

橙汁主要营养成分及 温度处理对脂环酸芽胞杆菌生长的影响

唐翠娥¹, 彭丽桃¹, 李 颀¹, 孙双勋², 杨书珍^{1,*}
(1.华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070;
2.洛阳市食品药品监督管理局, 河南洛阳 471072)

摘要:本文研究了橙汁主要营养成分和加工中温度处理等因素对两种引起已灭菌果汁腐败的主要病原微生物酸土脂环酸芽胞杆菌(*Alicyclobacillus acidoterrestris*)和酸热脂环酸芽胞杆菌(*Alicyclobacillus acidocaldarius*)生长的影响。结果表明,柠檬酸、蔗糖、矿物质(钙、镁和钾元素)等橙汁中的主要营养成分在一定浓度范围内均可以促进两种脂环酸芽胞杆菌的生长。酸热脂环酸芽胞杆菌和酸土脂环酸芽胞杆菌在蔗糖浓度分别高于25%和20%时,生长受到抑制。当环境中钾浓度高于1000mg/L时,酸土脂环酸芽胞杆菌生长的生长受到抑制。在不同橙汁含量的饮料中,橙汁原汁最适合两种脂环酸芽胞杆菌的生长,而浓缩果汁中两种菌的生长量最少。温度处理实验表明,两种脂环酸芽胞杆菌分别经(-20、4、30、50、70、90℃)处理30min后,仍能保持良好的生长状态。当菌体经121℃处理30min时,生长几乎完全受到抑制。因此,橙汁饮料及橙汁原汁更容易感染酸土脂环酸芽胞杆菌和酸热脂环酸芽胞杆菌;通过巴氏杀菌很难彻底杀灭橙汁中的脂环酸芽胞杆菌,有必要寻求新型非热杀菌方法来控制橙汁中脂环酸芽胞杆菌。

关键词:橙汁,营养成分,温度处理,酸土脂环酸芽胞杆菌,酸热脂环酸芽胞杆菌

Effect of nutritional ingredient and temperature-treatment of orange juice on the growth of *Alicyclobacillus*

TANG Cui-e¹, PENG Li-tao¹, LI Jie¹, SUN Shuang-xun², YANG Shu-zhen^{1,*}

(1.College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2.Luoyang Food and Drug Administration, Luoyang 471072, China)

Abstract: The objective of this study was to evaluate the effects of nutritional ingredient, concentration and temperature treatment of orange juice on the growth of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and *Alicyclobacillus acidocaldarius*, which associated with the spoilage of pasteurized fruit juice. The results showed citric acid, sugar, mineral element (calcium, magnesium, potassium) could increase the growth of *A. acidoterrestris* and *A. acidocaldarius* in a certain concentration range. While the growth of *A. acidoterrestris* and *A. acidocaldarius* would be inhibited when sugar content in the medium was above 20% and 25% separately. The medium with potassium content above 1000mg/L was not good for the microbial growth. Among the different concentration orange juice drink, orange juice was most suitable for the growth of the microbe. The biomass of the microbe in the orange juice concentration was least. In the temperature treatment, the microbe could maintain normal growth at the range of (-20, 4, 30, 50, 70, 90℃) for 30min, and it was nearly inhibited completely at the 121℃, 30min. According to the results, it would be concluded the orange juice drink was suitable for the growth of the *A. acidoterrestris* and *A. acidocaldarius*. Temperature treatment was not an effective way to control the *A. acidoterrestris*, and it was necessary to find the new non-thermal sterilization method to control the *A. acidoterrestris* in the orange juice.

