

# 温度和时间对鲍鱼消化的影响及产物的ACE抑制活性

万楚君<sup>1</sup>, 谢雪琼<sup>1</sup>, 张凌晶<sup>1,2</sup>, 翁 凌<sup>1,2</sup>, 孙乐常<sup>1,2</sup>, 曹敏杰<sup>1,2</sup>

(1. 集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021;  
2. 水产品深加工技术国家地方联合工程研究中心, 福建 厦门 361021)

[摘要] 以皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) 为研究对象, 采用3种冻藏温度 (−18, −30, −80 ℃) 和3个冻藏时间 (3, 6, 12个月) 对鲍鱼肌肉进行冷冻处理, 采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE), 分析比较了不同冻藏方式下鲍鱼肌肉模拟胃肠液消化的产物特性, 利用扫描电镜观察了鲍鱼冷藏过程中肌肉微观结构的变化, 研究了各种冻藏鲍鱼消化终产物对血管紧张素转换酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 的抑制活性。结果表明: 胃蛋白酶、胰蛋白酶及胰凝乳蛋白酶对冻藏鲍鱼肌肉蛋白均能分解, 但冻藏时间越长, 鲍鱼肌肉越难被降解, 其消化速率为: 3个月 > 6个月 > 12个月。但是, 不同温度下冻藏相同时间对鲍鱼的消化速率无显著差异。扫描电镜观察发现, 冻藏时间对鲍鱼肌肉组织结构影响较大, 冻藏3个月的鲍鱼肌肉纤维间隙比新鲜鲍鱼的大, 但继续延长冻藏时间至6, 12个月, 肌肉蛋白凝集, 间隙减小。不同冻藏温度和时间鲍鱼肌肉胃肠液消化产物的ACE抑制活性顺序为: 3个月 > 6个月 > 12个月, 且不同冻藏温度下贮藏鲍鱼消化产物的ACE抑制活性无显著差异。

[关键词] 皱纹盘鲍; 冻藏温度; 冻藏时间; 模拟胃肠液; 消化; ACE抑制活性

[中图分类号] TS 201.2

## Effects of Freezing Temperature and Duration on Digestion Characteristics of Abalone (*Haliotis discus hannai*) and Its ACE Inhibitory Activity

WAN Chujun<sup>1</sup>, XIE Xueqiong<sup>1</sup>, ZHANG Lingjing<sup>1,2</sup>, WENG Ling<sup>1,2</sup>, SUN Lechang<sup>1,2</sup>, CAO Minjie<sup>1,2</sup>

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. National & Local Joint Engineering Research Center of Processing Technology for Aquatic Products, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** Three freezing temperatures (−18, −30, −80 ℃) and three freezing durations (3, 6, 12 months) were designed for abalone (*Haliotis discus hannai*) muscular protein change investigation during storage. Simulated gastric fluid (SGF) as well as simulated intestinal fluid (SIF) was used to study the effect of *in vitro* digestion and the changes were evaluated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Scanning electronic microscopy (SEM) was employed to observe the changes of muscle microstructures during abalone storage. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of the digested products was analyzed. The results showed that muscular proteins of abalone could be effectively digested by pepsin, trypsin and chymotrypsin. However, it would be more difficult for samples stored for longer durations

[收稿日期] 2018-11-14

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (31471640); 福建省科技计划项目 (2017N5011); 农业部贝类产业技术体系项目 (CARS-49)

[作者简介] 万楚君 (1992—), 女, 硕士生, 从事水产加工研究。通信作者: 曹敏杰 (1964—), 男, 教授, 主要从事蛋白质化学及水产品深加工研究。E-mail: mjcao@jmu.edu.cn

and the digestion rates were 3 months > 6 months > 12 months. In addition, no obvious difference in the digestion rate was observed for samples stored at different temperatures for same time intervals. SEM study revealed that freezing duration had a greater impact on the tissue structures. The muscle tissue gaps of abalone stored for 3 months was wider than that of fresh abalone while muscular fiber aggregation and gap diminishing was observed after storage for 6 or 12 months. The ACE inhibitory activities of the gastrointestinal fluids digested products of abalones stored at different freezing temperatures and durations were in the following orders: 3 months > 6 months > 12 months. No significant difference in the ACE inhibitory activity of the digested products of abalones stored at different freezing temperatures was detected.

**Keywords:** *Haliotis discus hannai*; freezing temperature; freezing time; simulated gastrointestinal fluid; digestion; ACE inhibitory activity

## 0 引言

鲍鱼是我国传统的名贵食材,营养丰富,味道鲜美,深受消费者喜爱。2017年,我国鲍鱼总产量14.85万t,其中,福建省鲍鱼产量达12.34万t,占全国总产量的83.1%<sup>[1]</sup>。现有的鲍鱼销售方式除鲜销外,以加工中冻鲍、干鲍及鲍鱼罐头等为主。冻藏鲍鱼由于能较好保持产品原有的风味、口感和营养价值,受到广大消费者的青睐。

冷冻是延长食品货架期最有效的方法之一<sup>[2]</sup>,也是鲍鱼流通的重要方式。因此,对冷冻贮藏过程中鲍鱼品质变化的研究很有必要。鲍鱼及其制品的产品质量与其肌肉的组织结构密切相关,已有很多文献对鲍鱼肌肉微观结构的影响因素作了研究<sup>[3-5]</sup>,发现,鲍鱼在加工过程中蛋白质变性、可溶性物质流失、组织构造变化等可引起各项流变学指标的变化<sup>[6]</sup>。但关于不同冻藏温度和时间对鲍鱼肌肉组织结构的影响以及主要消化酶对冻藏鲍鱼肌肉消化特性的研究均未见有报道。

