

文章编号: 1674-5566(2013)03-0452-06

## 超滤分离对虾头自溶产物 ACE 抑制活性的影响

朱国萍<sup>1</sup>, 章超桦<sup>2,3</sup>, 曹文红<sup>2,3</sup>, 吉宏武<sup>2,3</sup>

(1. 广东海洋大学 分析测试中心, 广东 湛江 524088; 2. 广东海洋大学 食品科技学院, 广东 湛江 524088; 3. 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东 湛江 524088)

**摘要:** 采用 3 000 u、5 000 u、8 000 u 的超滤膜对凡纳滨对虾头自溶产物进行超滤分级分离, 研究各组超滤组分的相对分子质量分布和氨基酸组成的变化, 并比较各组超滤组分的血管紧张素转换酶 (angiotensin-I-converting enzyme, ACE) 抑制活性。结果表明: 利用超滤膜分离虾头自溶液可提高虾头自溶产物的 ACE 抑制活性, 3 000 u 超滤组分的 ACE 抑制活性为 0.61 mg/mL, 活性居各超滤组分之首; 8 000 u 超滤膜有效载留了大部分大分子物质, 相对分子质量小于 3 000 u 的多肽随超滤孔径的减小而增多; 3 000 u 超滤组分中芳香族氨基酸和支链氨基酸均高于其余各超滤组分。

**研究亮点:** 本研究利用 3 种不同孔径大小的超滤膜对虾头自溶产物进行分级分离, 研究超滤对相对分子质量分布、氨基酸组成及 ACE 抑制活性的影响, 为虾头自溶产物进一步的分离纯化及制备 ACE 抑制肽奠定基础。

**关键词:** 虾头; 自溶产物; 超滤; 分子量分布; 氨基酸; ACE 抑制活性

**中图分类号:** S 998

**文献标志码:** A

虾头富含各种营养成分, 其中蛋白质含量以干基计高达 60%, 虾头中还富含各种内源性酶, 特定条件下虾头可发生自溶作用, 蛋白质被降解, 以可溶性蛋白质、肽和氨基酸等形式释放出来<sup>[1]</sup>。前期研究表明<sup>[1]</sup>, 虾头自溶产物中 5 000 u 以下低分子肽含量占自溶产物的大部分, 并含有较高的芳香族氨基酸 (aromatic amino acid, AAA) 和支链氨基酸 (branched chain amino acid, BCAA), 且具有较强的血管紧张素转换酶 (angiotensin-I-converting enzyme, ACE) 抑制活性, 是制备 ACE 抑制肽的理想原料。然而, 由于虾头内源性酶是一种混合酶, 自溶过程各种内、外肽酶共同作用的结果将不可避免其产物成分的复杂性, 从而形成大小分子互混杂的混合体系, 而 ACE 抑制肽通常是低于 1 500 u 的小分子肽, 因此, 要想获取较纯的 ACE 抑制活性物质, 提高自溶产物的 ACE 抑制活性, 我们必须提高自溶产物中低分子肽的含量。超滤是常见的分离方法, 通过利用不同截流分子量的膜, 可截流一定分子量

以上的组分, 除去大分子物质, 获得分子量较小的短肽。

本研究选择 3 000 u、5 000 u、8 000 u 超滤膜对虾头自溶液进行分级分离, 通过比较不同超滤组分的分子量分布、AAA 和 BCAA 的含量以及其 ACE 抑制活性, 探讨超滤分离对虾头自溶产物 ACE 抑制活性的影响, 为虾头自溶产物进一步的分离纯化奠定基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 原料

新鲜凡纳滨对虾, 由湛江国联水产公司于 8 月份收虾季节收取新鲜对虾, 对虾质量约 20 g, 在加工厂将虾头取下后立刻放于铺上碎冰的泡沫箱中运回实验室, 小袋分装后放于 -80 °C 超低温冰箱中保存。