Key words: orange juice; nutritional ingredient; temperature treatment; *A. acidoterrestris*; *A. acidocaldarius*

中图分类号: TS275.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)10-0299-05

脂环酸芽胞杆菌(*Alicyclobacillus*)是脂环酸芽胞杆菌属,革兰阳性(仅有一株为革兰阴性)的芽胞杆菌,主要分布于高酸的热环境、土壤及水果加工

品种,如苹果、桔子、芒果等^[1]。其中,酸土脂环酸芽胞杆菌(*A. acidoterrestris*)和酸热脂环酸芽胞杆菌(*A. acidocaldarius*)是导致已灭菌果汁腐败变质的主要微生物,其代谢产物愈创木酚、2,6-二溴苯酚等在极低浓度下(0.01%)就会导致果汁出现口感和风味变劣,使澄清果汁出现浊度乃至形成白色沉淀等质量问题^[2-3]。目前,国际贸易严格规定每10mL浓缩果

收稿日期:2012-10-29 * 通讯联系人

作者简介:唐翠娥(1983-),女,硕士,研究方向:食品贮藏与保鲜。

基金项目:中央高校专项研究经费(2010QC020)。

汁中脂环酸芽孢杆菌数量不得超过1个^[4]。近年来,由脂环酸芽孢杆菌引起的已灭菌果汁腐败事件在美国、澳大利亚、日本等相继大规模的发生,已经引起了果汁生产企业及科学家的广泛关注^[5]。已有研究表明,脂环酸芽孢杆菌生长情况与其所处环境关系密切,橙汁和梨汁最适合脂环酸芽孢杆菌的生长,其次是苹果汁、桃汁、白葡萄汁,而在柚子汁中仅能缓慢生长^[6]。在苹果汁中,当温度低于30℃或可溶性固形物含量高于20°Brix时嗜酸耐热菌即无法繁殖。因此,研究环境条件对果汁中的脂环酸芽孢杆菌生长影响,对进一步寻找控制果汁中脂环酸芽孢杆菌的途径具有重要意义。目前有关脂环酸芽孢杆菌的研究主要集中在新菌株的鉴定和检测方面,对于果汁中营养成分及加工条件对脂环酸芽孢杆菌生长的影响研究较少。因此,本实验以引起已灭菌果汁常见的病原菌酸土和酸热脂环酸芽孢杆菌为研究对象,研究橙汁中的主要营养成分、橙汁浓度及加工条件等因素对两种果汁中常见的酸热和酸土脂环酸芽孢杆菌生长的影响,以期为进一步寻找脂环酸芽孢杆菌的控制途径提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

酸土脂环酸芽孢杆菌(*A.acidoterrestris* DSM3922)、酸热脂环酸芽孢杆菌(*A.acidophilus* DSM14558)均购自德国菌种保藏中心;蔗糖、柠檬酸等为食品级;硫酸铵、氯化钙、硼酸、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、无水硫酸镁、无水氯化钙等为分析纯级,以上试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。

SB-1000型旋转蒸发器 上海爱朗仪器有限公司;SW-CJ-1G型超净工作台 安徽蚌埠净化设备厂;SHZ-82型气浴恒温振荡器 江苏亿通电子有限公司;MJ-250BP02A型榨汁机 广东美的生活电器制造有限公司;YXQ-SG41-280B型手提式压力蒸汽灭菌器 上海华线医用核子仪器有限公司。

1.2 橙汁的制备

新鲜无损伤的脐橙果实,采用离心式榨汁机榨汁,果汁灌装后密封置于-20℃下保存备用。浓缩果汁的制备采用旋转蒸发器对橙汁进行浓缩,直到糖度达到50°brix,灭菌后保存。

1.3 脂环酸芽孢杆菌的培养及生长量测定

1.3.1 脂环酸芽孢杆菌的培养基制备 按ATCC提供的1656 BAM-SM培养基配方并添加金属离子溶液配制成分离培养基。CaCl₂·2H₂O 0.25g、MgSO₄·7H₂O 0.5g、(NH₄)₂SO₄ 0.2g、KH₂PO₄ 3.0g、Yeast extract 6g、微量金属溶液1mL(CaCl₂·2H₂O 0.66g、ZnSO₄·7H₂O 0.18g、CuSO₄·5H₂O 0.16g、MnSO₄·4H₂O 0.15g、CoCl₂·6H₂O 0.18g、H₃BO₃ 0.10g、Na₂MoO₄·2H₂O 0.30g,分别溶于1L灭菌蒸馏水),加入1000mL灭菌蒸馏水,充分搅拌溶解后用H₂SO₄调节pH至4.0,121℃高压灭菌15min,即为1656 BAM-SM液体培养基。若制备1656 BAM-SM琼脂平板,先制备双倍液体培养基(即同溶液体积中各成分加倍,调pH4.0)和等体积的4%蒸馏水琼脂,然后为了防止琼脂被酸化将两者分别121℃

