

油料蛋白

DOI: 10.12166/j.zgyz.1003-7969/2020.07.015

中性条件下大米蛋白的酶法增溶工艺研究

张 余¹, 孙艳辉¹, 陈志宏¹, 苗文娟¹, 张榆敏²

(1. 滁州学院 生物与食品工程学院, 安徽 滁州 239000; 2. 安徽顺鑫盛源生物食品有限公司, 安徽 滁州 239000)

摘要:为改善大米蛋白(RP)溶解性,对中性条件下RP酶法增溶工艺进行研究。在对中性蛋白酶、碱性蛋白酶、酸性蛋白酶、菠萝蛋白酶和木瓜蛋白酶5种酶单因素实验基础上,研究RP的复合酶解。结果表明:单酶水解以中性蛋白酶效果最好,在底物质量分数20%、酶用量1%、酶解温度50℃、酶解时间4 h条件下,所得速溶大米蛋白(IPR)溶解度为79.01%,水解度为6.79%。复合酶解以中性蛋白酶和木瓜蛋白酶复配效果最好。综合考虑溶解度、水解度和功能性质等要求,RP适宜的酶解条件为:底物质量分数20%,中性蛋白酶和木瓜蛋白酶复合酶解,酶用量各0.5%,酶解温度50℃,酶解时间4 h。复合酶解所得IPR具有较好的溶解度(63.58%)、乳化活性($27.60\text{ m}^2/\text{g}$)和乳化稳定性(29.61 min),在pH 5~8范围内具有良好的溶解性(溶解度54.39%~68.34%)。此外,IPR中游离氨基酸和肽含量显著增加,其营养价值明显改善,更易于消化吸收。研究表明,复合酶解是RP增溶改性的有效途径,所得IPR的溶解性、乳化性均有明显改善。

关键词:大米蛋白;速溶大米蛋白;酶法增溶;溶解度;水解度

中图分类号:TS210.9;Q814.9 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)07-0067-06

Solubility modification of rice protein by enzymatic method in neutral condition

ZHANG Cuan¹, SUN Yanhui¹, CHEN Zhihong¹,
MIAO Wenjuan¹, ZHANG Yumin²

(1. School of Biology and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou 239000, Anhui, China;

2. Anhui Shunxin Shengyuan Biological Food Co., Ltd., Chuzhou 239000, Anhui, China)

Abstract: In order to improve the solubility of rice protein (RP), the solubility modification of RP by enzymatic method in neural condition were investigated. Based on the single factor experiment of five enzymes including neutral protease, alkaline protease, acid protease, bromelain and papain, the combination enzymatic hydrolysis of RP was analyzed. The results showed that the neutral protease had the best efficiency on solubility modification in the single enzyme hydrolysis test. Under the conditions of RP mass concentration 20%, enzyme dosage 1%, enzymolysis temperature 50℃ and enzymolysis time 4 h, the instant rice protein (IPR) solubility was up to 79.01%, and the degree of hydrolysis (DH) was 6.79%. In the combination enzymatic hydrolysis, the effect of neutral protease and papain group was the best. Considering the protein solubility, degree of hydrolysis and functional properties, the ideal solubility modification conditions were obtained as follows:

RP mass concentration 20%, using neutral protease and papain, each enzyme dosage 0.5%, enzymolysis temperature 50℃ and enzymolysis time 4 h. Under these conditions, the IPR had good solubility (63.58%), high emulsifying activity ($27.60\text{ m}^2/\text{g}$) and good emulsion stability (29.61 min), and also had good solubility (54.39%~68.34%) in the range of pH 5~8. In addition, the content of free

收稿日期:2019-04-06;修回日期:2020-04-17

基金项目:2017年度滁州市农业与社会发展科技计划项目(201709);滁州市221“大米深加工”产业创新团队;安徽省大米深加工科技特派员工作站(201804);滁州学院酶法加工科技创新团队项目(00001702);滁州学院项目(zrjz2017001)

作者简介:张 余(1970),女,教授,博士,主要从事食品化学与营养学、膳食蛋白方向的研究工作(E-mail)zhangchuan2005@126.com。

amino acids and peptides increased significantly in IRP, so it had higher nutritional value and was easier to be digested and absorbed. The results indicated that enzymatic hydrolysis with combined proteases was an effective way to increase the solubility of RP, and the solubility and emulsifying properties of IRP could be obviously improved.