#### 1.2 仪器设备

Mini pellicon 膜包 (截留分子量分别为 3 000 u、5 000 u 和 8 000 u), 美国 Minipore。

收稿日期: 2012-11-16 修回日期: 2013-03-15

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2007BAD29B09); 教育部科学技术重点项目 (210155)

作者简介: 朱国萍 (1977—), 女, 实验师, 研究方向为水产品深加工。E-mail: zjougp@163.com

通信作者: 章超桦, E-mail: zhangch2@139.com

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 凡纳滨对虾虾头自溶液的制备

同笔者已发表的方法<sup>[1]</sup>。

#### 1.3.2 凡纳滨对虾虾头自溶液的超滤处理

用 0.45 μm 的滤膜抽滤自溶液,滤出液置于截留分子量为 8 000 u 的超滤膜中处理,收集截留液及透过液,再将透过液置于截留分子质量为 5 000 u 的超滤膜中超滤,收集截留液及透过液,再将透过液置于截留分子质量为 3 000 u 的超滤膜中超滤。超滤工作压力为 0.1 MPa,工作温度为 25 ℃。分别收集 8 000 u 超滤组分、5 000 ~ 8 000 u 超滤组分、3 000 ~ 5 000 u 超滤组分及 3 000 u 超滤组分,测定其 ACE 抑制活性,分析分子量分布及氨基酸组成。

#### 1.4 ACE 抑制活性的测定

根据 WU 等<sup>[2]</sup>的液相色谱法稍作修改。将不同截留分子质量的透过液或截留液分别配成质量浓度为 2.0 mg/mL、1.0 mg/mL、0.5 mg/mL 的溶液,分别测定其 ACE 抑制活性(抑制率,%),利用 IC<sub>50</sub> 专用计算公式分别计算其 IC<sub>50</sub> (质量浓度,mg/mL)。

ACE 抑制活性的测定:实验分为二组,一为非抑制剂组,即 Eppendorf 管中加入 50 μL 的去离子水,再加入 50 μL 的马尿酸(hippuryl-histidyl-leucine, HHL)溶液(5 mmol/L),在旋涡混合器上混合 20 s,37 ℃ 水浴中保温 6 min,加入 50 μL ACE(5 mU)在旋涡混合器上混合 20 s 启动反应,37 ℃ 条件下反应 30 min 后加入 150 μL 1 mol/L HCl 终止反应,在旋涡混合器上混合 20 s。静置 10 min 后再加超纯水 1 mL,在旋涡混合器上混合 20 s;二为抑制剂组,即除了用 50 μL 抑制剂溶液替换去离子水外其余操作同第一组。上述反应液用针式过滤头(0.45 μm)过滤后用高效液相色谱(Waters 600 E)在 228 nm 波长处测定该溶液的马尿酸峰面积。

抑制率的计算公式如下:

$$Y = \frac{A - B}{A} \times 100\% \quad (1)$$

式中:Y 为 ACE 抑制率(%);A 为加 50 μL HHL 溶液、50 μL ACE 和 50 μL 去离子水的液相检测的马尿酸峰面积;B 为加 50 μL HHL 溶液、50 μL ACE 和 50 μL 抑制剂的液相检测的马尿酸峰面积。

对 ACE 抑制率为 50% 时 ACEI 的浓度即为半数抑制浓度,记为 IC<sub>50</sub>。

马尿酸标准的测定:称取 50 mg 马尿酸(干粉状),溶于 35 mL 超纯水,于 45 ℃ 水浴,待完全溶解后冷却至室温,转移至 50 mL 容量瓶,用超纯水定容至 50 mL,此溶液为 1 mg/mL 的马尿酸标准品,4 ℃ 保存,每次取 1 mL 配成 0.25 mg/mL,高效液相色谱(Waters 600 E)在 228 nm 波长处测定其出峰时间。

