

响应面法优化超高压菠萝汁保活和减敏工艺

梁娟, 潘见*, 葛梅, 徐金凤

(合肥工业大学 农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽 合肥 230009)

摘要: 为了同时实现菠萝汁的保活和减敏, 分别考察了压力、加压温度、pH 和 NaCl 添加量 4 因素对菠萝汁纤溶活性和致敏性的影响。并在此基础上, 采用 Box-Behnken 试验设计和响应面法优化该工艺。结果表明这 4 个因素对纤溶活性和致敏性的影响的不同, 通过工艺优化可以实现菠萝汁的保活和减敏, 其最优工艺条件参数为压力 425 MPa, 加压温度 50 °C, pH 3.22, 盐添加量为质量分数 0.55%。在该条件下, 菠萝汁的纤溶活性保留 88.34%, 致敏性降至 33.71%。说明该方法能够较好的实现菠萝汁的保活和减敏。

关键词: 超高压, 菠萝汁, 纤溶活性, 致敏性, 响应面法

中图分类号: TS 255 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2017)01-0015-07

Optimization of High-Pressure Processing to Retain Fibrinolytic Activity and Reduce Allergenicity of Pineapple Juice by Response Surface Methodology

LIANG Juan, PAN Jian*, GE Mei, XU Jinfeng

(Engineering Research Centre of Bio-Process, Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: In order to simultaneously preserve fibrinolytic activity and reduce allergenicity of pineapple juice, effects of pressure, temperature, pH and added amount of NaCl were investigated. Based on single factor experiments, Box-Behnken experimental design and response surface methodology were used to optimize the processing. The optimal parameters were obtained to be pressure of 425 MPa, temperature of 50 °C, pH 3.22 and NaCl of 0.55%. With these conditions, the remaining fibrinolytic activity of pineapple juice was 88.34% and the allergenicity was decreased to 33.71%. The results indicated that this processing could effectively retain fibrinolytic activity and reduce allergenicity of pineapple juice.

Keyword: ultra-high pressure, pineapple juice, fibrinolytic activity, allergenicity, response surface methodology

收稿日期: 2015-03-24

基金项目: 国家 863 计划项目(2011AA100801-05); 安徽中医药大学自然科学基金面上项目(2016zr007)。

作者简介: 梁娟(1983—), 女, 安徽宿州人, 工学博士, 主要从事食品加工研究。E-mail: liangjuan1875@126.com

* 通信作者: 潘见(1955—), 男, 安徽金寨人, 工学博士, 教授, 主要从事农产品加工和食品物流安全研究。

E-mail: hfut20022013@sina.com

引用本文: 梁娟, 潘见, 葛梅, 等. 响应面法优化超高压菠萝汁保活和减敏工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(01): 15-21.

菠萝(*Ananas comosus* L.Merr)属于凤梨科多年生植物,是热带和亚热带地区的主要水果品种,中国菠萝主要分布于海南、广东、广西、福建、云南5个省区,产量居世界第四位^[1]。菠萝在市场上的主要消费形式为新鲜菠萝、菠萝罐头和菠萝汁^[2]。其中菠萝汁为最重要的菠萝加工制品,以其明亮的色泽、特殊的香气以及丰富的营养成分受到消费者的广泛喜爱,成为果汁市场上仅次于橙汁的大宗果汁^[3]。

菠萝中除含有丰富的营养成分,还含有一种蛋白水解酶菠萝蛋白酶,菠萝蛋白酶(bromelain, EC 3.4.22.3)是存在于菠萝植株中的多种相似但却截然不同的半胱氨酸蛋白酶的混合物。其中成熟的菠萝果中菠萝蛋白酶的含量和活性最高^[4]。菠萝蛋白酶具有抗血小板聚集、溶解纤维蛋白、抗炎等功能等,被广泛应用于食品和药品行业^[5-6],菠萝蛋白酶的这些功能活性均与其纤溶活性有关^[7]。此外,菠萝蛋白酶还是水果中的一种常见过敏原,国内外文献资料报道了很多关于菠萝过敏的案例^[8]。