Key words: rice protein; instant rice protein; solubility modification with enzymatic method; solubility; degree of hydrolysis (DH)

大米蛋白具有低过敏、易消化的特点,是公认的优质膳食蛋白,在婴幼儿食品和高端食品中应用前景广阔。大米胚乳蛋白由清蛋白(2%~5%)、球蛋白(2%~10%)、醇溶蛋白(1%~5%)和谷蛋白(80%左右)组成^[1-2]。在利用碎米加工淀粉糖浆时,大米蛋白中的水不溶性醇溶蛋白和谷蛋白会残留在米渣中。米渣中富含蛋白质(40%~70%)、脂类(3%~8%)和灰分(2%~3%),是工业用大米膳食蛋白的主要来源^[3-4]。

研究表明,大米蛋白具有丰富的营养价值和显著的调节血脂和胆固醇代谢的功效^[5]。但是米渣中蛋白质的疏水性很强,加之在高温处理、干燥过程中往往聚集成团,或与纤维素分子聚集在一起,使其水解非常困难。米渣蛋白的水不溶性使其在饮料、营养蛋白粉中的应用受到限制。为了提高大米蛋白溶解性,目前常用的方法有酸解法、酶法、化学改性法等^[6-8]。Wang 等^[9]采用超声波辅助酶解,结合超滤的方法制备大米低聚肽,不仅将产物中低聚肽的含量从 40% 提高到 60%,还可以显著降低酶的成本。

然而,大米肽的加工和大米蛋白的增溶改性有着显著区别,前者以获取小分子肽为主要目的,后者是利用酶的有限水解,在提高蛋白质溶解度的同时,尽量避免蛋白质分子的大量水解,以保持蛋白质作为生物大分子的某些功能性质,如起泡性和乳化性^[10-11]。王章存等^[6]采用 Alcalase 水解所得大米蛋白水解物的溶解度、发泡性和乳化性分别为 50.2%、50 mL 和 73.6 mL/g,但文中未指出蛋白水解度。崔沙沙等^[7]采用碱性蛋白酶处理,水解度可达 5%,此时大米蛋白水解物溶解度为 65.93%。目前,大米蛋白酶法增溶多采用单酶,复合酶解较少。不同种类蛋白酶具有不同的水解位置,其产物也不同。因此,多酶复合酶解的效果一般要比单酶好^[12]。但是多酶酶解对产物风味、功能性质的影响往往比较复杂^[13]。

本文在对中性蛋白酶、碱性蛋白酶、酸性蛋白酶、菠萝蛋白酶和木瓜蛋白酶 5 种酶制剂单因素实

验分析的基础上,选择酶解效果较好的 3 种酶对大米蛋白进行复合酶法增溶改性。在酶解过程中,考虑到工业化生产速溶大米蛋白粉(Instant rice protein, IRP)时,调节 pH 会增加酸碱用量,不利于环保,且影响产品质量,故文中蛋白质酶解均不调整 pH,保持在中性范围(5~7),旨在提高大米蛋白溶解度的同时,又不使蛋白质分子过度水解,仍能保持较好的功能性质,以拓宽大米蛋白在食品领域的应用范围。

1 材料与方法

1.1 实验材料

食品级超细大米蛋白粉(300 目),安徽顺鑫盛源生物食品有限公司提供,由加工大米淀粉糖浆的副产物、经干燥、去杂、粉碎后所得,为淡黄色粉末状,有大米清香。中性蛋白酶、碱性蛋白酶、酸性蛋白酶、木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶 5 种酶,酶活力均为 20 万 U/g,购自南宁庞博生物工程有限公司。