另外,我国是心血管疾病发病率较高的国家。研究发现,血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)催化血管紧张素I水解产生血管紧张素II,后者与血管、支气管平滑肌作用引起两管收缩,是导致血压上升的主要原因<sup>[7]</sup>。因此,抑制ACE活性将有效控制血压上升。在前期的工作中发现,不同加工方式处理的皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)制品经模拟胃肠液消化后的终产物对ACE的抑制活性存在差异<sup>[8]</sup>。但是,冷冻贮藏鲍鱼的ACE抑制活性尚未进行相关研究。基于此,本文以我国高产的皱纹盘鲍为研究对象,采用3种冻藏温度(-18, -30, -80℃)和3个冻藏时间(3, 6, 12个月)冷冻鲍鱼,通过体外模拟胃肠液消化研究胃蛋白酶、胰蛋白酶及胰凝乳蛋白酶对冷冻鲍鱼肌肉的消化效果,利用扫描电镜探讨不同冻藏温度对鲍鱼肌肉微观结构的影响,进一步分析了消化终产物的ACE抑制活性,以期对鲍鱼冻藏加工提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

鲜活皱纹盘鲍,带壳平均体质量(50.0 ± 4.0)g,购自厦门集美市场。

SDS-PAGE用标准蛋白(10~200 ku)为Fermentas公司产品;猪血管紧张素转换酶、猪胃蛋白酶、猪胰蛋白酶、牛胰凝乳蛋白酶和马脲酰组氨酰亮氨酸(Hip-His-Leu, HHL)均为Sigma公司产品;甲醇和乙酸乙酯等分析纯试剂均为国药集团化学试剂有限公司产品。

### 1.2 仪器与设备

组织捣碎机(PT-2100),瑞士Kinematica公司;pH计(Starter 3100),德国Sartorius公司;恒温水浴锅(WB-10L1),德国Mettler公司;蛋白质电泳仪,美国Bio-Rad公司;全自动凝胶成像分析系统(Syngene),英国Syngene公司;紫外分光光度计(Lambda 35),美国Perkin Elmer公司;台式扫描电子显微镜(Phenom-World BV),荷兰Phenom公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 冻藏方法

鲍鱼冻藏方法参考郑瑞生等<sup>[9]</sup>方法略作修改,具体如下:将鲍鱼去壳和内脏,取肉洗净,单个独立真空包装后分别置于对应的温度冷冻后在该温度下冻藏。冷库温度为 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,冰箱温度为 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,冻藏时间分为3,6,12个月。

#### 1.3.2 解冻方法

鲍鱼解冻方法参考欧阳杰等<sup>[10]</sup>方法略作修改,冻藏鲍鱼带包装用流水解冻30 min。

#### 1.3.3 模拟胃肠液消化样品的制备

将新鲜鲍鱼或解冻后的冷冻鲍鱼肌肉分别用沸水煮制10 min,冷却后切碎(大小约为 $2\text{ mm}\times 2\text{ mm}\times 3\text{ mm}$ ),切碎肌肉与消化液(含 $0.15\text{ mol/L NaCl}$ )按质量体积比1:8混合后进行间歇性组织捣碎5次,每次4~5 min,匀浆液即为消化试验用的鲍鱼样液。

#### 1.3.4 模拟胃液、肠液消化试验

模拟胃液(simulated gastric fluid, SGF)、模拟肠液(simulated intestinal fluid, SIF)消化参照美国药典<sup>[11]</sup>方法配制。不同冻藏条件的鲍鱼肌肉体外模拟胃液、肠液消化参照文献[8]进行。

#### 1.3.5 模拟胃肠液消化总过程

不同条件下冷冻的鲍鱼肌肉模拟胃肠液总消化反应参照文献[8]进行。

#### 1.3.6 SDS-PAGE

SDS-PAGE主要参照Laemmli<sup>[12]</sup>的方法,模拟胃液消化产物SDS-PAGE分析采用浓缩胶质量分数为5%、分离胶质量分数为8%,而模拟肠液和总消化产物SDS-PAGE分析采用浓缩胶质量分数为5%、分离胶质量分数为15%。

#### 1.3.7 皱纹盘鲍肌肉微观结构分析

将鲍鱼肌肉纵切成1 mm左右薄片,样品用质量分数2.5%戊二醛溶液固定,过夜;次日,倒掉固定液后用 $0.1\text{ mol/L}$ 磷酸缓冲液( $\text{pH}=7.2$ )冲洗3次,每次15 min。之后,样品依次使用不同浓度乙醇溶液(体积分数50%,70%,80%,90%,95%)进行梯度脱水处理,每次15 min,再用体积分数99.5%乙醇连续处理2次,每次20 min。最后,样品用含体积分数50%乙醇的醋酸异戊酯浸泡30 min,弃之,换体积分数100%醋酸异戊酯浸泡过夜。以上处理均在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下完成。处理完毕的样品于二氧化碳临界点干燥,干燥后将样品粘在样品座的导电胶带上,离子溅射喷金,放置在扫描电镜下观察,记录成像结果<sup>[13]</sup>。

