

# 麦芽协同蛋白酶酶解豌豆蛋白产物的 功能特性及抗氧化活性

李俊众<sup>1,2</sup>, 刘晓兰<sup>1,2,3</sup>, 郑喜群<sup>1,2,3</sup>, 王雪源<sup>4</sup>

(1. 齐齐哈尔大学 食品与生物工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省玉米深加工理论与技术重点实验室, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 3. 黑龙江八一农垦大学 食品学院, 黑龙江 大庆 163319; 4. 山东健源生物工程股份有限公司, 山东 烟台 265400)

**摘要:**采用麦芽粉分别与风味蛋白酶、中性蛋白酶和木瓜蛋白酶协同酶解豌豆蛋白, 得到3种酶解物(MFH、MNH和MPH), 研究酶解物的功能特性及抗氧化活性。结果表明:与豌豆蛋白相比, 酶解物的溶解性、持油性和体外消化性较高; 酶解后豌豆蛋白的抗氧化活性显著提高( $P < 0.05$ ), MFH、MNH和MPH的DPPH·清除能力 $IC_{50}$ 值分别为5.64、7.22、8.95 mg/mL(以蛋白质质量浓度计), ·OH清除能力 $IC_{50}$ 值分别为1.45、2.19、2.04 mg/mL(以蛋白质质量浓度计); 与仅用蛋白酶酶解得到的酶解物相比, MNH的苦味减轻。

**关键词:**豌豆蛋白; 麦芽; 蛋白酶; 酶解; 功能特性; 抗氧化活性

中图分类号: TS201.2; Q51 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2020)12-0022-06

## Functional properties and antioxidant activity of hydrolysate from pea protein by malt and proteases

LI Junzhong<sup>1,2</sup>, LIU Xiaolan<sup>1,2,3</sup>, ZHENG Xiqun<sup>1,2,3</sup>, WANG Xueyuan<sup>4</sup>

(1. College of Food and Biological Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China; 2. Key Laboratory of Corn Deep Processing Theory and Technology, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China; 3. College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, Heilongjiang, China; 4. Shandong Jianyuan Foods Co., Ltd., Yantai 265400, Shandong, China)

**Abstract:** Three hydrolysates (MFH, MNH and MPH) were prepared from the enzymolysis of pea protein by malt powder respectively cooperating with flavourzyme, neutral protease and papain to study their functional properties and antioxidant activities. The results showed that compared with pea protein, the solubility, oil holding capacity and in vitro digestibility of hydrolysates were better. The antioxidant activities of pea protein after enzymolysis significantly increased ( $P < 0.05$ ). The DPPH· scavenging capacity  $IC_{50}$  of MFH, MNH and MPH were 5.64, 7.22, 8.95 mg/mL (based on protein mass concentration), respectively, and the ·OH scavenging capacity  $IC_{50}$  of MFH, MNH and MPH were 1.45, 2.19, 2.04 mg/mL (based on protein mass concentration), respectively. Compared with protease hydrolysate, the bitterness of MNH was reduced.

**Key words:** pea protein; malt; protease; enzymolysis; functional property; antioxidant activity

收稿日期: 2020-02-10; 修回日期: 2020-04-07

基金项目: 国家重点研发计划“十三五”子课题(2017YFD0400200); 黑龙江省教育厅科研创新团队项目(135309113)

作者简介: 李俊众(1994), 男, 在读硕士, 研究方向为农产品加工及贮藏工程(E-mail) lijunzhong1994@163.com。

通信作者: 郑喜群, 教授(E-mail) Zhengxiqun@126.com。

豌豆蛋白是一种优质的植物蛋白, 具有营养价值高和致敏性低等特点<sup>[1]</sup>。但豌豆蛋白含有植酸、单宁和多酚化合物等抗营养因子<sup>[2]</sup>, 导致动物消化利用率低, 造成蛋白资源浪费, 限制了其在食品行业的应用。