磷酸盐、水合茚三酮、NaN₃、氯化亚锡等,均为分析纯,购自国药集团上海化学试剂有限公司。

DHS16-A 水分测定仪,1601160S 杜马斯燃烧仪,MKX-M1-T 马弗炉,GL-21M 高速冷冻离心机,DF-101Z 集热式恒温加热磁力搅拌器,T6 可见分光光度计,LG-10B 真空冷冻干燥机,A300 全自动氨基酸分析仪(德国 - 曼默博尔),YRE-301 型减压旋转蒸发仪。

1.2 实验方法

1.2.1 酶法制备速溶大米蛋白粉(IRP)

参考文献[10,12]中的方法制备速溶大米蛋白粉。将一定量的大米蛋白粉(RP)放入容器,加入水,搅拌均匀,加入酶,在设定温度下酶解一定时间。酶解结束后,在 95 ℃ 下灭酶 15 min, 离心(4 000 r/min, 5 min), 取上清液, 定容, 分析测定其水解度(DH)和蛋白质溶解度。

根据 DH 和溶解度结果,确定酶解条件后,将大米蛋白粉在确定的条件下酶解,所得酶解液冷冻干燥,粉碎后,即为速溶大米蛋白粉,装袋,备用。

1.2.2 指标分析

1.2.2.1 常规组分测定

水分,采用GB 5009.3—2016直接干燥法测定;粗脂肪,采用GB 5009.6—2016索氏抽提法测定;蛋白质,采用GB 5009.5—2016杜马斯燃烧法测定;灰分,采用GB 5009.4—2016马弗炉直接灰化法测定。

1.2.2.2 水解度(DH)测定

采用茚三酮比色法测定^[14-15]。

1.2.2.3 酶解过程中IRP溶解度测定

取1.2.1离心获得的上清液,用去离子水定容至100 mL,混匀,吸取5.0 mL,放入干净铝盒内,在105℃下干燥至恒重。取出,在干燥器内冷却,称重。按照下式计算IRP溶解度。

$$\text{溶解度} = \frac{m_1 \times 100/5}{m_2} \times 100\%$$

式中: m_1 为5.0 mL酶解液中的蛋白质质量,g; m_2 为样品大米蛋白粉质量,g;100/5为稀释倍数。

1.2.3 不同pH下样品溶解度曲线绘制

参考文献[16]中的方法稍作调整。在25℃、pH 1~12范围内,测定不同pH下RP和IRP的溶解度,绘制pH-溶解度曲线。

1.2.4 速溶大米蛋白粉中肽含量测定

参照文献[9]中的方法,做适当调整。称取一定量的IRP,溶于水中,然后滴加20%三氯乙酸溶液,静置以沉淀其中的蛋白质,离心(4 000 r/min,5 min),分别收集上清液和沉淀。采用茚三酮比色

法测定上清液中的游离氨基酸含量(M_1),采用凯氏定氮法测定沉淀中的蛋白质含量(M_2)以及IRP中总蛋白质含量(M),则:

$$\text{IRP中肽含量} = M - M_1 - M_2$$

1.2.5 乳化性测定

参考文献[17]中的方法制备乳状液。将蛋白样品溶于0.1 mol/L的磷酸盐缓冲液(pH 7.5)中,配成蛋白质量浓度为5 mg/mL的溶液,添加质量分数为0.02%的NaN₃,抑制微生物生长,室温下磁力搅拌2 h,4℃过夜使蛋白充分水合。取15 mL蛋白溶液与5 mL玉米胚芽油混合,采用高速均质机在12 000 r/min下高速均质乳化1 min即得乳状液。根据文献[16-17]中的方法测定蛋白样品的乳化活性(EAI)和乳化稳定性(ESI)。