#### 1.3.8 ACE抑制活性的测定

ACE抑制活性的测定参考文献[13]的方法略作修改。

## 2 结果与分析

### 2.1 冷冻鲍鱼模拟胃液消化的SDS-PAGE分析

利用胃蛋白酶分别对 $-18$ 、 $-30$ 、 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冻藏3,6,12个月的鲍鱼肌肉进行酶解,以新鲜鲍鱼肌肉为对照,用SDS-PAGE进行分析,结果见图1。由图1可知,未经消化酶作用的样品(0 min)中,均可观察到肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)、副肌球蛋白(paramyosin, PM)以及肌动蛋白(actin)条带,特别是PM的丰度很高。胃蛋白酶可在短时间(5 min)内将新鲜鲍鱼及冷冻鲍鱼的MHC、PM、actin主条带降解。图1b给出了不同温度( $-18$ 、 $-30$ 、 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ )下冻藏相同时间的消化情况,结果发现,鲍鱼肌肉蛋白的胃消化进程与冻藏温度不显著相关;相同温度下冻藏不同时间,鲍鱼肌肉在胃蛋白酶作用下的消化产物,发现其降解速率随冻藏时间的延长而降低。即便是在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻的鲍鱼,12个月后胃蛋白酶对其肌肉蛋白的分解效率也比 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻3个月、6个月的样品低,特别是分子质量为60~70 ku的消化产物浓度明显偏高,说明冷冻时间过长容易导

致蛋白质变性, 影响消化率。

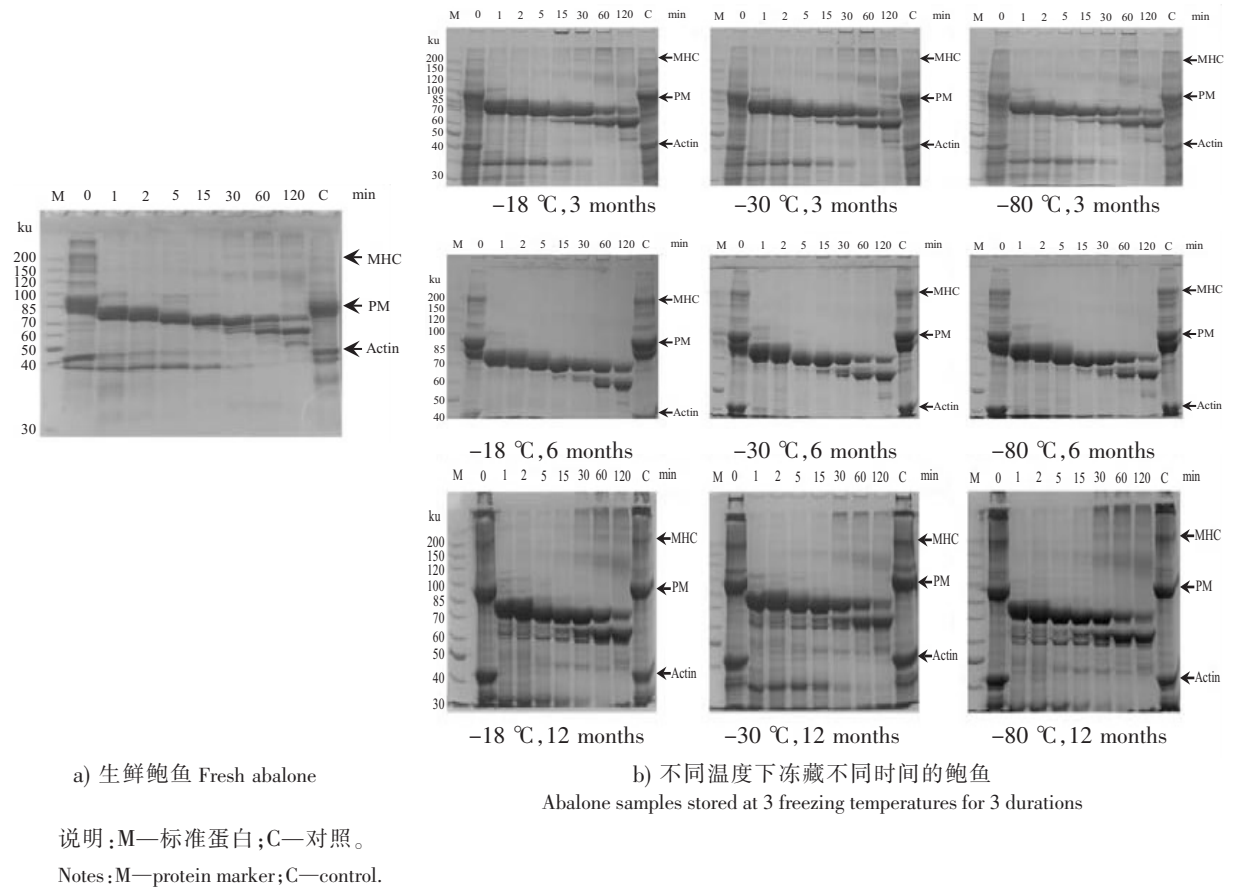


图 1 皱纹盘鲍肌肉蛋白模拟胃液消化的 SDS-PAGE 分析  
Fig.1 SDS-PAGE analysis of SGF digestion abalone (*Haliotis discus hannai*) muscle protein