高压灭菌15min,在无菌条件下将保温至50℃的双倍液体培养基和4%蒸馏水琼脂等体积混合,调pH至4.0后倾注平板,4℃保存备用。

1.3.2 脂环酸芽孢杆菌在液体培养基中的培养及生长量测定 分别向4.5mL已灭菌BAM液体培养基中接入0.5mL脂环酸芽孢杆菌的菌液,然后在45℃,128r/min的恒温气浴摇床上振荡培养48h,测定脂环酸芽孢杆菌在培养液中的生长量,以培养液在600nm下的光吸收值表示菌体的生长量。

1.3.3 脂环酸芽孢杆菌在橙汁饮料中的培养及生长量测定 分别向4.5mL已灭菌的不同浓度的橙汁饮料中接入0.5mL脂环酸芽孢杆菌的菌液,然后在45℃,128r/min的恒温气浴摇床上振荡培养48h,测定脂环酸芽孢杆菌在橙汁饮料中的生长量,脂环酸芽孢杆菌在橙汁及其饮料中的生长量采用显微计数法测定。

1.4 数据统计分析

所有数据均表示为三次实验的平均值±标准差。统计分析采用Excel软件进行。

2 结果与讨论

2.1 蔗糖对脂环酸芽孢杆菌生长的影响

蔗糖是橙汁中存在的主要糖类物质,赋予橙汁甜味。为了研究蔗糖添加量对脂环酸芽孢杆菌的影响,本实验将蔗糖添加到已灭菌的BAM液体培养基中,使蔗糖在培养基中的含量分别达到0%、5%、10%、15%、20%、25%、30%。从图1可以看出,蔗糖对两种脂环酸芽孢杆菌生长的影响不同。在0%~10%的范围内,蔗糖对酸热脂环酸芽孢杆菌的生长具有显著的促进作用,当蔗糖浓度大于10%时,酸热脂环酸芽孢杆菌的生长呈现下降的趋势,当介质中蔗糖浓度高于25%时,酸热脂环酸芽孢杆菌的生长受到抑制;蔗糖对酸土脂环酸芽孢杆菌没有表现出明显的促进作用,当蔗糖浓度超过20%时,酸土芽孢杆菌的生长受到抑制。Splittstoesser等^[6-7]报道当环境中可溶性固形物含量超过18°Brix时,酸土脂环酸芽孢杆菌的生长就会受到抑制,Peña和Massaguer在橙汁中也得到类似结果。因此,环境中高浓度的蔗糖可以抑制两种菌的生长,这可能与蔗糖对细菌的脱水作用有关。