目前, 有采用商业蛋白酶改善豌豆蛋白的加工

特性、消化性和生物活性的报道<sup>[3-6]</sup>。李慧等<sup>[7]</sup>以 DPPH· 和 ·OH 清除能力为指标,优化中性蛋白酶酶解豌豆蛋白酶解条件,提高了酶解物的抗氧化活性。潘芬等<sup>[8]</sup>研究发现豌豆蛋白经碱性蛋白酶酶解后,其酶解物具有促进益生菌生长的作用。Klost 等<sup>[9]</sup>用胰蛋白酶酶解豌豆蛋白,发现可提高豌豆蛋白的溶解性和乳化稳定性。Barac 等<sup>[10]</sup>采用木瓜蛋白酶酶解豌豆蛋白,改善了豌豆蛋白的溶解性、乳化性及乳化稳定性。

蛋白质经蛋白酶酶解后,疏水性基团暴露,酶解物呈现苦味,影响其在食品行业的应用。且商业蛋白酶价格较高,导致酶解物生产成本增加。因此,在保持酶解物生物活性的前提下,如何降低酶解物的苦味和减少生产过程中蛋白酶的添加量,是目前亟需解决的问题。

大麦是生产啤酒的主要原料,含有丰富的酶系,如蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶等,且大麦发芽后氨肽酶和羧肽酶的酶活力增长 1.5~2.5 倍<sup>[11]</sup>。氨肽酶<sup>[12]</sup>和羧肽酶<sup>[13]</sup>等外切蛋白酶具有降低酶解物苦味的作用。考虑到控制酶解物的苦味值和生产成本,本文以豌豆蛋白为原料,以低的商业蛋白酶添加量为原则,用麦芽协同蛋白酶酶解豌豆蛋白,制备酶解物,研究酶解物的功能特性及抗氧化活性,为豌豆蛋白酶解物在食品行业的应用提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

豌豆蛋白(蛋白质含量 75.28%),山东健源生物工程股份有限公司;麦芽,中粮麦芽(大连)有限公司;风味蛋白酶( $3 \times 10^4$  U/g)、中性蛋白酶( $20 \times 10^4$  U/g)、木瓜蛋白酶( $60 \times 10^4$  U/g),食品级,南宁东恒华道生物科技有限公司。

DPPH·、菲啰啉,分析纯,生物工程(上海)股份有限公司;精炼一级大豆油,市售;其他试剂均为分析纯。

PB-10 pH 计,梅特勒-托利多(上海)仪器设备有限公司;ZNCL-GS 智能磁力搅拌器;TU-1810 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 豌豆蛋白酶解工艺

根据本课题组前期实验,将含 10% 蛋白质的豌豆蛋白溶液调节 pH 至 5.5,加入 30% (麦芽粉固形物占蛋白质的比例)过 80 目的麦芽粉作为蛋白酶,于 50℃ 酶解 3 h,再分别加入风味蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶进行二次酶解,具体酶解条件见表

1。酶解一定时间后,沸水浴灭酶 10 min,冷却至室温,4 000 r/min 离心 15 min,上清液冻干,得到 3 种酶解物 MFH、MNH、MPH,备用。

表 1 蛋白酶酶解条件

酶解参数	风味蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶
加酶量/%	1.25	1.00	1.25
pH	7.50	8.00	8.00
温度/℃	47.00	53.00	50.00
时间/h	3.00	3.00	2.00

#### 1.2.2 水解度的测定

采用 pH-stat 法<sup>[14]</sup>测定水解度。

#### 1.2.3 酶解物功能特性的测定

参照文献[15]的方法测定酶解物的溶解性,参照文献[16]的方法测定酶解物的持水性和持油性,参照文献[17]的方法测定酶解物的起泡性和泡沫稳定性,参照文献[18]的方法测定酶解物的乳化性和乳化稳定性。

