[35] 杨春瑜, 柳双双, 梁佳钰, 等. 超微粉碎对食品理化性质影响的研究 [J]. 食品研究与开发, 2019, 40(1): 220–224. [YANG Chunyu, LIU Shuangshuang, LIANG Jiayu, et al. Effects of superfine grinding technology on physical and chemical properties of food[J]. *Food Research and Development*, 2019, 40(1): 220–224.]

[36] 高帅. 超微粉碎技术在食品工业中的应用和发展前景 [J]. 广州化工, 2014, 42(11): 35–37. [GAO Shuai. Application of superfine grinding technology in food industry and its prospect[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2014, 42(11): 35–37.]

[37] 谢亚如, 刘庆, 熊善柏, 等. 高强度超声作用下鲢鱼肌球蛋白的结构及流变学特性变化 [J]. 食品科学, 2019, 40(5): 77–84. [XIE Yaru, LIU Qing, XIONG Shanbai. Effect of high intensity ultrasound on structural and rheological properties of myosin from silver carp[J]. *Food Science*, 2019, 40(5): 77–84.]

[38] 孙英杰. 超声波处理对大豆分离蛋白结构和功能性质影响研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014. [SUN Yingjie. Study on the effect of ultrasonic treatments on structure and functional properties of SPI[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014.]

[39] 皮桂泉, 胡义泽, 乔佳琦, 等. 超声处理对蛋白结构和特性的影响 [J]. 粮食与食品工业, 2020, 27(5): 36–37. [PI Guiquan, HU Yize, QIAO Jiaqi, et al. Effect of ultrasonic treatment on protein structure and properties[J]. *Cereal & Food Industry*, 2020, 27(5): 36–37.]

[40] LI Yufeng, ZENG Qiaohui, LIU Guang, et al. Effects of ultrasound-assisted basic electrolyzed water (BEW) extraction on structural and functional properties of Antarctic krill (*Euphausia superba*) proteins [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2021, 71: 105364.

[41] XIN Dong, JIN Wang, Vijaya Raghavan. Effects of high-intensity ultrasound processing on the physicochemical and allergenic properties of shrimp [J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2020, 65: 102441.

[42] LI Haijing, HU Yifan, ZHAO Xinhui, et al. Effects of different ultrasound powers on the structure and stability of protein from sea cucumber gonad [J]. *LWT*, 2021, 137: 110403.

[43] 李可, 李三影, 扶磊, 等. 低频高强度超声波对鸡胸肉肌原纤维蛋白性质的影响 [J]. 食品科学, 2020, 41(23): 122–129. [LI Ke, LI Sanying, FU Lei, et al. Effect of low-frequency and high-intensity ultrasound treatment on characteristics of chicken breast myofibrillar protein[J]. *Food Science*, 2020, 41(23): 122–129.]

[44] XUE Siwen, XU Xinglian, SHAN Huimin. Effects of high-intensity ultrasound, high-pressure processing, and high-pressure homogenization on the physicochemical and functional properties of myofibrillar proteins [J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2018, 45: 345–360.

[45] Carlos Álvarez, Pauline Lélou, Sarah A. Lynch, et al. Tiwari. Optimised protein recovery from mackerel whole fish by using sequential acid/alkaline isoelectric solubilization precipitation (ISP) extraction assisted by ultrasound [J]. *LWT*, 2018, 88: 210–216.

[46] TANG Ling, Jirawat Yongsawatdigul. Physicochemical properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) actomyosin subjected to high intensity ultrasound in low NaCl concentrations [J]. *Ultrason-*

ics Sonochemistry, 2020, 63: 104922.

[47] ALEJANDRO Martínez-Velasco, CONSUELO Lobato-Calleros, BLANCA E Hernández-Rodríguez, et al. High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba* L.) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes[J]. *Ultrasonics-Sonochemistry*, 2018, 44: 97-105.

[48] ZHANG Ziyi, ZHANG Xiaofeng, CHEN Wei, et al. Conformation stability, in vitro digestibility and allergenicity of tropomyosin from shrimp (*Exopalaemon modestus*) as affected by high intensity ultrasound[J]. *Food Chemistry*, 2018, 245: 997-1009.

[49] 高加龙, 沈建, 章超桦, 等. 美拉德反应对牡蛎酶解产物风味物质的影响[J]. *食品科技*, 2015(6): 169-174. [GAO Jialong, SHEN Jian, ZHANG Chao-hua, et al. Effect of Mailard reaction on flavour substance of oyster hydrolysates[J]. *Food Science and Technology*, 2015(6): 169-174.]

[50] TIAN Yang, LIU Chenglong, ZHANG Ke, et al. Glycosylation between recombinant peanut protein *Ara h 1* and glucosamine could decrease the allergenicity due to the protein aggregation[J]. *LWT*, 2020, 127: 109374.

[51] 陈欣, 黄和, 李中权. 糖基化反应改善水产蛋白功能特性的研究进展[J]. *中国食物与营养*, 2010(4): 35-38. [CHEN Xin, HUANG He, LI Zhongquan. Research progress of glycosylation to improve functional properties of aquatic protein[J]. *Food and Nutrition in China*, 2010(4): 35-38.]