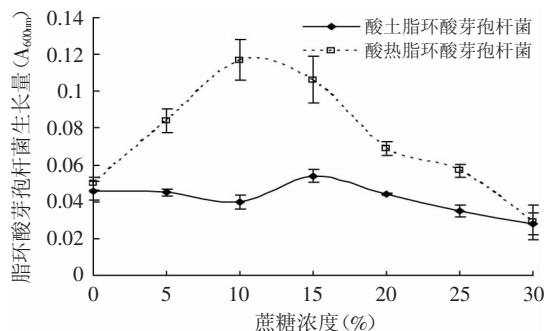


图1 蔗糖对脂环酸芽孢杆菌生长的影响

Fig.1 Effect of sugar on the growth of *Alicyclobacillus*

2.2 柠檬酸对脂环酸芽孢杆菌生长的影响

作为橙汁中的主要有机酸,柠檬酸的存在对橙汁的风味具有重要影响。本实验研究了不同浓度的

柠檬酸对酸土和酸热两种脂环酸芽胞杆菌生长的影响。结果如图2(a)所示,从本实验可以看出,柠檬酸对酸土脂环酸芽胞杆菌生长有显著促进作用,当介质中柠檬酸浓度达到0.1%时,酸土脂环酸芽胞杆菌的生长量达最大值,之后下降。柠檬酸对酸热脂环酸芽胞杆菌同样具有促进作用,当柠檬酸浓度达0.2%,酸热脂环酸芽胞杆菌的生物量达最大。前人研究表明有机酸的种类对脂环酸芽胞杆菌的生长有影响。抗坏血酸在浓度低于100mg/L时,可以促进苹果汁中脂环酸芽胞杆菌的生长,当浓度高于150mg/L时,会促进脂环酸芽胞杆菌的生长^[8]。Sokołowska等^[9]研究表明,不同有机酸对酸土脂环酸芽胞杆菌孢子萌发有抑制作用,其抑制效果依次是:酒石酸<柠檬酸<苹果酸<琥珀酸<己二酸<乳酸<丙酸,柠檬酸在高浓度(50.0~70.0g/dm³)时,才表现出抑菌效果。本实验结果显示柠檬酸的浓度在0%~0.3%之间时(正常果汁中的酸浓度),对脂环酸芽胞杆菌的生长具有促进作用。

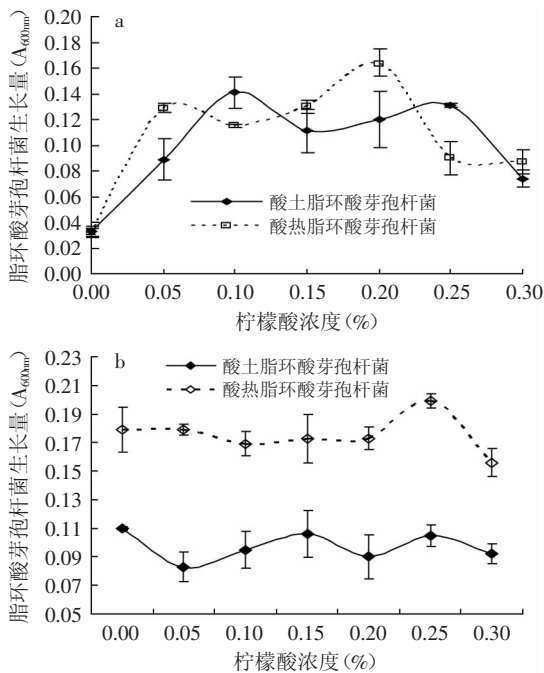


图2 柠檬酸对脂环酸芽胞杆菌生长的影响
Fig.2 Effect of citric acid on the growth of *Alicyclobacillus*
注: a: 未调整pH; b: pH均调整为4.0。

为了进一步研究柠檬酸促进脂环酸芽胞杆菌生长是否与其提供的酸性环境有关,本实验分别将含有不同浓度柠檬酸的BAM培养基的pH均调整为4.0,然后考察不同浓度柠檬酸对脂环酸芽胞杆菌生长的影响,结果如图2(b)所示,不同浓度的柠檬酸对两种脂环酸芽胞杆菌的生长几乎没有影响。结合图2(a)的结果,推测柠檬酸对两种脂环酸芽胞杆菌生长的促进作用可能与其提供的酸性环境有关。

2.3 橙汁中主要矿质元素对脂环酸芽胞杆菌生长的影响

橙汁中的矿质元素主要是钾、镁、钙,在橙汁中的含量分别是1233.75~1866.23mg/L; 77.51~167.15mg/L; 49.32~125.29mg/L^[10]。本实验将钾、镁、钙等元素分别