#### 1.2.4 酶解物体外消化性的测定

参照文献[19-20]的方法,采用一步消化法和两步消化法评价酶解物的体外消化性。

#### 1.2.5 酶解物抗氧化活性的测定

参照文献[21]的方法测定酶解物的 DPPH· 清除能力,参照文献[22]的方法测定酶解物的 ·OH 清除能力。

#### 1.2.6 酶解物苦味评价

参照文献[23]的方法测定酶解物的苦味。

#### 1.2.7 数据统计

每个实验重复 3 次,计算平均值和标准差,结果表示为“平均值 ± 标准差”;数据统计分析采用 SPSS 19 软件,显著性分析采用 Duncan 检验, $P < 0.05$  差异显著;采用 GraphPad Prime 8.0.1 和 Excel 软件进行图谱绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 麦芽协同蛋白酶酶解豌豆蛋白产物的溶解性

溶解性是蛋白质的重要功能特性之一,也是蛋白质起泡性、乳化性和泡沫稳定性等功能特性的基础<sup>[24]</sup>。良好的溶解性可使蛋白质快速且大量分散到溶液中,有利于蛋白质向气-液和水-油界面扩散,提高其表面活性<sup>[24]</sup>。豌豆蛋白经麦芽分别协同风味蛋白酶、中性蛋白酶和木瓜蛋白酶酶解后,3 种酶解物 MFH、MNH 和 MPH 在不同 pH 条件下的溶解性如图 1 所示。

由图 1 可知,3 种酶解物在 pH 2~9 范围内的溶解性均高于豌豆蛋白。这与郭兴凤等<sup>[25]</sup>采用碱性蛋白酶酶解豌豆蛋白的研究结果一致。由于蛋白

质酶解后形成小分子肽,而小分子肽含有较多的极性基团,可与水形成氢键,提高豌豆蛋白的溶解性。在 pH 4 时, MFH、MNH 和 MPH 的溶解性分别为 73.91%、93.48% 和 88.04%,由于双酶分步酶解的酶解效率更高,产生的可溶性蛋白含量高,进而增加了豌豆蛋白的溶解性,所以 3 种酶解物的溶解性均高于郭兴凤等<sup>[25]</sup>的研究结果。可将 3 种酶解物作为辅料添加到酸性食品中,如酸奶、发酵香肠和酸性饮料等,提高食品的营养价值,进而拓展豌豆蛋白的应用范围。

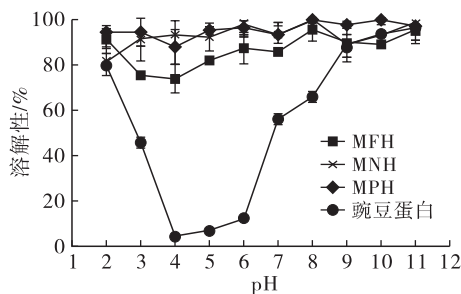
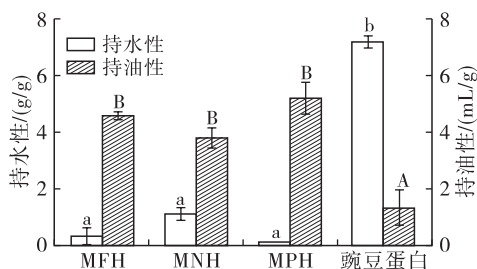


图 1 3 种酶解物在不同 pH 条件下的溶解性

## 2.2 MFH、MNH 和 MPH 的持水性和持油性

3 种酶解物的持水性和持油性如图 2 所示。



注:不同字母(小写字母表示持水性,大写字母表示持油性)表示具有显著性差异,  $P < 0.05$ 。

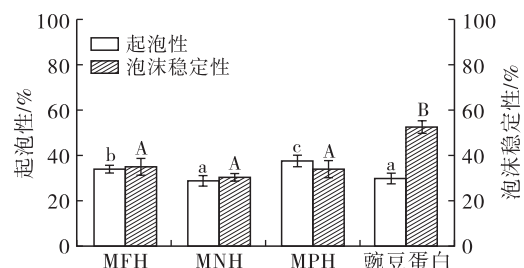
图 2 3 种酶解物的持水性和持油性

由图 2 可知, MFH、MNH、MPH 和豌豆蛋白的持水性分别为 0.37、1.15、0.13、7.25 g/g,持油性分别为 4.63、3.85、5.26、1.36 mL/g。与豌豆蛋白相比, 3 种酶解物的持水性显著降低 ( $P < 0.05$ ),持油性显著升高 ( $P < 0.05$ )。这与王利国等<sup>[26]</sup>采用碱性蛋白酶酶解大豆分离蛋白的研究结果一致。一方面,由于蛋白质酶解后蛋白质分子的空间结构被破坏,暴露出更多的亲脂基团,通过疏水作用增强蛋白质与油脂的结合能力;另一方面,可能是蛋白质酶解后粒径变小,对油脂的物理截留作用减弱,表现为酶解物的持水性较差,持油性较强。