为了延长菠萝汁的货架期,杀菌工艺是菠萝汁加工的主要工序,目前市场上菠萝汁的主要杀菌方式为传统的热杀菌,如高温瞬时杀菌和巴氏杀菌^[9]。热杀菌不仅会破坏菠萝汁的风味和营养,也会灭活菠萝汁中菠萝蛋白酶,使得菠萝汁丧失其功能性^[10-11]。超高压杀菌作为最有可能代替热杀菌的新型杀菌方式,可以避免热杀菌带来的上述问题,最大程度的保留其风味、营养和菠萝蛋白酶的活性^[12-13],但是超高压菠萝汁同时保留了菠萝蛋白酶的致敏性。为了尽量降低超高压菠萝汁对易致敏人群的影响,实现在保留菠萝汁纤溶活性的同时,尽量降低致敏性至关重要。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 菠萝:市售;牛纤维蛋白原和凝血酶(酶活力 62 U/mg):Sigma 公司产品;尿激酶(酶活力 1 240 U/支):中国食品药品检定研究院产品;致敏者血清:安徽医科大学提供;羊抗人 IgE:美国 Abcam 公司产品;ELISA 盒:美国 Costa 公司产品;超滤离心管:美国 Millipore 公司产品。

1.1.2 仪器 1 升超高压釜:包头科发科技有限公司产品;超高压系统:上海大隆超高压设备厂产品;高速冷冻离心机 3K15:德国 SIGMA 公司产品;低温

冰箱 TSE320:美国 Thermo 公司产品;Epoch 微孔板分光光度计:美国 BioTek 公司产品;DZ-400/2S 真空包装机:浙江金华市包装机械有限公司产品;SHP-250 恒温培养箱;上海精宏实验设备有限公司产品。

1.2 试验方法

1.2.1 试样的处理 选择新鲜的 8 成熟的菠萝,去皮去目,将果肉破碎成小块榨汁,用 6 层纱布过滤,除去纤维和其他杂质。然后 4 000 r/min 于 4 ℃离心 30 min 去除大分子杂质。保留上清液,弃去沉淀。

用于纤溶活性检测的样品,取离心的上清液分装于无菌 PE 瓶中,PE 瓶用密封袋密封,密封袋中充满水以排除空气。然后置于 1 L 的高压容器中加压。用于致敏性测定的样品,取离心后的菠萝汁缓慢加入硫酸铵粉末提取致敏蛋白,变加边搅拌,直至加到饱和度为 40%停止,继续搅拌 2 h 后,放入离心管中 6 000 r/min 离心 20 min,弃去上清液,沉淀用双蒸水复溶,然后用超滤离心管脱盐和定量复溶,最后调节 pH 和添加不同含量的 NaCl。所有提取和分离步骤均在 4 ℃条件下进行,处理好的所有样品于 -20 ℃贮存备用。

1.2.2 纤溶活性测定 参考 Astrup T^[14]等采用的纤维素平板法测定菠萝汁的纤溶活性,并根据本实验情况适当改变了凝血酶和纤维蛋白原的比例。以尿激酶为标准品,以尿激酶活力单位数 C(U/mL)的对数 lg C 为横坐标,裂解圈的面积 A(mm²)的对数值 lg A 为纵坐标,绘制标准曲线。测定样品时取待测样品 10 μL 点样于纤维蛋白平板样孔中,按上述方法进行操作,测定裂解圈的直径后取平均值,根据尿激酶标准曲线求出样品的纤溶活性。每个样品做 3 个平行。

$$\text{相对纤溶活性}(\%) = \frac{\text{待测样的纤溶活性}}{\text{对照样的纤溶活性}} \times 100\%$$

1.2.3 致敏性测定 采用间接酶联免疫法。包被:每孔包被 100 μL 抗原稀释液,4 ℃放置过夜或者 37 ℃保温 2 h。用 200 μL PBST 洗涤液洗涤 3 次,每次 5 min。封闭:每孔加入封闭液 200 μL,37 ℃孵育 2 h,倒出封闭液。加一抗:每孔加入 100 μL 致敏者血清(1:200),37 ℃孵育 1 h,洗涤 3 次,每次 5 min。加酶标二抗:每孔加入 100 μL 辣根过氧化物酶标记的羊抗人 IgE(1:2 000),37 ℃孵育 1 h。洗涤 5 次,每次 5 min。显色:取出酶标板,每孔加入底物液 TBS