添加到BAM液体培养基中,分别使钾元素的浓度达到0、500、1000、1500、2000、2500、3000mg/L,镁元素的浓度达到0、20、100、150、200、250mg/L,钙元素浓度达到0、50、100、150、200、250mg/L,研究这些矿质元素对两种脂环酸芽胞杆菌生长的影响。如图3(a)所示,钾元素在低浓度下(0~1000mg/L)可以促进酸土脂环酸芽胞杆菌的生长;当浓度超过1000mg/L时,酸土脂环酸芽胞杆菌生长受到抑制;在测定浓度范围内,钾对酸热脂环酸芽胞杆菌的生长有促进作用,随着浓度的增加,钾元素对酸热脂环酸芽胞杆菌的促进作用呈先增加后下降的趋势,当钾元素的浓度达到2000mg/L时,菌的生长量达到最大值,之后下降。由图3(b)可知,橙汁中镁的存在可以促进两种脂环酸芽胞杆菌的生长。由图3(c)可知,钙在低浓度时,对两种脂环酸芽胞杆菌的生长具有促进作用,当浓度高于200mg/L时,钙元素的存在会抑制酸热脂环酸芽胞杆菌的生长。有研究表明,二价金属离子钙能够通过与其与酸土脂环酸芽胞杆菌孢子中的2,6-吡啶二羧酸(DPA)发生矿化作用形成Ca-DPA复合物而增强孢子的稳定性和抗热性^[11-12]。本实验中低浓度的钙元素可以促进脂环酸芽胞杆菌的生长,可能与脂环酸芽胞杆菌产生的矿化作用有关。

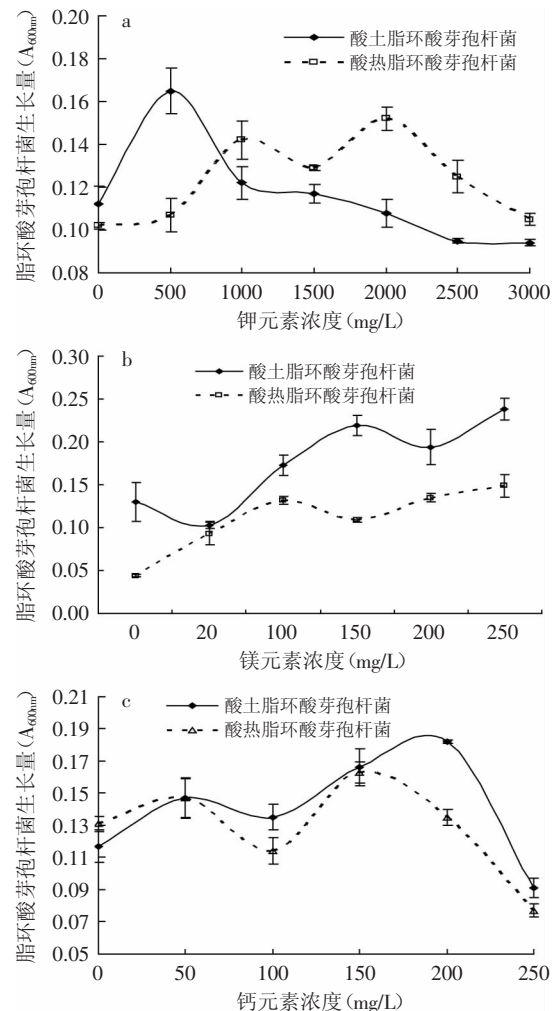


图3 矿质元素对脂环酸芽胞杆菌生长的影响
Fig.3 Effect of mineral elements on the growth of *Alicyclobacillus*

2.4 橙汁浓度对脂环酸芽孢杆菌生长的影响

本实验测定了两种脂环酸芽孢杆菌在不同浓度橙汁饮料及其浓缩橙汁中的生长情况。从图4中可以看出,橙汁饮料的浓度对两种脂环酸芽孢杆菌的影响不同。在橙汁浓度为0%~100%的范围内,随着橙汁浓度的增加,两种脂环酸芽孢杆菌的生长量均呈上升趋势,当果汁浓度达100%(原果汁)时,环境中所含有的酸热脂环酸芽孢杆菌或酸土脂环酸芽孢杆菌数量最多;而浓缩橙汁中两种菌的数量最少。因此,在不同的橙汁及饮料中,橙汁饮料及橙汁原汁能够促进脂环酸芽孢杆菌的生长,浓缩橙汁对两种脂环酸芽孢杆菌的生长有抑制作用。本实验中橙汁浓缩汁的可溶性固形物含量为50°Brix,两种脂环酸芽孢杆菌的生长受到了显著的抑制作用,生长量仅为对照的20%。但是Silva等^[13-14]报道随着果汁中干物质含量和pH的增加,柠檬汁中脂环酸芽孢杆菌的D值也随之增加,同时多数研究发现pH并不是影响果汁中脂环酸芽孢杆菌D值的关键因素,可能是由于糖对微生物耐热性起到保护作用,使浓缩果汁中的脂环酸芽孢杆菌在短时间内很难完全杀死。