## 2.3 MFH、MNH 和 MPH 的起泡性和泡沫稳定性

3 种酶解物的起泡性和泡沫稳定性如图 3 所示。由图 3 可知, MFH、MNH、MPH 和豌豆蛋白的起泡性分别为 34.09%、28.90%、37.79% 和 29.76%,

泡沫稳定性分别为 34.98%、30.35%、34.32% 和 53.02%。与豌豆蛋白相比, MFH 和 MPH 的起泡性显著升高 ( $P < 0.05$ ), MNH 的起泡性无显著差异, 3 种酶解物的泡沫稳定性均显著降低 ( $P < 0.05$ )。由于 MNH 的水解度 (10.93%) 大于 MFH (5.05%) 和 MPH 的 (2.81%), 导致 MNH 的起泡性和泡沫稳定性最低。因为起泡性受溶液表面张力的影响,当蛋白质适度酶解后,酶解物中的小分子肽能够降低溶液黏度与表面张力,使 MFH 和 MPH 的起泡性优于豌豆蛋白;当水解度过高时,酶解物中短肽含量较高,使溶液的黏度和表面张力过低,不利于泡沫的形成以及维持泡沫的稳定性,所以 MNH 的起泡性和泡沫稳定性最低。因此,可根据实际需求将蛋白质进行适度酶解,获得具有良好起泡性质的蛋白酶解物,将其添加到泡沫型食品中,增添食品的风味,减少化学起泡剂的使用。

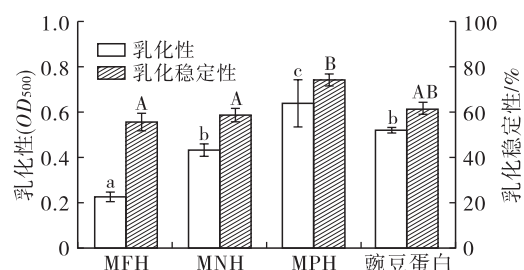


注:不同字母(小写字母表示起泡性,大写字母表示泡沫稳定性)表示具有显著性差异,  $P < 0.05$ 。

图 3 3 种酶解物的起泡性和泡沫稳定性

## 2.4 MFH、MNH 和 MPH 的乳化性和乳化稳定性

3 种酶解物的乳化性和乳化稳定性如图 4 所示。



注:不同字母(小写字母表示乳化性,大写字母表示乳化稳定性)表示具有显著性差异,  $P < 0.05$ 。

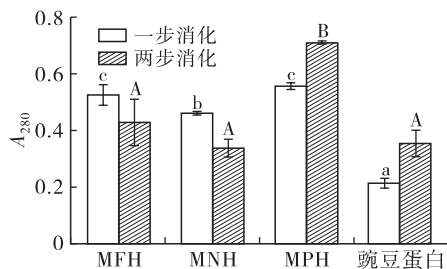
图 4 3 种酶解物的乳化性和乳化稳定性

由图 4 可知, MFH、MNH、MPH 和豌豆蛋白的乳化性 ( $OD_{500}$ ) 分别为 0.23、0.44、0.64 和 0.52,乳化稳定性分别为 56.03%、58.90%、74.82% 和 61.84%。MPH 的乳化性和乳化稳定性高于豌豆蛋白,由于酶解物中疏水性残基暴露较多,蛋白质与油的结合能力增强,促进肽在水-油界面迁移形成内聚膜<sup>[27]</sup>,表现为 MPH 的乳化性和乳化稳定性最好。