200 μL ,置于室温黑暗处放置 15 min。终止:取出酶标板,向每孔中加入终止液 50 μL 。用酶标仪在 450 nm 的吸光度下检测。

1.2.4 不同影响因素的选择 实验所用菠萝汁的天然 pH 值为 pH 3.65,超高压处理保压时间均设为 20 min,单因素实验选取不同压力(100、200、300、400、500 MPa)、加压温度(10、20、30、40、50、60、70 $^{\circ}\text{C}$)、pH (2.70、3.20、3.70、4.20、4.70)、盐质量分数(0.1、0.2、0.4、0.6、0.8)4 个因素。考察其对菠萝汁纤溶活性和致敏性的影响。每个实验平行测定 3 次,以未经超高压处理菠萝汁的致敏性和纤溶活性作为参照,相对值定义为 100%。

1.2.5 响应面设计 在单因素实验设计的基础上,采用 Design-Expert8.0 软件中的 Box-Behnken Design 试验设计,见表 1。

表 1 响应面实验因素水平设计

Table 1 Factors and levels in the response surface analysis

水平	因素			
	A 压力/MPa	B 温度/ $^{\circ}\text{C}$	C pH	D NaCl 质量分数/%
-1	300	10	3.20	0.2
0	400	30	3.70	0.4
1	500	50	4.20	0.6

2 结果与讨论

2.1 不同因素对纤溶活性和致敏性的影响

2.1.1 压力的影响 根据实验结果,菠萝汁原样的纤溶活性为(247.88 $\pm$ 13.21) U/mL,致敏原质量分数为(0.955 $\pm$ 0.043) mg/mL。从图 1 可以看出,菠萝汁的纤溶活性和致敏性均随着压力的增加呈现先增加后减小的趋势,并在 300 MPa 时达到最大值,分别为 174.49%和 111.26%。压力对菠萝汁纤溶活性和致敏性影响均极显著($p<0.01$)。当压力大于 300 MPa 时,两者开始不同程度的下降,说明高于 300 MPa 的压力时,可以考虑菠萝汁的保活和减敏。

菠萝汁中与纤溶活性和致敏性相关的蛋白均是菠萝蛋白酶^[15-16]。造成这两者在 300 MPa 时达到最大值的原因可能是:首先在高压条件下(比如 0~300 MPa),细胞膜被破坏,有利于酶与底物的接触,增加菠萝蛋白酶的反应速度的增加。其次,高压处理使得更多的巯基暴露在细胞表面^[17]。而菠萝蛋白酶属于半胱氨酸巯基蛋白酶,巯基的增加必然导致

酶活力的增加。最后,认为菠萝蛋白酶活性的变化可能是由于其二级结构受压力的影响发生变化。 α -螺旋对菠萝蛋白酶稳定性至关重要,随着 α -螺旋含量的增加,菠萝蛋白酶的活性增加。随着 α -螺旋含量降低,菠萝蛋白酶活性降低。在较低压力下二级结构的 α -螺旋和 β -折叠不易被破坏,甚至还会变得更加稳定,但是在较高压力(高于 300~700 MPa)下,二级结构会发生不可逆变性^[18]。