## 2.2 冷冻鲍鱼模拟肠液消化的 SDS-PAGE 分析

人体中主要的蛋白消化酶是胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶。Do 等<sup>[14]</sup>的研究表明, 牛奶中的致敏蛋白经酸变性和胃蛋白酶酶解后, 可显著降低其致敏性。但对于胃病患者, 由于胃酸过度分泌, 破坏胃黏膜, 导致胃蛋白酶原分泌失调, 降低胃蛋白酶活性。因此, 单独研究肠道中胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶对蛋白质的酶解作用是有必要的。

由图 2 可见, 对于新鲜鲍鱼及所有冷冻鲍鱼制品, 其肌肉中 MHC 及 PM 均在 5 min 内被胰蛋白酶显著降解。不同于胃蛋白酶的消化作用, 胰蛋白酶对不同冻藏鲍鱼肌肉中 actin 的酶解速率较为缓慢, 其中冻藏 3 个月和 6 个月的鲍鱼肌肉在胰蛋白酶消化至 180 min 时, actin 才被完全降解。

由图 3 可见, 在不同温度下冻藏相同时间的鲍鱼, 经胰凝乳蛋白酶单独消化的结果与胰蛋白酶相似, 随着消化时间的延长, 主要肌原纤维蛋白 (MHC, PM, actin) 被逐渐降解。但对于相同温度下冻藏不同时间的鲍鱼, 其降解情况存在一定的差异, 冻藏 12 个月的鲍鱼肌肉蛋白在凝胶的分离胶上部出现条带聚集现象, 推测这是由于冷冻过程中蛋白质变性形成的聚合物。这种聚合物经胰凝乳蛋白酶消化至 240 min 仍无明显变化 (见图 3b), 稳定性良好。与新鲜鲍鱼经胰凝乳蛋白酶消化相比较, 冷冻鲍鱼肌肉的消化速率明显较之缓慢, 表明冷冻处理导致的鲍鱼肌肉蛋白变性将会显著影响胰凝乳蛋白酶对其的酶解效果。不同消化酶酶解蛋白产生的降解产物存在明显差异, 这是由不同消化酶的底物特异性不同决定的<sup>[15]</sup>。



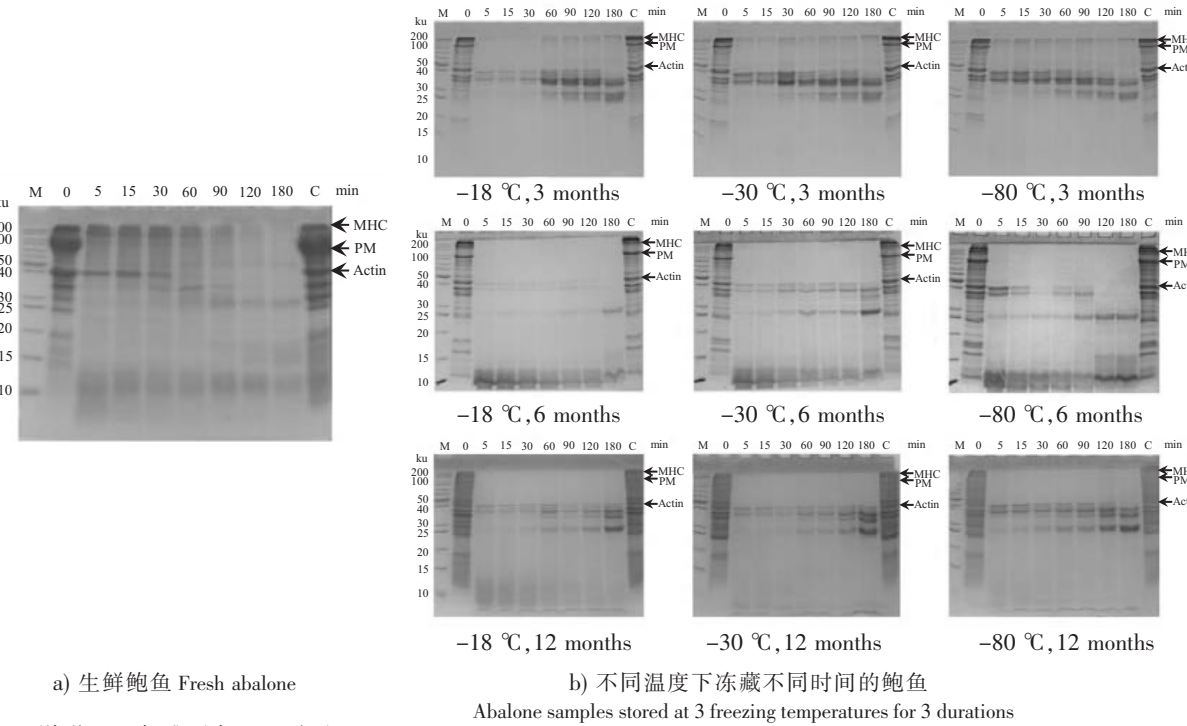


图 2 皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) 肌肉蛋白胰蛋白酶消化的 SDS-PAGE 分析

Fig.2 SDS-PAGE analysis of trypsin digested abalone(*Haliotis discus hannai*) muscle protein