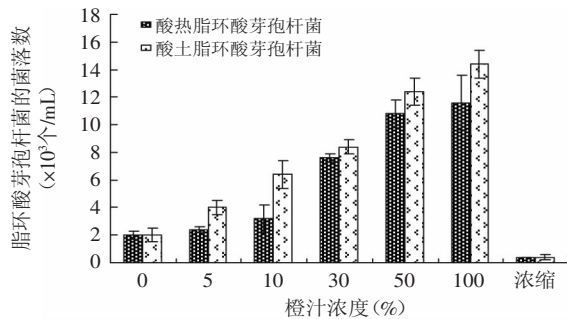


图4 橙汁浓度对脂环酸芽孢杆菌生长的影响

Fig.4 Concentration of orange juice on the growth of *Alicyclobacillus*

2.5 温度处理对脂环酸芽孢杆菌生长的影响

温度处理是果汁生产中常见的加工环节,为了研究温度处理对两种脂环酸芽孢杆菌生长的影响,本实验将经BAM液体培养基培养的两种脂环酸芽孢杆菌经过不同温度处理(在-20、4、30、50、70、90、121℃下处理30min)后,观测菌的生长情况。结果如图5所示,两种脂环酸芽孢杆菌经-20℃的低温处理后细菌生长最好;其次是50℃处理30min;从图5中也可以看出,两种脂环酸芽孢杆菌对高温处理具有很强的抗性。经90℃处理30min后仍能保持良好的生长状态,只有当处理温度达到121℃时,两种脂环酸芽孢杆菌的生长才停止。这些结果表明,脂环酸芽孢杆菌具有很强的耐热性。脂环酸芽孢杆菌的耐热性与其细胞膜中含有主要由 ω -环己烷脂肪酸组成的高含量的脂肪酸(15%~91%)有关^[15]。此外,脂环酸芽孢杆菌孢子中热稳定性蛋白和酶、二价金属离子与2,6-吡啶二羧酸(DPA)产生的矿化作用尤其是钙离子与DPA产生矿化作用形成的Ca-DPA复合物有关^[16]。

3 结论

橙汁中的主要营养成分(蔗糖、柠檬酸及矿质元

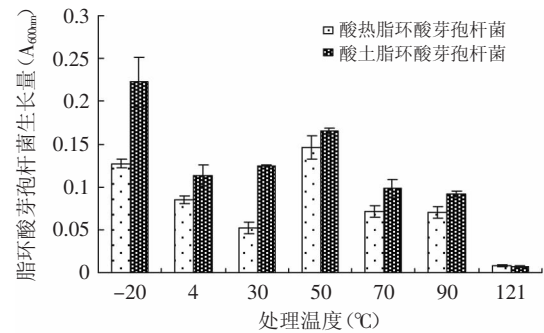


图5 温度处理对脂环酸芽孢杆菌生长的影响

Fig.5 Temperature treatment on the growth of *Alicyclobacillus*

素等)有利于脂环酸芽孢杆菌的生长;橙汁饮料中,橙汁含量越高,越容易感染酸热脂环酸芽孢杆菌和酸土脂环酸芽孢杆菌;但浓缩果汁的环境不利于两种脂环酸芽孢杆菌的生长。两种脂环酸芽孢杆菌对高温、低温处理具有很强的抵抗力,通过温度处理很难有效的杀灭橙汁中的脂环酸芽孢杆菌,因此,有必要进一步寻求新型的非热杀菌技术来控制由脂环酸芽孢杆菌引起的果汁饮料的质量败坏。