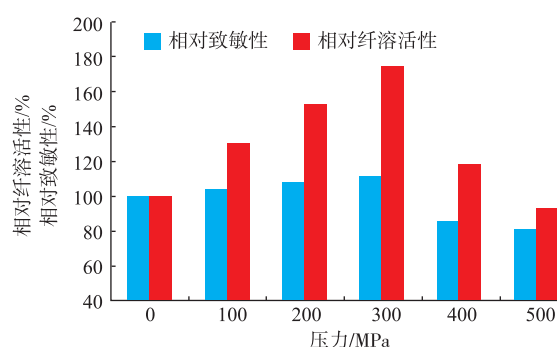


图 1 压力对菠萝汁纤溶活性和致敏性的影响

Fig. 1 Effect of high pressure on fibrinolytic activity and allergenicity of pineapple juice

2.1.2 加压温度的影响 从图 2 可以看出,10~50 $^{\circ}\text{C}$ 温度范围内,菠萝汁的相对纤溶活性随着温度的升高而升高,在 50 $^{\circ}\text{C}$ 时达到最大值,这文献报到的菠萝蛋白酶的最适宜酶活温度在 50 $^{\circ}\text{C}$ 附近相符合^[19]。温度大于 50 $^{\circ}\text{C}$ 时纤溶活性开始快速下降,70 $^{\circ}\text{C}$ 时几乎完全失活。这主要是因为当温度升高到 70 $^{\circ}\text{C}$,酶蛋白的氢键、疏水作用、离子键和静电相互作用会弱化,三维构象受到破坏。当温度大于最适宜温度后,酶热失活显著增强,酶活力大幅降低。而菠萝汁的致敏性在 20~30 $^{\circ}\text{C}$ 附近达到最大值,高于 30 $^{\circ}\text{C}$ 或者低于 20 $^{\circ}\text{C}$ 时致敏性呈下降趋势。致敏性随温度的变化趋势不同于纤溶活性,由于果菠萝蛋白酶是一组半胱氨酸复合酶,该组酶在结构上既相似又不同。影响菠萝汁致敏性的抗原表位和影响酪蛋白水解活性和致敏性的活性位点各不相同,所以两者受温度的影响也表现出不同的变化。因此选择合适的温度范围有可能一定程度的实现菠萝汁的保活和减敏。

2.1.3 pH 的影响 从图 3 可以看出,pH 对纤溶活性和致敏性的影响趋势不同,在 pH 3.70 附近,菠萝汁的致敏性最高,增加或者降低 pH 均会导致致敏性的降低。而菠萝汁的最大纤溶活性在 pH 4.20,之

后随着 pH 的增加纤溶活性下降。当 pH 增加到 5.00, 纤溶活性和致敏性分别保留约 67% 和 64%。当 pH 低于 3.70 时, 纤溶活性和致敏性均快速下降, pH 2.70 时, 两者均较低至 40% 以下。这与低 pH 值时菠萝蛋白酶的构象被破坏有关, 低 pH 能够介导菠萝蛋白酶的解折叠, 从而导致其二级和三级结构的变化^[20]。Basir Ahmad & Rizwan Hasan Khan^[21]选择 pH 0.8~3.0 区域研究酸性介导的菠萝蛋白酶的解折叠, 发现菠萝蛋白酶在该区域范围内菠萝蛋白酶解折叠的程度较大, 其中二级结构最大丧失 80% 以上。事实上为 pH 对酶活性的影响时复杂的, 既影响酶分子与底物分子的活性基团的解离状态, 也会使酶分子的空间构象发生变化。

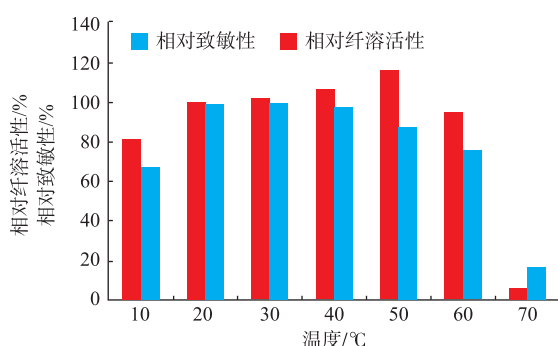


图 2 加压温度对菠萝汁纤溶活性和致敏性的影响

Fig. 2 Effect of temperature on fibrinolytic activity and allergenicity of pineapple juice