#### 1.5 分子量分布的测定

采用高效体积排阻色谱法(high performance size exclusion chromatography, HPSEC)测定分子量分布,流动相为 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 8.3)。将 6 种分子量标准多肽(triose-phosphate-isomerase、myoglobin、aprotinin、insulin-B、bacitracin 和 HHL)配制成溶液,上样 10 μL 至 Waters-PROTEIN-PAK 60 柱进行高效液相色谱洗脱(Waters 600 E),流动相流速为 0.7 mL/min,监测 214 nm 处的吸光值,建立分子量 M 的对数与洗脱保留时间 t 之间的回归方程为分子量。将待测物配制可溶性蛋白含量为 5 mg/mL 的溶液,经过针式过滤头(0.45 μm)过滤后在相同的条件下进行高效液相色谱洗脱,分子量回归方程为  $\lg M = -0.226 1t + 6.487 2$ ,决定系数为 0.983 7。利用分子量回归方程考察虾头自溶产物的分子量分布。

#### 1.6 氨基酸组成分析

游离氨基酸的测定:超滤组分离心后的上清液,经过针式过滤头(0.45 μm)过滤后直接上样至日立 835-50 型高速氨基酸分析仪进行氨基酸的分析。

总氨基酸的测定:超滤组分经 6 mol/L HCl 水解后,采用日立 835-50 型高速氨基酸分析仪进行 17 种氨基酸含量测定。

## 2 结果

### 2.1 不同自溶时间虾头自溶产物的比较

虾头在优化条件下自溶,虾头中的蛋白质逐渐降解生成较小分子量的蛋白质、肽及游离氨基酸。如图 1 所示,3 000 u 以下的自溶产物随着自溶时间的延长而增多,特别在自溶 3 h 前增长幅度较大,但在自溶 3 h 后低分子自溶产物增长减缓;自溶产物中 AAA 及 BCAA 的总含量在各组自

溶液中含量较接近,3 h 自溶液的含量稍高于其余各组自溶液;ACE 抑制活性在自溶 3 h 前与 3 000 u 以下的自溶产物的含量呈正相关关系,3 000 u 以下的自溶产物含量越高,ACE 抑制活性越强,自溶至 5 h,尽管 5 h 自溶液 3 000 u 以下的自溶产物含量在各组中最高,但 ACE 抑制活性却最低,这可能是由于自溶至 5 h,游离氨基酸含量增加较多,成为 3 000 u 以下的自溶产物的主要成分,而自溶产物中肽含量减少,从而使 ACE 抑制活性降低。

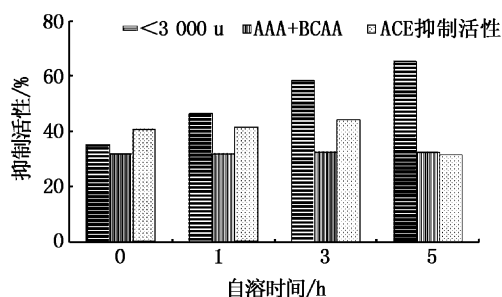


图 1 不同自溶时间虾头自溶产物 3 000 u 以下自溶产物、 $\Sigma$ AAA、 $\Sigma$ BCAA 的含量及 ACE 抑制活性

Fig. 1 Effect of different autolysis time on autolysis yield below 3 000 u, the content of  $\Sigma$ AAA,  $\Sigma$ BCAA and the ACE inhibitory activity