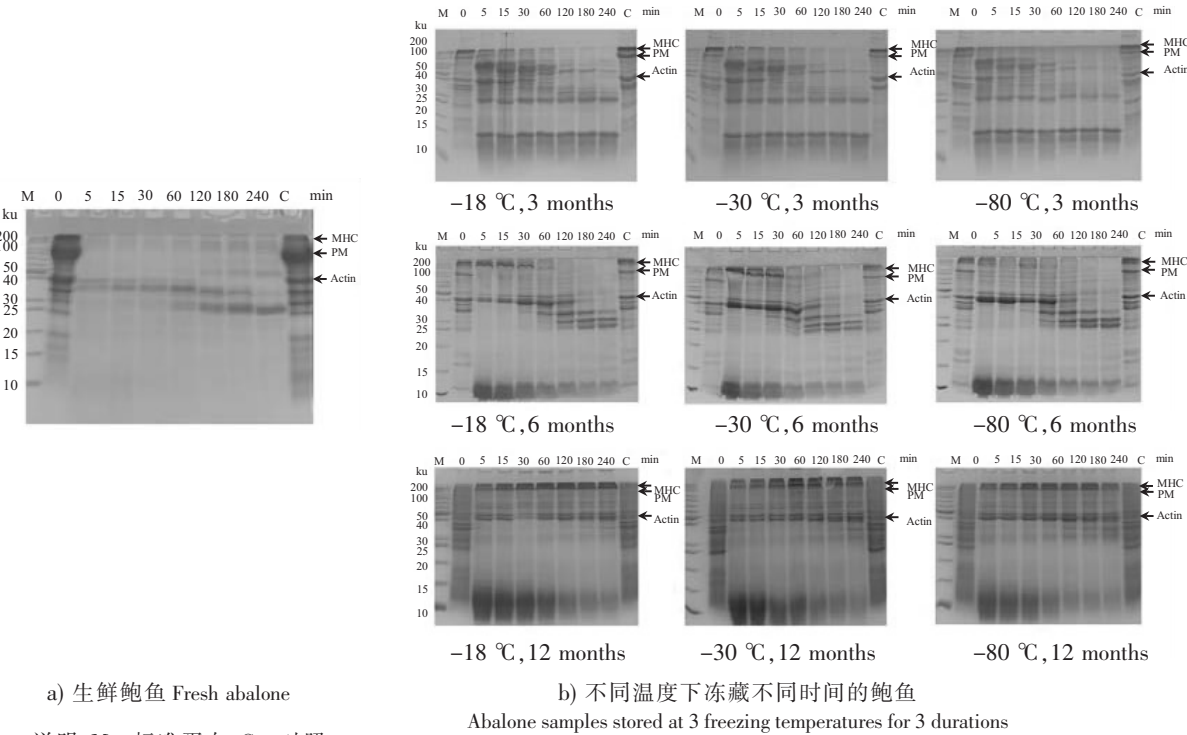
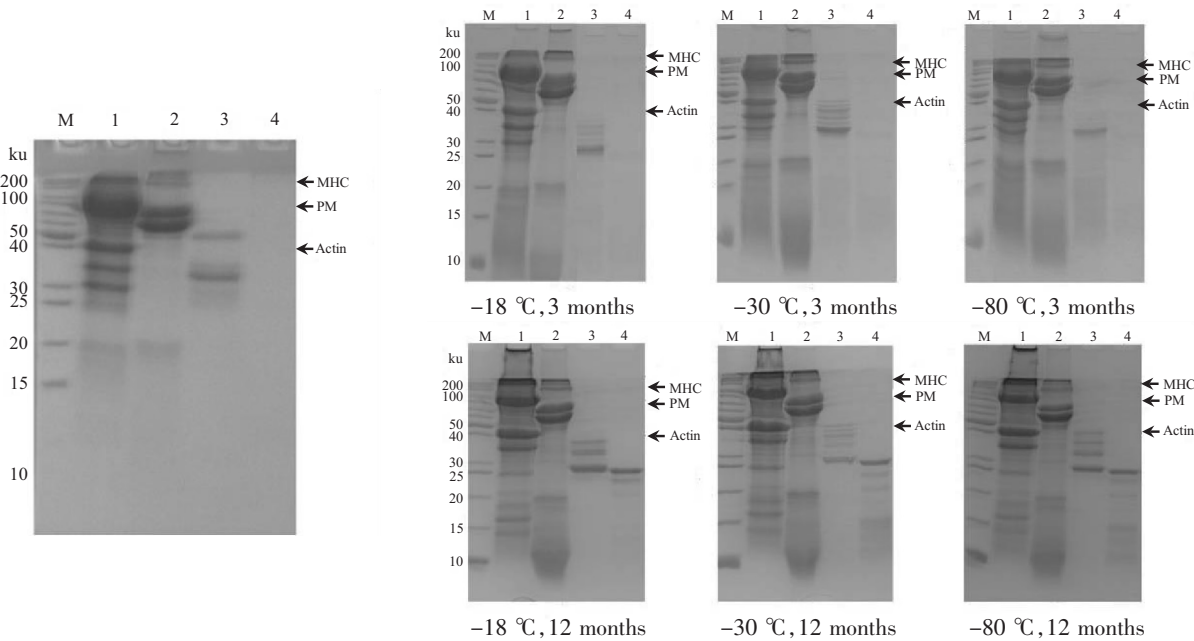


图 3 冷冻皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) 肌肉蛋白胰凝乳蛋白酶消化的 SDS-PAGE 分析

Fig.3 SDS-PAGE analysis of chymotrypsin digested abalone(*Haliotis discus hannai*) muscle protein