1.2.6 氨基酸组成分析

采用全自动氨基酸分析仪进行分析,具体操作按照GB 5009.124—2016的方法进行。

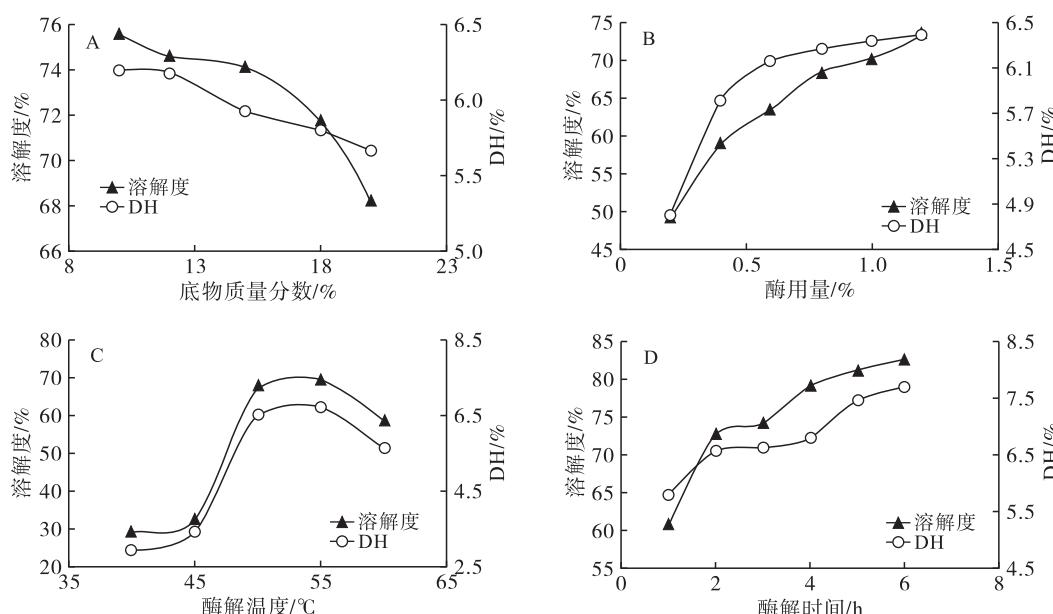
1.2.7 数据处理

实验数据采用Excel分析整理,绘制图表;采用SPSS数据处理软件对数据差异显著性进行分析。所有实验数据均重复测定3次,结果以平均值表示。

2 结果与分析

2.1 不同蛋白酶对RP酶解单因素实验

中性蛋白酶属于内切酶,对于肽键的选择性不强,可用于各类蛋白质的酶解^[18]。图1是中性蛋白酶酶解条件对RP增溶改性的影响。



注:A实验条件为酶用量0.8%、酶解温度50℃、酶解时间2 h;B实验条件为底物质量分数20%、酶解温度50℃、酶解时间2 h;C实验条件为底物质量分数20%、酶用量1.0%、酶解时间2 h;D实验条件为底物质量分数20%、酶用量1.0%、酶解温度55℃。

图1 中性蛋白酶酶解条件对RP增溶改性的影响

由图1A可知,中性条件下,在10%~20%范围内,随RP质量分数增加,DH和IRP溶解度呈现明显降低趋势。综合考虑RP的增溶效果及生产效率,取RP质量分数为20%,此时DH为5.67%,溶解度为68.26%。由图1B可知,在RP质量分数为20%条件下,酶用量在0.2%~1.2%范围内,IRP溶解度和DH均显著增加,当酶用量大于1%时,溶解度和DH增幅变小,故以1%的酶用量为宜,此时IRP溶解度为70.14%,DH为6.34%。由图1C可知,在40~60℃范围内,酶解温度的影响呈现典型的峰形,在55℃时IRP具有最高溶解度(69.55%)和DH(6.73%),但与50℃时IRP溶解度(68.04%)和DH(6.54%)相比增幅不大,故选择酶解温度为50℃。由图1D可知,在1~6 h范围内,随酶解时间延长,IRP溶解度和DH均呈明显增加趋势,综合增溶效果和时间成本,取酶解时间4 h为宜。因此,中性蛋白酶对RP增溶改性的适宜条件为:底物质量分数20%,酶用量1%,酶解温度50℃,酶解时间4 h。在此条件下,所得IRP溶解度为79.01%,DH为6.79%。