## 2.2 超滤对自溶产物分子量分布的影响

本实验采用 3 000 u、5 000 u、8 000 u 3 种截留分子量超滤膜分级分离 3 h 虾头自溶产物,得到 4 组不同分子量分布的超滤组分 (>8 000 u, 5 000 ~8 000 u, 3 000 ~5 000 u, <3 000 u)。从图 2 可见,8 000 u 超滤组分大峰主要分布于 11 min 前,大分子物质占大部分,其中大于 10 000 u 分子量物质占 58.35%,3 000 ~6 000 u 分子量物质占 6.5%,小于 3 000 u 分子量物质只占 35.15%,分子量分布图的大峰较前;而透过 8 000 u 膜的三组分(5 000 ~8 000 u, 3 000 ~5 000 u, <3 000 u)11 min 前出峰明显减少,大分子物质减少,小分子物质逐渐增多,峰形向后推移;透过 8 000 u 膜三组分的峰形相似,大于 10 000 u, 6 000 ~10 000 u, 3 000 ~6 000 u, 小于 3 000 u 四部分的含量接近,但 3 000 u 超滤组分大分子物质减少最明显,大于 10 000 u 分子量物质仅占 9.79%,小于 3 000 u 分子量物质上升至 61.83%。每一组分分子量分布的结果显示,8 000 u 膜截留了大部分大分子物质,其余 3 组超滤组

分分子量变化不明显,但较高分子量的峰高仍逐渐降低,低于 3 000 u 分子量小分子物质逐渐增多,从而使小分子物质得到有效的富集。

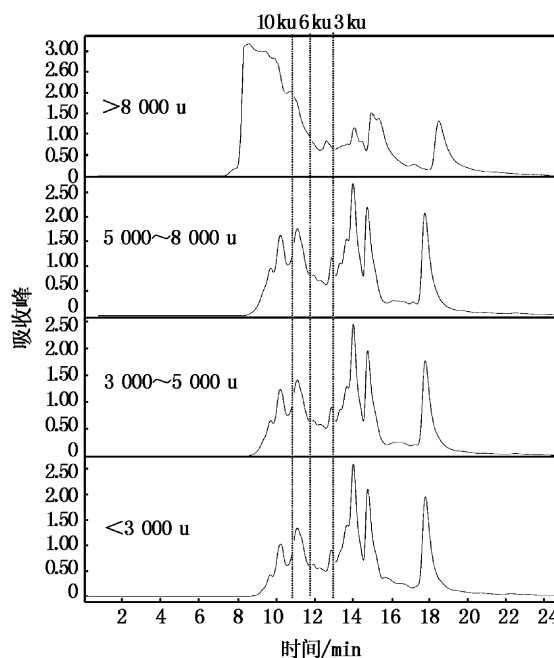


图 2 各组超滤组分的 HPLC 谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of ultrafiltration fractions

## 2.3 超滤组分的氨基酸组成

虾头自溶产物经超滤后,除低于 3 000 u 的小分子物质得到富集外,超滤组分中 AAA 和 BCAA 的含量也随之提高,如表 1 所示,超滤组分 AAA 和 BCAA 的含量随超滤膜孔径的减小而增大,3 000 u 超滤组分所含的 AAA 和 BCAA 均高于其余 3 组超滤组分,与 8 000 u 超滤组分相比,AAA 和 BCAA 总含量提高了 4.34%,BCAA 中的亮氨酸增加较明显,与 8 000 u 超滤组分相比,3 000 u 超滤组分所含的亮氨酸增加了 2.09%;超滤组分碱性氨基酸如赖氨酸和精氨酸的含量也随超滤膜孔径的减小而增大,尤以赖氨酸的增加明显,3 000 u 超滤组分赖氨酸的含量也比 8 000 u 超滤组分多 2.09%。因此超滤能提高自溶产物的 AAA、BCAA 及碱性氨基酸的含量。

## 2.4 超滤组分的 ACE 抑制活性

超滤不但使小分子物质富集,提高自溶产物的 AAA 和 BCAA 含量,同时也提高自溶产物的 ACE 抑制活性,如表 2 所示,3 000 u 超滤组分(2 mg/mL)的 ACE 抑制活性达 76.22%,而 8 000 u 超滤组分(2 mg/mL)的 ACE 抑制活性只为