[52] 刘建华, 丁玉庭. 糖基化反应改善鱼肉肌原纤维蛋白功能特性及其机制研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(8): 132-136. [LI Jianghua, DING Yuting. Functional properties improvement and its mechanisms of fish myofibrillar proteins by glycation: A review[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2012, 38(8): 132-136.]

[53] 姜梦云, 刘俊荣, 周晏琳, 等. 栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 闭壳肌分离蛋白的糖基化特性[J]. *食品与发酵工业*, 2017, 43(9): 71-77. [JANG Mengyun, LIU Junrong, ZHOU Yanlin, et al. The characterization of glycosylation of protein isolated from *Chlamys farreri* adductor muscle[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2017, 43(9): 71-77.]

[54] 牛改改, 游刚, 李京丽. 还原糖对牡蛎蛋白肽糖基化反应产物功能特性与抗氧化性的影响[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(8): 44-49. [NIU Gaigai, YOU Gang, LI Lijing. Effects of reducing sugars on functional properties and antioxidant activities of glycosylation modification products of oyster protein hydrolysates[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(8): 44-49.]

[55] BANACH J C, LIN Z, LAMSAL B P. Enzymatic modification of milk protein concentrate and characterization of resulting functional properties[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2013, 54(2): 397-403.

[56] 刘云蛟, 张海燕, 刘淑晗, 等. 响应面优化南极磷虾蛋白酶解工艺及蛋白肽组分分析[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(1): 144-151, 280. [LIU Yunjiao, ZHANG Haiyan, LIU Shuhan, et al. Response surface optimization of proteolytic process and protein peptide composition analysis of antarctic krill[J]. *Modern Food Sci-*

ence and Technology, 2019, 35(1): 144-151, 280.]

[57] 吴国涛, 孙恢礼. 海洋贝类蛋白资源酶解利用[J]. *中国生物工程杂志*, 2007(9): 120-125. [WU Yuantao, SUN Huili. Research progress in utilizing marine shellfish proteins by enzymatic hydrolysis[J]. *China Biotechnology*, 2007(9): 120-125.]

[58] 李莹, 黄开红, 周剑忠, 等. 水产蛋白酶解制备鲜味肽[J]. *食品科学*, 2012, 33(13): 248-253. [LI Ying, HUANG Kaihong, ZHOU Jianzhong, et al. Preparation of umami peptides by enzymatic hydrolysis of proteins from aquatic products[J]. *Food Science*, 2012, 33(13): 248-253.]

[59] 骆静. 牡蛎蛋白小分子肽制备关键技术研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019. [LUO Jing. Study on the key technology of preparation of oyster protein small molecular peptide[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2019.]

[60] 张欣彩. 牡蛎酶解口服液加工工艺研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2014. [ZHANG Xincui. Study on the processed technology of oyster enzymolysis oral liquid[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2014.]

[61] 高雅鑫, 杨森, 李雨恬, 等. Box-Behnken 法优化双酶协同水解牡蛎蛋白工艺[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(10): 117-121, 127. [GAO Yaxin, YANG Sen, LI Yutian, et al. Employing box-behnken to optimize the preparation of enzymatic hydrolysate of oyster[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(10): 117-121, 127.]

[62] 杨森, 高雅鑫, 王琴, 等. 牡蛎牛磺酸抗氧化功能评价及产品加工关键技术[J]. *食品安全导刊*, 2017(12): 128-130. [YANG Sen, GAO Yaxin, WANG Qin, et al. Evaluation of antioxidant function of oyster taurine and key technology of product processing[J]. *China Food Safety Magazine*, 2017(12): 128-130.]

[63] 柏昌旺. 可控酶解制备牡蛎短肽工艺及其产品开发[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2019. [BAI Changwang. Study on the process of controlled enzymatic hydrolysis of oyster oligopeptides and its product development[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2019.]

[64] 李蛟, 杨键, 戴世鲲, 等. 扇贝蛋白酶解物中的新型抗氧化肽研究[J]. *中南药学*, 2018, 16(5): 633-636. [LI Jiao, YANG Jian, DAI Shikun, et al. Novel antioxidant peptides from scallops hydrolytic protein[J]. *Central South Pharmacy*, 2018, 16(5): 633-636.]

[65] 庞忠莉, 郑建仙. 双酶法制备牡蛎干酶解液及其体外抗氧化活性评价[J]. *食品与机械*, 2020, 36(4): 151-156. [PANG Zhongli, ZHENG Jianxian. Preparation of dried oyster hydrolysate by Bi-enzymatic method and evaluation of antioxidant activity *in vitro*[J]. *Food & Machinery*, 2020, 36(4): 151-156.]

[66] 张泽, 赵前程, 程继龙, 等. 长牡蛎蛋白双酶水解工艺及其产物的抗氧化活性[J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(11): 2315-2317. [ZHANG Ze, ZHAO Qiancheng, CHENG Jilong, et al. Study on bienzymatic hydrolysis of *crasostrea gigas* protein and the antioxidant activities of hydrolysate[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2012, 51(11): 2315-2317.]