碱性蛋白酶、酸性蛋白酶、菠萝蛋白酶和木瓜蛋白酶4种酶对RP酶解的单因素实验结果表明,各因素变化趋势与中性蛋白酶相近,但酶解效果差异很大,具体见表1。

表1 蛋白酶酶解RP的单因素实验结果

蛋白酶	适宜酶解条件	DH/%	溶解度/%
中性蛋白酶	底物质量分数20%,酶用量1%,酶解温度50℃,酶解时间4 h	6.79	79.01
碱性蛋白酶	底物质量分数20%,酶用量1%,酶解温度50℃,酶解时间4 h	5.47	60.48
酸性蛋白酶	底物质量分数20%,酶用量1%,酶解温度50℃,酶解时间6 h	1.30	18.24
菠萝蛋白酶	底物质量分数20%,酶用量1%,酶解温度55℃,酶解时间4 h	1.71	27.40
木瓜蛋白酶	底物质量分数20%,酶用量1%,酶解温度55℃,酶解时间4 h	4.04	45.55

碱性蛋白酶又称丝氨酸蛋白酶,在pH 6~10范围内稳定,pH低于6或大于11时很快失活,其活性中心含丝氨酸^[19]。由表1可知,中性条件下,碱性蛋白酶与中性蛋白酶在完全相同的酶解条件下,可达到较理想的增溶效果,所得IRP溶解度为60.48%,DH为5.47%。

酸性蛋白酶是由黑曲霉优良菌种经发酵精制提炼而成,其最适pH为2~4,酶活性部位含有1个或更多的羧基^[20]。由表1可知,本实验中pH均未调整,不在酸性蛋白酶最适pH范围内,增溶效果不

好。在底物质量分数20%、酶用量1%、酶解温度50℃下,即使酶解6 h,IRP溶解度仅为18.24%,DH为1.30%。

菠萝蛋白酶为巯基蛋白酶,其酶活性受重金属抑制,优先水解碱性氨基酸(如精氨酸)或芳香族氨基酸(如苯丙氨酸、酪氨酸)羧基侧上的肽链^[21]。由表1可知,菠萝蛋白酶对RP酶解的适宜条件为:底物质量分数20%,酶用量1%,酶解温度55℃,酶解时间4 h。在适宜条件下,IRP溶解度为27.40%,DH为1.71%,效果仅稍好于酸性蛋白酶。

木瓜蛋白酶是一种低特异性蛋白水解酶,其活性中心含半胱氨酸,属于巯基蛋白酶,可水解蛋白质和多肽中精氨酸和赖氨酸的羧基端,并能优先水解肽键的N—端具有2个羧基的氨基酸或芳香L—氨基酸的肽键^[22]。由表1可知,在底物质量分数20%、酶用量1%、酶解温度55℃、酶解时间4 h的条件下,增溶效果较好,所得IRP溶解度和DH分别为45.55%、4.04%。

综上所述,基于中性pH下RP的增溶改性,单酶酶解效果较好的是中性蛋白酶、碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶,其适宜酶解条件为底物质量分数20%、酶解温度50~55℃、酶用量1%、酶解时间4 h。所得IRP溶解度分别为79.01%、60.48%和45.55%,基本达到了RP增溶改性目标。在此基础上,分析探讨这3种酶对RP的复合增溶效果。

2.2 RP的复合酶法增溶改性

中性蛋白酶、碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶对RP的复合酶法增溶结果见表2。

表2 RP的复合酶法增溶改性产物及其乳化特性

酶组合	DH/%	溶解度/%	肽含量/%	EAI/(m ² /g)	ESI/min
RP	-	-	-	10.86	11.39
①	6.79	79.01	20.38	25.31	22.65
②	5.47	60.48	12.29	24.18	15.68
③	4.04	45.55	10.27	23.82	16.28
①②	2.28	65.73	17.34	28.12	24.26
①③	2.19	63.58	16.18	27.60	29.61
②③	1.62	49.63	11.09	22.37	16.27
①②③	2.04	59.88	14.38	25.92	23.97