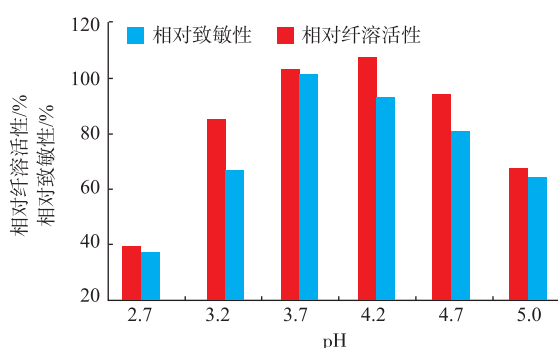


图 3 pH 对菠萝汁纤溶活性和致敏性的影响

Fig. 3 Effect of pH on fibrinolytic activity and allergenicity of pineapple juice

2.1.4 盐添加量的影响 NaCl 质量分数由 0~0.4% 时, 菠萝汁的纤溶活性有小幅度的增加, 随着盐质量分数的增加, 纤溶活性开始下降。这和薛力荔等^[22]研究发现的向菠萝蛋白酶酶液中添加质量分数 0~

0.2% 的 NaCl, 发现随着 NaCl 质量分数的增加, 酶活力略有升高相似, 该研究还发现且随着贮存时间的延长, 虽然酶活力总体上是下降的, 但是酶活随着 NaCl 质量分数增加而增加的趋势明显。当盐质量分数小于 0.4% 时, 菠萝汁的致敏性基本不变, 当盐质量分数大于 0.4% 时, 随着盐质量分数的增加, 致敏性下降, 但下降的速度明显小于纤溶活性的下降速度。在实验的盐质量分数范围内, 压力对纤溶活性的影响极显著 ($p < 0.01$), 对致敏性的影响显著 ($p < 0.05$), 因此盐添加量对纤溶活性和致敏性的影响趋势相同, 但对纤溶活性的影响程度大于对致敏性的影响程度。

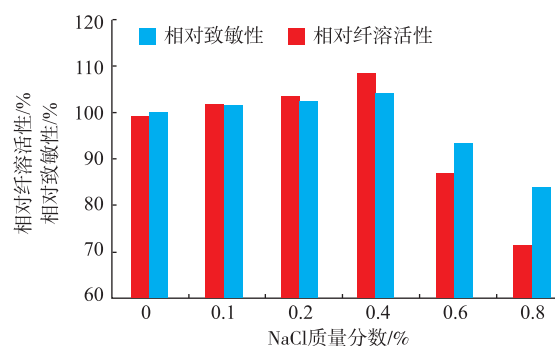


图 4 NaCl 质量分数对菠萝汁纤溶活性和致敏性的影响

Fig. 4 Effect of the content of NaCl on fibrinolytic activity and allergenicity of pineapple juice

2.2 响应面实验结果

2.2.1 回归模型的建立和方差分析 运用 Design expert 8.0 软件对表 2 进行二次多项回归和方差分析, 拟合所得相对纤溶活性 (Y_1) 和相对致敏性 (Y_2) 的多元二次回归方程分别为: $Y_1 = 137.03 - 9.98A + 8.21B + 5.85C - 3.89D - 7.67AB - 9.16AC + 5.55AD - 1.18BC - 0.44BD + 1.15CD - 27.50A^2 - 1.39B^2 - 23.95C^2 - 18.15D^2$; $Y_2 = +104.33 - 4.94A - 5.50B - 2.93C - 1.25D - 7.69AB + 5.74AC - 0.56AD + 9.11BC - 6.50BD - 1.60CD - 8.23A^2 - 12.63B^2 - 22.67C^2 - 9.98D^2$ 。

方差分析结果显示纤溶活性和致敏性模型极显著 ($P < 0.0001$); 拟合程度较好 (失拟项分别为 0.1774 和 0.9500); 稳定性高 (C.V. % 分别为 4.63 和 5.66)。纤溶活性和致敏性模型的矫正系数分别为 $R^2(\text{Adj}) = 0.9424$ 和 $R^2(\text{Adj}) = 0.8978$, 说明建立的模型分别能解释约 94.24% 和 89.78% 响应值的变化。压力和温度、压力和 pH 之间的交互作用对纤溶