参考文献

- [1] Wisotzkey J D, Jurtschuk P, Fox G E, *et al.* Comparative sequence analyses on the 16S rRNA (rDNA) of *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus acidoterrestris*, and *Bacillus cycloheptanicus* and proposal for creation of a new genus, *Alicyclobacillus* gen. nov. [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1992, 42: 263-269.
- [2] 胡贻椿, 岳田利, 袁亚宏, 等. 果汁中脂环酸芽孢杆菌 (*Alicyclobacillus* spp.) 的危害及其控制 [J]. 食品科学, 2008, 29: 87-90.
- [3] Casas J, Valverde M T, Marin-Iniesta F, *et al.* Inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores by high pressure CO₂ in apple cream [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 156: 18-24.
- [4] Yuan Y H, Hu Y C, Yue T L, *et al.* Effect of ultrasonic treatment on thermoacidophilic *Alicyclobacillus Acidoterrestris* in apple juice [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2009, 33: 370-383.
- [5] Smit Y, Cameron M, Venter P, *et al.* *Alicyclobacillus* spoilage and isolation—A review [J]. Food Microbiology, 2011, 28: 331-349.
- [6] Splittstoesser D F, Churey J J, Lee C Y. Growth characteristics of aciduric spore forming bacilli isolated from fruit juices [J]. Journal of Food Protection, 1994, 57: 1080-1083.
- [7] Pena W E L, Massaguer P R, Zuniga A D G, *et al.* Modelling the growth limit of *Alicyclobacillus Acidoterrestris* CRA7152 in apple juice: effect of pH, Brix, temperature and nisin concentration [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2011, 35: 509-517.
- [8] Cerny G, Duong H A, Hennlich W, *et al.* *Alicyclobacillus acidoterrestris*: influence of oxygen content on growth in fruit juices [J]. Food Australia 2000, 52: 289-291.
- [9] Sokołowska B, Łaniewska-Trokenheim Ł, Niezgoda J, *et al.* Influence of organic acids on germination of spores and further growth of *Alicyclobacillus acidoterrestris* strains [J]. Journal Prace

Instituto i Laboratoriow Badawczych Przemysłu Spożywczego, 2009, 64:66-76.

- [10] 牛丽影,胡小松,赵镭,等. 橙汁主要矿质元素含量的特征分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29:259-262.
- [11] Chang S, Kang D H. *Alicyclobacillus* spp. in the fruit juice industry: history, characteristics, and current isolation/detection procedures[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2004, 30:55-74.
- [12] Yamazaki K, Kawai Y, Inoue N, et al. Influence of sporulation medium and divalent ions on the heat resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores[J]. Letters in Applied Microbiology, 1997, 25: 153-156.
- [13] Silva F M, Gibbs P, Viera C, et al. Thermal inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores under different temperature,

soluble solids and pH conditions for design of fruit processes[J]. International Journal of Food Microbiology, 1999, 51:95-103.

- [14] Edyta Chmal-Fudali, Agnieszka Papiewska. The possibility of thermal inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in fruit and vegetable juices[J]. Biotechnology and Food Science, 2011, 75:87-96.
- [15] Hippchen A, Röhl K, Poralla K. Occurrence in soil of thermo-acidophilic bacilli possessing ω -cyclohexane fatty acids and hopanoids[J]. Archives of Microbiology, 1981, 129:53-55.
- [16] Jay J M, Loessner M J, Golden D A. Food protection with high temperatures, and characteristics of thermophilic microorganisms [J]. Modern Food Microbiology, Food Science Text Series, 2005, 5:415-441.