注:①中性蛋白酶,②碱性蛋白酶,③木瓜蛋白酶;复合酶解中,总酶用量1.0%,各单酶用量比例相等,底物质量分数20%,酶解温度50℃,酶解时间4 h。

由表2可知,在复合酶解中,以①②(中性蛋白酶+碱性蛋白酶)和①③(中性蛋白酶+木瓜蛋白酶)的增溶改性效果较好,IRP不仅具有较高的溶解

度(65.73%和63.58%),而且具有良好的乳化活性(EAI)和乳化稳定性(ESI),其中①③(中性蛋白酶+木瓜蛋白酶)复合酶解所得IRP的EAI(27.60 m²/g)和ESI(29.61 min)均较高。因此,RP复合酶增溶改性的适宜条件为:底物质量分数20%,中性蛋白酶和木瓜蛋白酶用量各为0.5%,酶解温度50℃,酶解时间4 h。在适宜条件下,所得IRP具有良好的溶解性、乳化活性和乳化稳定性。

2.3 理化性质

2.3.1 主要组分

表3是RP和复合酶适宜条件下改性所得IRP的主要组分。

表3 RP 和 IRP 的主要组分 %

样品	水分	蛋白质	粗脂肪	灰分	游离氨基酸	肽含量
RP	3.73	84.51	2.50	5.31	-	-
IRP	4.68	86.58	2.42	4.43	5.68	16.19

注:表中非水组分含量均为干基含量。

由表3可知:IRP中蛋白质含量略高于RP,灰分和粗脂肪含量略低于RP,但差异不大;酶解后,IRP中游离氨基酸和肽含量显著增加,分别为5.68%和16.19%。说明RP经复合酶改性后,不仅溶解度得到显著提升,且营养价值也得到明显改善,更易于消化吸收。

2.3.2 氨基酸组成(见表4)

表4 RP 和 IRP 的氨基酸组成 %

氨基酸	RP	IRP
天冬氨酸	8.28	8.48
苏氨酸*	3.41	3.93
丝氨酸	3.85	4.21
谷氨酸	15.87	16.33
甘氨酸	4.05	4.31
丙氨酸	4.36	4.51
胱氨酸	3.25	3.61
缬氨酸*	5.30	5.54
蛋氨酸*	1.53	1.56
异亮氨酸*	4.11	4.29
亮氨酸*	6.18	6.44
酪氨酸	3.24	3.43
苯丙氨酸*	3.91	4.52
赖氨酸*	3.71	3.87
组氨酸	2.27	2.68
色氨酸*	0.74	0.87
精氨酸	3.78	3.56
脯氨酸	4.39	4.69
必需氨基酸	28.89	31.02
呈味氨基酸	39.71	41.58
总计	82.23	86.83

注: * 为必需氨基酸; 呈味氨基酸包括谷氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、酪氨酸。

由表4可知,IRP中必需氨基总量和呈味氨基酸总量都略高于RP。说明复合酶改性不仅可以提高RP的溶解度和乳化性,还可以改善其风味。RP的增溶改性要适当控制DH,以免生成太多苦味肽,影响IRP的口感^[10]。

2.3.3 不同pH下的溶解度

在pH 1~12范围内,RP改性前后的溶解度随pH的变化趋势如图2所示。

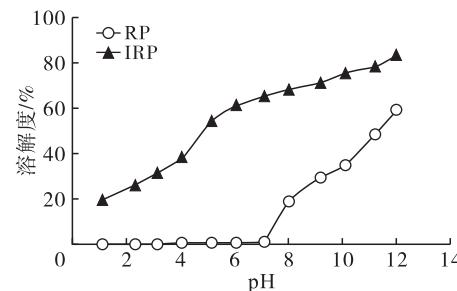


图2 RP 和 IRP 的溶解度曲线

由图2可知,RP在pH高于7时,溶解度才有明显增加,pH 8时,溶解度仅为18.91%。但在一般食品中pH高于8的情况很少。经复合酶改性后,IRP溶解性有明显改善,在酸性(pH 4)条件下,溶解度也有38.27%,在pH 5~8范围内,溶解度可达54.39%~68.34%。说明经复合酶改性后,IRP在较宽的pH条件下,仍可保持较高的溶解度。