41.82%,活性相差近 2 倍;4 组超滤组分的 ACE 抑制活性与超滤组分的分子量呈负相关关系,ACE 抑制活性随分子量的减小而增大,在 4 组超滤组分中,3 000 u 超滤组分的 ACE 抑制活性最强,活性分别是 3 000 ~ 5 000 u 超滤组分、5 000 ~ 8 000 u 超滤组分和 8 000 u 超滤组分的 1、2、3 倍。本实验的结果与许多研究的结果基本类似<sup>[3-5]</sup>,超滤膜孔径越小,产物的 ACE 抑制活性越强。经过超滤后,超滤产物的 ACE 抑制活性获

得提高。这一结果与我们所测的各超滤组分的 AAA 和 BCAA 及碱性氨基酸含量相对应,4 组超滤组分所含 AAA 和 BCAA 及碱性氨基酸含量与产物的 ACE 抑制活性呈正相关关系,超滤组分中 AAA、BCAA 及碱性氨基酸含量最高的 3 000 u 超滤组分其 ACE 抑制活性在 4 组超滤组分中最强,AAA 和 BCAA 及碱性氨基酸含量最低的 8 000 u 超滤组分的 ACE 抑制活性在 4 组超滤组分中最弱。

表 1 超滤对自溶产物氨基酸含量的影响

Tab.1 Effect of ultrafiltration on amino acids composition of the autolysis hydrolysate

| 氨基酸         | 各组超滤组分   |                 |                 |          |
|-------------|----------|-----------------|-----------------|----------|
|             | >8 000 u | 5 000 ~ 8 000 u | 3 000 ~ 5 000 u | <3 000 u |
| 门冬氨酸(Asp)   | 11.02    | 9.92            | 9.39            | 7.77     |
| 苏氨酸(Thr)    | 4.57     | 4.20            | 4.13            | 4.15     |
| 丝氨酸(Ser)    | 3.76     | 3.36            | 3.19            | 2.64     |
| 谷氨酸(Glu)    | 16.13    | 14.89           | 14.55           | 13.99    |
| 脯氨酸(Pro)    | 5.65     | 5.73            | 5.63            | 5.18     |
| 甘氨酸(Gly)    | 7.53     | 7.25            | 7.04            | 6.74     |
| 丙氨酸(Ala)    | 6.99     | 7.63            | 7.51            | 7.25     |
| 缬氨酸(Val)    | 5.65     | 5.34            | 5.63            | 6.22     |
| 甲硫氨酸(Met)   | 2.96     | 3.32            | 4.08            | 3.32     |
| 异亮氨酸(Ile)   | 4.57     | 4.58            | 4.69            | 5.18     |
| 亮氨酸(Leu)    | 6.72     | 7.63            | 7.51            | 8.81     |
| 酪氨酸(Tyr)    | 2.96     | 3.21            | 3.19            | 3.68     |
| 苯丙氨酸(Phe)   | 4.57     | 4.96            | 5.16            | 5.18     |
| 赖氨酸(Lys)    | 6.72     | 7.25            | 7.51            | 8.81     |
| 组氨酸(His)    | 2.04     | 1.91            | 1.92            | 1.97     |
| 精氨酸(Arg)    | 6.45     | 6.87            | 7.04            | 7.25     |
| 色氨酸(Trp)    | 1.77     | 1.76            | 1.83            | 1.97     |
| ΣAAA        | 14.95    | 15.65           | 15.82           | 16.01    |
| ΣBCAA       | 16.94    | 17.56           | 17.84           | 20.21    |
| ΣAAA + BCAA | 31.88    | 33.21           | 33.66           | 36.22    |

表 2 超滤对自溶产物 ACE 抑制活性的影响

Tab.2 Effect of ultrafiltration on ACE inhibitory activity of the autolysis hydrolysate