(上接第284页)

- [6] FUJITA H, YOSHIKAWA M. LKPNM: a prodrug-type ACE-inhibitory peptide derived from fish protein [J]. Immunopharmacology, 1999, 44(1/2):123-127.
- [7] Pan Dao-dong, Luo Yong-kang, TANOKURA M. Antihypertensive peptides from skimmed milk hydrolysate digested by cell-free extract of *Lactobacillus helveticus* JCM1004 [J]. Food Chemistry, 2005, 91(1):123-129.
- [8] Zhao Yuan-hui, Li Ba-fang, Liu Zun-ying, et al. Antihypertensive effect and purification of an ACE inhibitory peptide from sea cucumber gelatin hydrolysate[J]. Process Biochemistry, 2007, 42(12):1586-1591.
- [9] Wang Jia-pei, Hu Jia-nen, Cui Jin-zhe, et al. Purification and identification of a ACE inhibitory peptide from oyster proteins hydrolysate and the anti hypertensive effect of hydrolysate in spontaneously hypertensive rats[J]. Food Chemistry, 2008, 111(2):302-308.
- [10] BYUN H G, KIM S K. Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin [J]. Process Biochemistry, 2011, 36(12):1155-1162.
- [11] Han Hua, Yi Yang-hua, Li Ling, et al. A new triterpene glycoside from sea cucumber *Holothuria leucospilota*[J]. Chinese Chemical Letters, 2007, 18(2):161-164.
- [12] KIM M R, KAWAMURA Y, LEE C H. Isolation and identification of bitter peptides of tryptic hydrolysate of soybean 11S glycinin by reverse-phase high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Food Science, 2003, 68(8):2416-2422.
- [13] Wu Jiang-ping, Ding Xiao-lin. Characterization of inhibition and stability of soy-protein-derived angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides [J]. Food Research International, 2002, 35(4):367-375.
- [14] TAKUO N, LECH O. Purification of glycomacropeptide from nondialyzable fraction of sweet whey by hydrophobic interaction chromatography on phenyl-agarose [J]. Biotechnology Letters, 2000, 22(5):413-416.
- [15] ALEMAN A, GIMENEZ B, PEREZ-SANTIN E, et al. Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-

inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate[J]. Food Chemistry, 2011, 125(2):334-341.

- [16] Zhao Qiu-yu, SANNIER F, PIOT J M. Kinetics of appearance of four hemorphins from bovine hemoglobin peptic hydrolysates by HPLC coupled with photodiode array detection[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology, 1996, 1295(1):73-80.
- [17] Wan J B, Zhang Q W, Ye W C, et al. Quantification and separation of protopanaxatriol and protopanaxadiol type saponins from *Panax notoginseng* with macroporous resins[J]. Separation and Purification Technology, 2008, 60(2):198-205.
- [18] 刘佳. 大豆蛋白ACE抑制肽的研究[D]. 无锡:江南大学, 2008.
- [19] RIIHINEN K R, GODECKE T, PAULI G F, et al. Purification of berry flavonol glycosides by long-bed gel permeation chromatography[J]. Journal of chromatography A, 2012, 1244(29):20-27.
- [20] Wu J, ALUKO R, MUIR A. Improved Method for Direct High-performance Liquid Chromatography Assay of Angiotensin-converting Enzyme-catalyzed Reaction[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 950:125-131.
- [21] 盛彩虹, 刘晔, 刘大川, 等. 紫苏分离蛋白功能性研究[J]. 食品科学, 2011, 32(17):137-139.
- [22] 陈季旺, 孙勤, 夏文水. 鱼降压肽的大孔树脂分离及其活性稳定性[J]. 食品科学, 2009, 30(18):25-28.
- [23] LIESELOT V, GUY S, TOSHIRO M, et al. C (ACE) inhibitory peptide from the gastrointestinal hydrolysate of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*[J]. Process Biochemistry, 2008, 43(8):900-904.
- [24] 廖丹葵. 鸡蛋蛋黄蛋白质制备降血压肽的研究[D]. 南宁:广西大学, 2006.
- [25] 杨锋, 马千里, 黄永春. 醋蛋中ACE抑制肽的分离及稳定性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(24):78-79.
- [26] Jiang Jiang, Chen Jie, Xiong You-ling. Structural and emulsifying properties of soy protein isolate subjected to acid and alkaline pH-shifting processes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(16):7576-7583.
- [27] 潘道东, 林璐. DA201-C大孔吸附树脂静态吸附ACE抑制肽的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(5):20-23.