活性的影响极显著($p<0.01$),压力和盐添加量之间的交互作用对纤溶活性的影响显著($p<0.05$)。压力和温度、温度和 pH 之间的交互作用对致敏性的影响极显著($p<0.01$),压力和 pH、温度和盐添加量之间的交互作用对致敏性的影响显著($p<0.05$)。

表 2 响应面实验设计方案及实验结果

Table 2 Experimental design and corresponding results for response surface analysis

试验号	A	B	C	D	Y_1	Y_2
1	0	1	0	1	117.70	71.79
2	0	0	0	0	137.91	103.94
3	-1	1	0	0	139.26	87.75
4	-1	0	-1	0	77.03	91.74
5	1	0	0	1	82.63	78.49
6	1	0	-1	0	75.14	64.94
7	0	0	-1	-1	99.58	70.75
8	-1	-1	0	0	105.02	81.99
9	0	0	1	-1	101.12	71.06
10	0	-1	0	1	106.68	94.56
11	-1	0	1	0	114.85	73.32
12	0	0	0	0	132.07	108.86
13	0	-1	0	-1	116.92	81.54
14	0	0	0	0	139.47	112.67
15	0	1	-1	0	113.43	57.08
16	-1	0	0	-1	105.69	92.82
17	1	0	0	-1	77.93	85.55
18	1	1	0	0	100.92	66.47
19	0	-1	1	0	106.74	62.96
20	0	0	0	0	135.34	96.11
21	1	-1	0	0	97.34	91.47
22	0	0	1	1	97.57	66.31
23	0	0	0	0	140.34	100.05
24	0	1	0	-1	129.69	84.77
25	0	0	-1	1	91.43	72.40
26	-1	0	0	1	88.20	87.99
27	0	-1	-1	0	92.62	88.91
28	0	1	1	0	122.85	67.55
29	1	0	1	0	76.33	69.46

表 3 纤溶活性回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis for the regression model of fibrinolytic activity

变异来源号	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
Model	11 726.01	14	837.57	33.74	<0.000 1	***
A	1 195.20	1	1 195.20	48.15	<0.000 1	***
B	809.01	1	809.01	32.59	<0.000 1	***
C	411.02	1	411.02	16.56	0.001 1	**
D	181.90	1	181.90	7.33	0.017 0	*
AB	235.01	1	235.01	9.47	0.008 2	**
AC	335.44	1	335.44	13.51	0.002 5	**
AD	123.10	1	123.10	4.96	0.042 9	*
BC	5.52	1	5.52	0.22	0.644 4	
BD	0.77	1	0.77	0.03	0.863 1	
CD	5.29	1	5.29	0.21	0.651 4	
A ²	4 904.84	1	4 904.84	8	<0.000 1	***
B ²	12.62	1	12.62	0.51	0.487 6	
C ²	3 722.11	1	3 722.11	4	<0.000 1	***
D ²	2 136.42	1	2 136.42	86.06	<0.000 1	***
残差	347.55	14	24.82			
失拟项	302.40	10	30.24	2.68	0.177 4	
纯误差	45.14	4	11.29			
总和	12 073.55	28				
	R ² =0.971 2		R ² (Adj)=0.942 4		C.V. %=4.63	

2.2.2 响应曲面工艺优化及验证 经软件对模型进行分析优化,并考虑实际操作的方便,得菠萝汁保活减敏的为压力最佳工艺:压力 425 MPa,加压温度 50 ℃,pH 3.22 和盐添加量 0.55%,此工艺条件下理论上纤溶活性保留 89.76%,致敏性降低至原来的 34.65%。对理论优化组合条件进行验证,得到相对纤溶活性和相对致敏性的实际值为(88.34±3.27) %和(33.71±1.65) %。与预测值接近,表明该模型能很好地预测超高压多元协同技术对菠萝汁对保活减敏作用。