2.3 冷冻鲍鱼模拟总消化的 SDS-PAGE 分析

进一步通过体外模拟胃肠液总消化, 探讨不同温度冻藏鲍鱼肌肉的消化情况。结果 (见图 4) 显示, 与新鲜鲍鱼相比, 不同温度冻藏鲍鱼的消化速率有一定差异。相同温度下, 鲍鱼冻藏的时间越长, 在模拟胃肠液中的消化速率越低。但对于冻藏相同时间的鲍鱼, 冻藏温度对消化速率的影响无明显差别。所有鲍鱼肌肉经胃蛋白酶消化 60 min 后, 主要结构蛋白的原始条带均被一定程度分解, 再经胰蛋白酶继续消化 120 min, 大部分条带已经消失。最后经胰凝乳蛋白酶消化 240 min 后, 几乎所有蛋白质被降解完全。但是, 在 3 种不同温度下冻藏 12 个月的鲍鱼肌肉仍有分子质量为 25 ku 的条带不能够被降解 (见图 4b), 说明冻藏时间越长, 蛋白质的变性程度越高, 越难被主要消化酶分解。总之, 与单独消化不同, 在模拟总消化过程中, 不同冻藏温度下贮藏的鲍鱼肌肉蛋白经胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶消化后大多可被完全降解。推测这是由于经过胃蛋白酶消化后, 肌肉蛋白中可被胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶作用的位点暴露较为完全, 间接证明了胃蛋白酶对于蛋白质消化的重要性。



a) 生鲜鲍鱼 Fresh abalone

b) 不同温度下冻藏不同时间的鲍鱼

Abalone samples stored at 3 freezing temperatures for 3 durations

说明: M—标准蛋白; 1—对照; 2—胃蛋白酶消化 60 min; 3—胃蛋白酶消化样品经胰蛋白酶消化 120 min; 4—胃蛋白酶和胰蛋白酶消化样品经胰凝乳蛋白酶消化 240 min。  
Notes: M—protein marker; 1—control; 2—pepsin digestion for 60 min; 3—pepsin digested sample digested by trypsin for 120 min; 4—pepsin and trypsin digested sample further digested by chymotrypsin for 240 min.

图 4 皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) 肌肉蛋白模拟总消化的 SDS-PAGE 分析

Fig.4 SDS-PAGE analysis of total digested abalone (*Haliotis discus hannai*) muscle protein

2.4 冷冻鲍鱼微观结构分析

采用扫描电子显微镜对不同冻藏鲍鱼肌肉的微观结构进行观察, 结果显示, 新鲜鲍鱼肌肉结构完整, 成束状规则排列 (见图 5a)。由图 5b 可见, 相同温度下的冷冻鲍鱼随着冻藏时间延长, 其肌肉纤维束凝聚明显。冻藏 3 个月的鲍鱼, 肌肉纤维间隙较鲜鲍大, 这可能是由于冻结过程中冰晶体的形成造成机械损伤引起的<sup>[16-17]</sup>。随着冻藏时间延长, 鲍鱼肌肉纤维间隙反而减小, 推测是冻藏时间延长干耗<sup>[18]</sup>增加以及蛋白质变性凝集所导致。不同温度下贮藏相同时间, 鲍鱼肌肉的差异不显著, 该