3 结论

通过对5种常见蛋白酶中性pH条件下酶解RP的单因素实验分析,以中性蛋白酶、碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶3种单酶对RP的增溶改性效果较好,将其用于RP的复合酶解。综合考虑蛋白质溶解度、DH和功能性质等要求,RP的适宜酶法增溶条件为:底物质量分数20%,中性蛋白酶和木瓜蛋白酶复合酶解,酶用量各0.5%,酶解温度50℃,酶解时间4 h。适宜条件下复合酶所得IRP具有较高的溶解度(63.58%)、乳化活性(27.60 m²/g)和乳化稳定性(29.61 min),在pH 5~8范围内也显示出较好的溶解性(溶解度54.39%~68.34%)。此外,经复合酶法改性后,IRP中的游离氨基酸和肽含量显著增加,分别为5.68%和16.19%。说明RP经复合酶改性后,不仅溶解度得到显著提升,且营养价值也得到明显改善,更易于消化吸收。

参考文献:

- [1] AMAGLIANI L, O'REGAN J, KELLY A L, et al. Composition and protein profile analysis of rice protein ingredients[J]. J Food Composit Anal, 2017, 59: 18~26.
- [2] 陈媛, 张志国. 大米蛋白研究进展[J]. 粮食与油脂, 2017, 30 (7): 13~16.