表 4 致敏性回归模型方差分析

Table 4 Variance analysis for the regression model of allergenicity

变异来源号	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	备注
Model	5 619.53	14	401.39	18.56	<0.000 1	***
A	292.35	1	292.35	13.52	0.002 5	**
B	363.22	1	363.22	16.80	0.001 1	**
C	103.02	1	103.02	4.76	0.046 6	*
D	18.63	1	18.63	0.86	0.369 1	
AB	236.54	1	236.54	10.94	0.005 2	**
AC	131.56	1	131.56	6.08	0.027 2	*
AD	1.24	1	1.24	0.06	0.814 0	
BC	331.60	1	331.60	15.34	0.001 6	**
BD	169.00	1	169.00	7.82	0.014 3	*
CD	10.24	1	10.24	0.47	0.502 6	
A ²	439.76	1	439.76	20.34	0.000 5	***
B ²	1 034.31	1	1 034.31	47.83	<0.000 1	***
C ²	3 334.35	1	3 334.35	154.21	<0.000 1	***
D ²	645.91	1	645.91	29.87	<0.000 1	***
残差	302.72	14	21.62			
失拟项	126.60	10	12.66	0.29	0.950 0	
纯误差	176.12	4	44.03			
总和	5 922.25	28				
	R ² =0.948 9		R ² (Adj)=0.897 8		C.V. %=5.66	

3 结 语

研究了压力、加压温度、pH 和盐添加量对菠萝汁纤溶活性和致敏性的影响,结果表明虽然纤溶活性和致敏性均和是由菠萝蛋白酶引起的,这 4 个因素对纤溶活性和致敏性的影响的趋势和显著性均不同。通过单因素和响应面分析,优化了同时实现菠萝汁保活和减敏的工艺。结果表明最优工艺条件参数为压力 425 MPa, 加压温度 50 ℃, pH 3.22, 盐添加量为质量分数 0.55%。在该条件下,菠萝汁的纤溶活性保留 88.34%,致敏性则降低至 33.71%。说明该方法能够较好的实现菠萝汁的保活和减敏。

参考文献:

- [1] LIU Haiqing, LI Guanghui, HUANG Yuanyuan. Development situation of pineapple industry in China in 2011 [J]. **Chinese Journal of Tropical Agricultural**, 2012, 32(3): 79-84. (in Chinese)
- [2] SHU Zhaosu, HAN Guangyong, DENG Guangxian. Present situation of processing and comprehensive utilization on pineapple in China[J]. **Stroage and Process**, 2006, 6(3): 4-7. (in Chinese)
- [3] JAMES K B, TIEN Nguyen Quoc. Manganese in pineapple juices[J]. **Food Chemistry**, 2000, 68: 37-39.
- [4] POLAINA J. 工业酶: 结构、功能与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 148-160.
- [5] KULPREET Bhui, SAHDEO Prasad, JASMINE George, et al. Bromelain inhibits COX-2 expression by blocking the activation of MAPK regulated NF-kappa B against skin tumor-initiation triggering mitochondrial death pathway[J]. **Cancer Letter**, 2009, 282(2): 167-176.
- [6] CHEN Xiaoli, HUANG Zhuolie. Purification of stem bromelain and mechanism of effect of ultrasound on its catalysis activity[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(5): 173-178. (in Chinese)
- [7] MORITA A H, UCHIDA D A, TAUSSIG S J. Chromatographic fractionation and characterization of the active platelet aggregation inhibitory factor from bromelain[J]. **Alternative Medicine Review**, 1979, 239: 340-350.
- [8] LIU Xiangping, ZENG Dongliang, LIN Jitao. In vitro test and analysis of allergen of the children [J]. **Practical Clinical Medicine**, 2006, 7(3): 139-141. (in Chinese)
- [9] ZHANG Min, WANG Liping. Research process on prepared food sterilization technology [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(8): 785-792. (in Chinese)
- [10] MOSQUEDA-MELGAR J, RAYBAUDI-MASSILIA R M, & Martín-Belloso O. Combination of high-intensity pulsed electric