| 各组超滤组分          | 浓度/(mg/mL) | 出峰时间/min | 峰面积     | ACE/% | IC <sub>50</sub> /(mg/mL) |
|-----------------|------------|----------|---------|-------|---------------------------|
| <3 000 u        | 2.0        | 15.730   | 89 866  | 76.22 | 0.61                      |
|                 | 1.0        | 15.656   | 181 975 | 51.84 |                           |
|                 | 0.5        | 15.593   | 187 810 | 50.30 |                           |
| 3 000 ~ 5 000 u | 2.0        | 15.649   | 125 715 | 66.73 | 0.91                      |
|                 | 1.0        | 15.633   | 192 831 | 48.97 |                           |
|                 | 0.5        | 15.553   | 249 466 | 39.9  |                           |
| 5 000 ~ 8 000 u | 2.0        | 15.652   | 138 102 | 63.45 | 1.26                      |
|                 | 1.0        | 15.686   | 236 633 | 37.38 |                           |
|                 | 0.5        | 15.621   | 245 543 | 35.02 |                           |
| >8 000 u        | 2.0        | 15.746   | 219 841 | 41.82 | 1.98                      |
|                 | 1.0        | 15.669   | 317 934 | 15.86 |                           |
|                 | 0.5        | 15.546   | 375 736 | 0.563 |                           |

### 3 讨论

活性肽的生物活性与它的分子量大小密切相关<sup>[6-8]</sup>,分子量较小的活性肽通常显示强大的生物活性<sup>[9]</sup>。因此,为了从复杂的酶解产物中纯化肽成分或部分小分子肽,选择较小分子量的超滤膜作为分离手段必不可少<sup>[10-11]</sup>。超滤分离是通过采用适当的超滤膜使所需的水解产物或肽的分子量分布得以控制在一定的范围<sup>[8,12]</sup>,从而使所选择的具有一定大小范围的纯化肽组分具有特定的功能特性<sup>[13]</sup>。本实验选择 8 000 u、5 000 u、3 000 u 3 种截留分子量超滤膜分级分离 3 h 虾头自溶产物,得到的 4 组超滤组分,其中 3 000 u 超滤组分所含的小分子物质(小于 3 000 u)在 4 组超滤组分中最高,而 8 000 u 超滤组分所含的小分子物质(小于 3000 u)在 4 组超滤组分中最低,表明超滤组分中小分子物质的含量随超滤膜孔径的减小而增大,使小分子物质得到有效富集;伴随着超滤组分中小分子物质含量的增加,超滤组分的 ACE 抑制活性随之增强,印证了活性肽的生物活性与它的分子量大小密切相关。

降血压肽的活性除与分子量大小相关,还与其氨基酸的组成及结构有关。CHEUNG 等认为 ACE 抑制肽的抑制活性主要取决于 C 端氨基酸,C 端氨基酸为芳香族氨基酸(包括色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸)和脯氨酸时其抑制活性较高,另外,N 端为疏水性的缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸或碱性氨基酸的肽与 ACE 的亲合力较强,抑制活性较高,但是脯氨酸则例外<sup>[14]</sup>。如表 2 所示,虾头自溶产物经超滤后,除低于 3 000 u 的小分子物质得到富集外,超滤组分中 AAA 和 BCAA 的含量也随之提高,其中 3 000 u 超滤组分所含的 AAA 和 BCAA 均高于其余 3 组超滤组分,碱性氨基酸如赖氨酸和精氨酸在 3 000 u 超滤组分的含量也高于其余超滤组分,表明超滤能提高自溶产物的 AAA、BCAA 及碱性氨基酸的含量,超滤组分所含 AAA 和 BCAA 以及碱性氨基酸的含量也与其小分子物质及 ACE 抑制活性相对应,超滤孔径越小,所得超滤组分的小分子物质含量越高,AAA 和 BCAA 以及碱性氨基酸的含量也越高,ACE 抑制活性相应增强。据此也印证了 ACE 抑制肽的抑制活性与分子量大小、AAA 和 BCAA 及碱性氨基酸密切相关。