- [3] 赵殷勤, 张晖, 郭晓娜, 等. 米渣蛋白和大米蛋白的结构及性质比较 [J]. 粮食与饲料工业, 2010 (9): 22–24.
- [4] 罗舜菁, 耿勤, 颜小燕, 等. 不同脱脂条件下米渣蛋白的结构及功能性质 [J]. 食品科学, 2017 (5): 202–207.
- [5] YANG L, CHEN J H, LÜ J, et al. Rice protein improves adiposity, body weight and reduces lipid level in rats through modification of triglyceride metabolism [J]. Lipids Health Dis, 2012, 11: 1–10.
- [6] 王章存, 姚惠源. 大米蛋白质的酶法水解及其性质研究 [J]. 中国粮油学报, 2003, 18 (5): 5–8.
- [7] 崔沙沙, 钟俊桢, 方冲, 等. 不同低水解度的大米蛋白溶解性与结构变化的关系 [J]. 食品工业科技, 2016 (7): 86–91.
- [8] 鲁倩. 大米蛋白糖基化改性及其体外抗氧化活性的研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2015.
- [9] WANG H B, WANG J, LÜ Z J, et al. Preparing oligopeptides from broken rice protein by ultrafiltration – coupled enzymatic hydrolysis [J]. Eur Food Res Technol, 2013, 236: 419–424.
- [10] 沈敏江, 王文辉, 刘丽, 等. 核桃蛋白有限酶解增溶改性的工艺研究 [J]. 中国粮油学报, 2015, 30 (8): 93–98.
- [11] MONIKA B G, THERESIA H H, NESLI S, et al. Foaming characteristics of oat protein and modification by partial hydrolysis [J]. Eur Food Res Technol, 2018, 244: 2095–2106.
- [12] AGUILAR J G S, DE CASTRO R J S. Optimization of the enzymatic hydrolysis of rice protein by different enzymes using the response surface methodology [J]. Biotechnology, 2018, 8: 372–380.
- [13] 江连洲, 佟晓红, 刘宝华, 等. 酶种类对生物解离大豆
-
- (上接第 49 页)
- [18] 李杰, 赵声兰, 陈朝银. 食用油天然抗氧化剂的研究与开发 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 373–378.
- [19] 张勇, 周丽明, 黄章平. 比清除率衡量 Sevage 法脱茶籽多糖蛋白的效果 [J]. 南方农业学报, 2016, 47(1): 107–111.
- [20] 谭西, 周欣, 陈华国. 多糖结构修饰研究进展 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(4): 341–349, 356.
- [21] 房斐, 陈雪峰, 刘宁, 等. 羧甲基化苹果渣多糖的制备及其表征 [J]. 食品科技, 2019, 44(9): 289–294, 302.
- [22] 曹莉莉, 李亮, 王芳, 等. 羧甲基化修饰余甘多糖及生物活性研究 [J]. 中国食品学报, 2017, 17(10): 57–63.
- [23] WANG Y, HOU G, LI J, et al. Structure characterization, modification through carboxymethylation and sulfation, and in vitro antioxidant and hypoglycemic activities of a polysaccharide from *Lachnum* sp. [J]. Process Biochem, 2018, 72: 177–187.
- [24] 李霞, 胡楠, 赵启迪, 等. 肠浒苔多糖的羧甲基化修饰及其抗氧化活性研究 [J]. 广西植物, 2019, 39(11): 1519–1526.
- [25] 周丽明, 张勇, 林国卫, 等. 葛根多糖提取条件的优化及其抗氧化活性的研究 [J]. 湖北农业科学, 2012, 51(19): 4344–4347.
- [26] 王惟帅, 杨世琦. 羧甲基纤维素钠制备及改性研究 [J]. 合成纤维, 2018, 47(10): 24–30.
- [27] XU J, LIU W, YAO W B, et al. Carboxymethylation of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* enhances its antioxidant activities in vitro [J]. Carbohydr Polym, 2009, 78(2): 227–234.
- [28] WANG X M, ZHANG Z S, ZHAO M X. Carboxymethylation of polysaccharides from *Tremella fuciformis* for antioxidant and moisture-preserving activities [J]. Int J Biol Macromol, 2015, 72: 526–530.
- [9] 蛋白酶解物功能性和苦味的影响 [J]. 农业机械学报, 2018, 49 (8): 368–374.
- [14] ZHANG Y W, ZHANG H, WANG L, et al. Influence of the degree of hydrolysis (DH) on antioxidant properties and radical-scavenging activities of peanut peptides prepared from fermented peanut meal [J]. Eur Food Res Technol, 2011, 232: 941–950.
- [15] 罗艳华, 王全杰, 陈沛海, 等. 蛋白水解物水解度测定方法的研究 [J]. 皮革与化工, 2017, 34 (2): 26–31.
- [16] SAEHUN M, MALSHICK S, YONG - RO K. Emulsifying properties of proteins isolated from various rice cultivars [J]. Food Bioprocess Technol, 2016, 9: 813–821.
- [17] 赵城彬, 张浩, 鄢健楠, 等. 葡聚糖分子量对玉米醇溶蛋白接枝物结构和乳化性的影响 [J]. 农业工程学报, 2018, 34 (14): 288–295.
- [18] AO X L, YU X, WU D T, et al. Purification and characterization of neutral protease from *Aspergillus oryzae* Y1 isolated from naturally fermented broad beans [J]. AMB Express, 2018, 8: 96 [2019–04–06]. <https://doi.org/10.1186/S13568-018-0611-6>.
- [19] GUPTA R, BEG Q, LORENZ P. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2002, 59: 15–32.
- [20] LI C H, XU D F, ZHAO M M, et al. Production optimization, purification, and characterization of a novel acid protease from a fusant by *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger* [J]. Eur Food Res Technol, 2014, 238: 905–917.
- [21] MAURER H R. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use [J]. Cell Mol Life Sci, 2001, 58: 1234–1245.
- [22] 高进. 木瓜蛋白酶加工过程中的性质及结构研究 [D]. 天津: 天津科技大学, 2018.
-