结果与崔瑞颖等<sup>[19]</sup>研究不同冷冻方式对海湾扇贝闭壳肌组织结构的影响不明显的结果相一致。

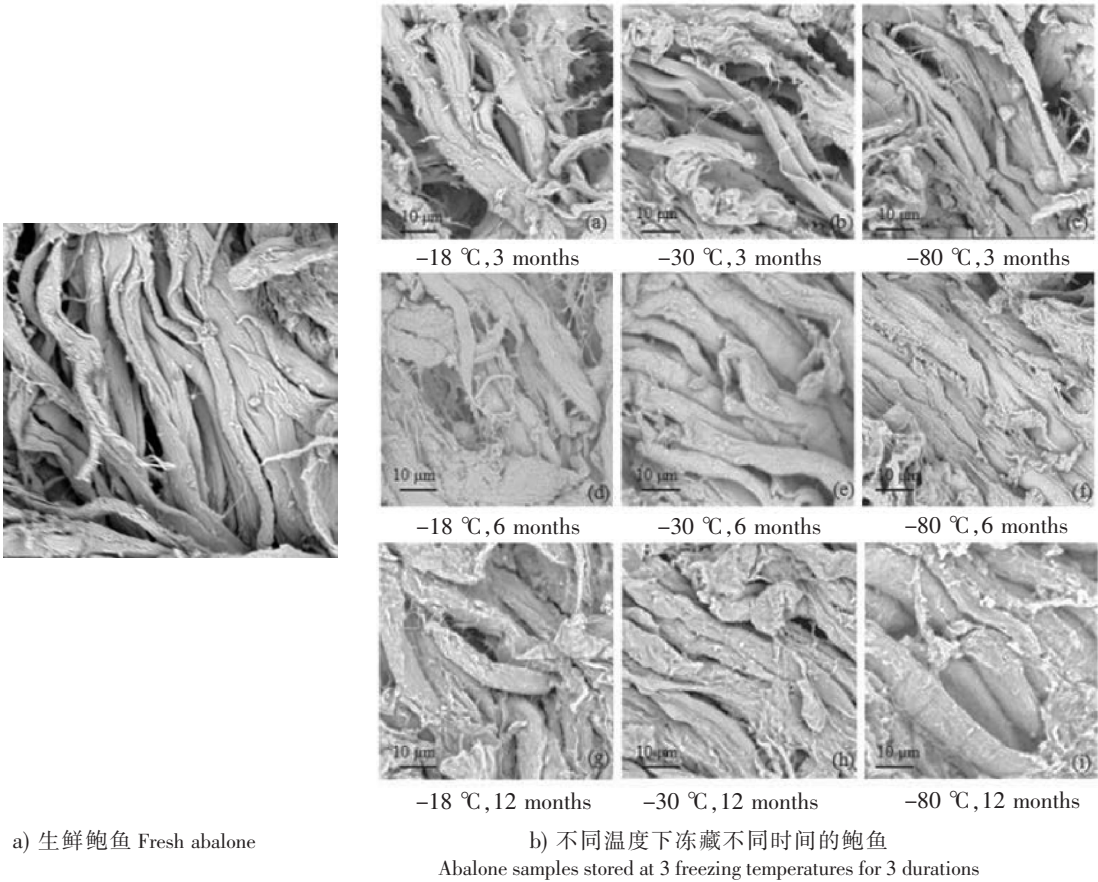


图 5 冷冻皱纹盘鲍肌肉组织结构的扫描电镜图(纵切,×5000)

Fig.5 Scanning electron micrographic views of abalone (*Haliotis discus hanna*) muscle (In vertical direction, ×5000)

2. 5 冷冻鲍鱼消化终产物抑制 ACE 的活性分析

对不同冻藏温度和时间的时间的冷冻鲍鱼肌肉体外模拟胃肠液消化终产物进行 ACE 抑制活性分析。结果（见图 6）显示，在不同温度下冻藏相同时间的鲍鱼肌肉，其消化产物的 ACE 抑制活性无显著性差异，如在 - 18，- 30 和 -80 °C 冻藏 3 个月的鲍鱼，酶解产物的 ACE 抑制活性（IC<sub>50</sub>）分别为（0.680 ± 0.015），（0.660 ± 0.030），（0.670 ± 0.012）g/L，没有显著差异。而鲍鱼在不同温度下冻藏 3 个月的消化终产物的 ACE 抑制活性均略高于同样温度下冻藏 6 个月和 12 个月的样品。图 6 结果表明，3 种主要消化酶联合作用对冷冻鲍鱼均能产生有效降解，且降解产物对 ACE 均表现出抑制活性。

食物源蛋白经胃肠液消化酶酶解后可释放出多种不同分子质量并具有各种潜在生理功能的小肽。尽管这些小肽在体外实验中大多能表现出生物活性，但其仍然存在生物利用度低等问题，在实际应用

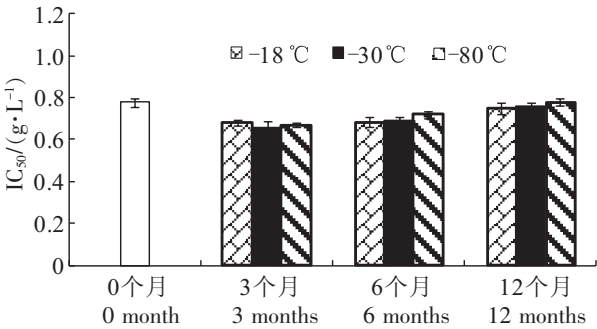


图 6 不同温度与时间冻藏皱纹盘鲍肌肉消化终产物的 ACE 抑制活性

Fig.6 Comparison of ACE inhibitory activities of SGF and SIF digested abalone(*Haliotis discus hanna*) muscle proteins stored under different freezing temperatures and durations

中面临巨大挑战。研究发现,许多高体外活性的ACE抑制肽,经体内消化酶消化后降低甚至失去了原有的降血压活性<sup>[20-22]</sup>。由于ACE抑制肽需要通过小肠上皮细胞的吸收和转运,之后进入血液循环,从而产生抑制ACE的活性<sup>[23-25]</sup>。因此,生物活性肽能够发挥生理功能的重要前提是该活性肽在人体消化道中能抵抗胃肠液蛋白酶的消化及实现在小肠上皮细胞的转运。体外胃肠液消化实验可以模拟食物进入胃肠道的消化过程,因而利用主要消化酶酶解得到的ACE抑制肽有望在动物实验时有效解决被消化酶降解而导致的失活问题。ACE抑制肽源于多种动物性蛋白质<sup>[26-28]</sup>。此外,食品加工方式的不同也将影响食物源蛋白质的品质,从而影响其在体内的消化率,导致消化产物中活性肽产量高低不同和活性差异问题。因此,对食品加工方式和工艺的优化是提升食品生物利用度的必然选择。

### 3 结论

本研究以皱纹盘鲍为研究对象,探讨了不同冻藏温度和时间对鲍鱼肌肉消化特性及组织结构的影响。模拟胃肠液消化结果显示,冻藏时间越长,鲍鱼越难被消化,但不同温度下冻藏相同时间的样品消化速率无明显差异。扫描电镜观察结果表明,冷冻贮藏3个月的鲍鱼,肌肉纤维间隙较大,随着冻藏时间的延长(6,12个月),由于干耗和蛋白质冷冻变性,肌肉纤维间隙变小。对冻藏鲍鱼模拟胃肠液消化终产物的ACE抑制活性分析发现,相同温度下冻藏3个月的鲍鱼消化产物的ACE抑制活性最高,而不同温度下冻藏相同时间的鲍鱼消化产物的ACE抑制活性无显著差异。