- fields with natural antimicrobials to inactivate pathogenic microorganisms and extend the shelf-life of melon and watermelon juices[J]. **Food Microbiology**, 2008, 25(3): 479-491.
- [11] BHATTACHARYA R, BHATTACHARYA D. Preservation of natural stability of fruit "bromelain" from *Ananas comosus* (pineapple)[J]. **Journal of Food Biochemistry**, 2009, 33(1): 1-19.
- [12] HENDRICKX M, KNORR D. Ultra high pressure treatment of foods[M]. Frederick: Kluwer Academic, 2002.
- [13] BUTZ P, FERNANDEZ García A, LINDAUER R, et al. Influence of ultra high pressure processing on fruit and vegetable products[J]. **Journal of Food Engineering**, 2003, 56: 233-236.
- [14] ASTRUP T, MULLERTZ S. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity [J]. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 1952, 40(2): 346-351.
- [15] HALE L P. Proteolytic activity and immunogenicity of oral bromelain within the gastrointestinal tract of mice [J]. **International Immunopharmacol**, 2004(4): 255-264.
- [16] PIROTTA F, de Giuli-Morghen C. Bromelain: anti-inflammatory and serum fibrinolytic activity after oral administration in the rat [J]. **Drugs under Experimental and Clinical Research**, 1978(4): 1-20.
- [17] RAWDKUEN S, SAI-UT S, KHAMSORN S, et al. Biochemical and gelling properties of tilapia surimi and protein recovered using an acid-alkaline process[J]. **Journal of Food Chemistry**, 2009, 112(1): 112-119.
- [18] KNORR D, HEINZ V, BUCKOW R. Review: high pressure application for food biopolymers [J]. **Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics**, 2006, 1764: 619-631.
- [19] RUNGTHIP Jutamongkon, SANGUANSRI Charoenrein. Effect of temperature on the stability of fruit bromelain from smooth cayenne pineapple. Kasetsart[J]. **Natural Science**, 2010, 44: 943-948.
- [20] RIZEAN Hasan Khan, SHEEBA Rasheedi, SOGHRA Khatun Haq. Effect of pH, temperature and alcohols on the stability of glycosylated and deglycosylated stem bromelain[J]. **Indian Academy of Sciences**, 2003, 28(6): 709-714.
- [21] BASIR Ahmad, RIZWAN Hasan Khan. Studies on the acid unfolded and molten globule states of catalytically active stem bromelain: A Co MParison with Catalytically Inactive Form[J]. **Biochemistry**, 2006, 140: 501-508.
- [22] XUE Lili, SONG Shanshan, JIANG Xia, et al. Effects of different additives on the activity and stability of bromelain [J]. **Meat Research**, 2011, 25(4): 7-11. (in Chinese)

会议消息

会议名称(中文): 第5届定向生物合成会议

会议名称(英文): Directing Biosynthesis V

所属学科: 生物物理学、生物化学及分子生物学、细胞生物学、生物技术与生物工程

开始日期: 2017-03-22

结束日期: 2017-03-24

所在国家: 英国

所在城市: 英国

具体地点: Warwick, U.K.

主办单位: Royal Society of Chemistry

联系电话: +44 (0) 1223 434048

会议网站: <http://www.rsc.org/events/detail/22912/directing-biosynthesis-v>

会议背景介绍:

Natural products produced predominantly by microorganisms and plants have inspired the development of many blockbuster drugs, crop protection agents and other high value chemicals. Biosynthetic research is strategically important commercially but also to society as a whole and will continue to help address emerging challenges in health, the environment and sustainability on a global scale.

While this multidisciplinary field is driven by genetic and associated technological advances, chemistry remains the central focus with key input from the fields of organic chemistry, enzymology, biochemistry and ecology

Directing Biosynthesis V will be the fifth in a successful series of meeting and will represent a significant opportunity for scientists interested in the biosynthesis of natural products to hear more about developments in the field, network and present their own work during poster sessions and talks