### 参考文献:

- [1] 朱国萍,曹文红,章超桦,等. 凡纳滨对虾虾头自溶动力学[J]. 水产学报,2010,34(3):395-403.
- [2] WU J, ALUKO R E, MUIT A D. Improved method for direct high-performance liquid chromatography assay of angiotensin-converting enzyme-catalyzed reactions [J]. Journal of Chromatography A, 2002, 950(1/2):125-130.
- [3] KUBA M, TANA C, TAWATA S, et al. Production of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides from soybean protein with *Monascus purpureus* acid proteinase [J]. Process Biochemistry, 2005, 40(6): 2191-2196.
- [4] ZHAO Y H, LI B F, LIU Z Y, et al. Antihypertensive effect and purification of an ACE inhibitory peptide from sea cucumber gelatin hydrolysate [J]. Process Biochemistry, 2007, 42(12): 1586-1591.
- [5] JUNG W K, MENDIS E, JE J Y, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats [J]. Food Chemistry, 2006, 94(1): 26-32.
- [6] GUERARD F, DUFOSSÉ L, BROISE D L D, et al. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using Alcalase [J]. Journal of molecular catalysis, 2001, 11(4/6): 1051-1059.
- [7] GUERARD F, GUIMAS L, BINET A. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutrase preparation [J]. Journal of molecular catalysis B: Enzymatic, 2002, 19-20: 489-498.
- [8] JEON Y J, BYUN H G, KIM S K. Improvement of functional properties of cod frame protein hydrolysates using ultrafiltration membranes [J]. Process Biochemistry, 1999, 35(5): 471-478.
- [9] FRUITIER I, GARREAU I, LACROIX A, et al. Proteolytic degradation of hemoglobin by endogenous lysosomal proteases gives rise to bioactive peptides; hemorphins [J]. FEBS Letters, 1999, 447(1): 81-86.
- [10] AFONSO M D, BORQUEZ R. Nanofiltration of wastewaters from the fish meal industry [J]. Desalination, 2002, 151(2): 131-138.
- [11] BOUHALLAB S, TOUZE C. Continuous hydrolysis of casein-macropeptide in a membrane reactor-kinetic-study and gram-scale production of antithrombotic [J]. Lait, 1995, 75(3): 251-258.
- [12] CHERYAN M, MEHAIA M A. Membrane bioreactors: enzyme processes[M]. Biotechnology and food process engineering, 1990:67.
- [13] HAJJOU M, SMINE A, GUERARD F, et al. Purification and some properties of a carboxypeptidase B from dogfish *Scyliorhinus canicula* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 1999, 110(4): 791-798.

- [14] CHEUNG H S, WANG F L, ONDETTI M A, et al. Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin-converting enzyme[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1980, 255: 401 - 407.

## Effect of ultrafiltration on ACE inhibitory activity of autolysate of shrimp head

ZHU Guo-ping<sup>1</sup>, ZHANG Chao-hua<sup>2,3</sup>, CAO Wen-hong<sup>2,3</sup>, JI Hong-wu<sup>2,3</sup>

(1. *Center of Forecasting and Analysis, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong, China*; 2. *College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong, China*; 3. *Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang 524088, Guangdong, China*)

**Abstract:** *Litopenaeus vannamei* head autolysate was consecutively extracted through ultrafiltration membrane with molecular weight cut-offs (MWCO) at 3 000, 5 000 and 8 000 u, respectively. The distribution of relative molecular mass, composition of amino acid as well as ACE (Angiotensin-I-converting enzyme) inhibitory activity in different filtrates were measured. The results showed that ACE inhibitory activity of autolysate increased after extraction by extra-fine membrane. Obviously, the inhibitory activity of the filtrate of 3 000 u extra-fine membrane was 0.61 mg/mL, which ranked the first compared with other filtrates. Meanwhile, the most of macromolecular substance was retained by 8 000 u while the extracted peptides with relative molecular mass less than 3 000 u increased markedly with the decline of MWCO of membrane. In addition, the contents of aromatic amino acid and branched chain amino acid in filtrate of 3 000 u were higher than those in other filtrates.

**Key words:** shrimp head; autolysate; ultrafiltration; distribution of relative molecular mass; amino acid; ACE inhibitory activity