### [参考文献]

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2017: 23-27.
- [2] KIANI H, SUN D W. Water crystallization and its importance to freezing of foods: a review [J]. Trends in Food Science and Technology, 2011, 22(8): 407-426. DOI:10.1016/j.tifs.2011.04.011.
- [3] 陶志鹏, 张凌晶, 翁凌, 等. 鲍鱼肌肉原纤维结合型蛋白酶的初步鉴定 [J]. 集美大学学报(自然科学版), 2015, 20(2): 98-104.
- [4] 游银川. 皱纹盘鲍肌肉质相关蛋白酶的研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2016.
- [5] PORTURAS O R, USHIO H, WATABE S, et al. Toughness and collagen content of abalone muscles [J]. Bioscience Biotechnology & Biochemistry, 1993, 57(1): 6-11. DOI:10.1271/bbb.57.6.
- [6] GAO X, TASHIRO Y, OGAWA H. Rheological properties and structural changes in steamed and boiled abalone meat [J]. Fisheries Science, 2002, 68(3): 499-508.
- [7] MORA L, GALLEGO M, TOLDRÁ F. ACEI-inhibitory peptides naturally generated in meat and meat products and their health relevance [J]. Nutrients, 2018, 10(9): 1259. DOI:10.3390/nu/0091259.
- [8] 万楚君, 游银川, 翁凌, 等. 四种加工方式对皱纹盘鲍制品消化特性的影响 [J]. 水产学报, 2017, 41(6): 928-936.
- [9] 郑瑞生, 王则金. 不同冻藏条件下鲍鱼质构及感官变化的研究 [J]. 食品科技, 2013, 38(5): 165-171.
- [10] 欧阳杰, 谈佳玉, 沈建. 速冻方式与温度对鲍鱼品质的影响 [J]. 现代食品科技, 2014, 30(6): 214-218.
- [11] United States Pharmacopeial Convention, Committee of Revision. The United States Pharmacopeia USP23: the national formulari NF 18; national formulary supplements 1-9 [M]. Netherlands: Springer, 1987.
- [12] LAEMMLI U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. Nature, 1970, 227(5259): 680-685.
- [13] CUSHMAN D W, CHEUNG H S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung [J]. Biochemical Pharmacology, 1971, 20(7): 1637-1648.
- [14] DO A B, WILLIAMS K, TOOMER O T. *In vitro* digestibility and immunoreactivity of bovine milk proteins [J]. Food Chemistry, 2016, 190: 581-587. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.05.113.
- [15] ASTWOOD J D, LEACH J N, FUCHS R L. Stability of food allergens to digestion *in vitro* [J]. Nature Biotechnology, 1996, 14(10): 1269-1273.



- [16] NGAPO T M, BABARE I H, REYNOLDS J, et al. Freezing rate and frozen storage effects on the ultrastructure of samples of pork [J]. Meat Science, 1999, 53(3): 159-168.
- [17] 章超桦, 薛长湖. 水产食品学 [M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2010: 134-135.
- [18] 李先明, 刘宝林, 李维杰, 等. 不同包装对风冷冰箱中冷冻猪肉品质的影响 [J]. 制冷学报, 2016, 37(6): 104-112.
- [19] 崔瑞颖, 焦学芹, 祖铁红, 等. 冷冻方式对海湾扇贝闭壳肌大分子物质及组织结构的影响 [J]. 食品科技, 2014, 39(2): 134-138.
- [20] LI G H, LE G W, SHI Y H, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects [J]. Nutrition Research, 2004, 24(7): 469-486.
- [21] LEE S Y, SUN J H. Antihypertensive peptides from animal products, marine organisms, and plants [J]. Food Chemistry, 2017, 228: 506-517. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.02.039.
- [22] TOOPCHAM T, MES J J, WICHERS H J, et al. Bioavailability of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from *Virgibacillus halodenitrificans* SK1-3-7 proteinases hydrolyzed tilapia muscle proteins [J]. Food Chemistry, 2017, 220: 190-197. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.09.183.
- [23] FOLTZ M, CERSTIAENS A, VAN M A, et al. The angiotensin converting enzyme inhibitory tripeptides Ile-Pro-Pro and Val-Pro-Pro show increasing permeabilities with increasing physiological relevance of absorption models [J]. Peptides, 2008, 29(8): 1312-1320. DOI:10.1016/j.peptides.2008.03.021.
- [24] FU Y, YOUNG J F, RASMUSSEN M K, et al. Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory peptides from bovine collagen: insights into inhibitory mechanism and transepithelial transport [J]. Food Research International, 2016, 89: 373-381. DOI:10.1016/j.foodres.2016.08.037.
- [25] FAN H B, XU Q B, HONG H, et al. Stability and transport of spent hen-derived ACE-inhibitory peptides IWHHT, IWH, and IW in human intestinal caco-2 cell monolayers [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(43): 11347-11354.
- [26] GROOTAERT C, MATTHIJS B, VOORSPOELS S, et al. Egg-derived bioactive peptides with ACE-inhibitory properties: a literature update [J]. Food & Function, 2017, 8(11): 3847-3855.
- [27] 薛海燕, 薛丽欢, 贺宝元, 等. 牛乳酪蛋白体外模拟消化液的 ACE 抑制活性及其肠道吸收 [J]. 现代食品科技, 2018, 34(6): 9-17.
- [28] 赵玉菲, 顾伟, 徐永健, 等. 大海马 ACE 抑制肽的制备及其理化性质分析 [J]. 中国食品学报, 2018, 18(4): 139-147.

(责任编辑 马建华 英文审校 刘静雯)