而 MNH 和 MFH 的乳化性及乳化稳定性低于 MPH, 因为 MNH 和 MFH 的水解度高于 MPH 的水解度, MFH 和 MNH 中小分子肽含量高于 MPH, 溶液黏度和界面张力降低, 使得 MFH 和 MNH 的乳化性和乳化稳定性较差。

## 2.5 MFH、MNH 和 MPH 的体外消化性

3 种酶解物的体外消化性如图 5 所示。



注:不同字母(小写字母表示一步消化,大写字母表示两步消化)表示具有显著性差异,  $P < 0.05$ 。

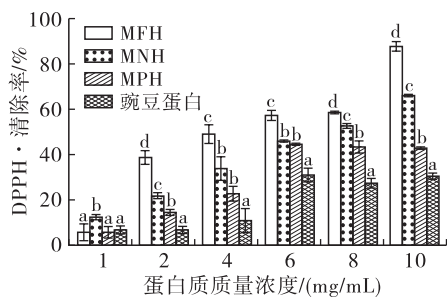
图 5 3 种酶解物的体外消化性

由图 5 可知,与豌豆蛋白相比,经一步消化 3 种酶解物的体外消化性显著提高 ( $P < 0.05$ )。经两步消化,3 种酶解物体外消化性整体提高,其中 MPH 提高显著。酶解后的蛋白质相对分子质量变小,形成许多肽段,使酶解物溶解性增强,体外消化性提高。另外,酶解物经酶解消化后结构被破坏,使更多消化酶的酶切位点暴露,提高了消化酶的效率。因此,经蛋白酶酶解可增强豌豆蛋白消化性,利于人体吸收。

## 2.6 MFH、MNH 和 MPH 的抗氧化活性

### 2.6.1 MFH、MNH 和 MPH 的 DPPH·清除能力

3 种酶解物的 DPPH·清除能力如图 6 所示。



注:不同字母表示具有显著性差异,  $P < 0.05$ 。下同。

图 6 3 种酶解物的 DPPH·清除能力

由图 6 可知,蛋白质质量浓度在 2 ~ 10 mg/mL 范围内,酶解物的 DPPH·清除能力均显著高于豌豆蛋白 ( $P < 0.05$ ),且酶解物的质量浓度与 DPPH·清除能力呈正相关。大分子蛋白由于空间位阻的影响不易接近自由基,当豌豆蛋白经酶解后释放出具有供电子性质的肽段或氨基酸,这些小分子化合物更易接近自由基并与其结合生成稳定的化合物。而

随质量浓度的增加,具有抗氧化活性的小分子肽数量增多,与 DPPH·单电子配对机会增加,所以酶解物的 DPPH·清除能力逐渐增强。相同蛋白质质量浓度时(2 ~ 10 mg/mL),MFH 的 DPPH·清除能力最强。分析原因,可能与蛋白酶的酶切位点不同,产生的肽段大小和氨基酸组成不同有关,经风味蛋白酶酶解,所得 MFH 中的疏水性氨基酸含量较高,能够更好地与脂溶性的 DPPH·结合,增强其对 DPPH·的清除能力。通过 SPSS 19 软件的计算,MFH、MNH 和 MPH 的 DPPH·清除能力  $IC_{50}$  值分别为 5.64、7.22、8.95 mg/mL(以蛋白质质量浓度计)。

### 2.6.2 MFH、MNH 和 MPH 的·OH清除能力

3 种酶解物的·OH清除能力如图 7 所示。

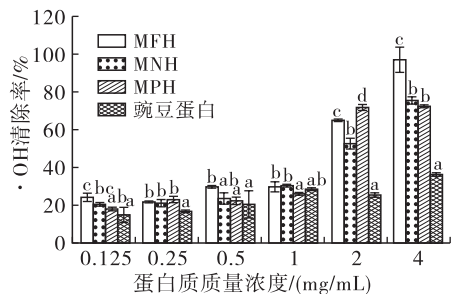


图 7 3 种酶解物的·OH清除能力

由图 7 可知,在 0.125 ~ 4 mg/mL 范围内,酶解物的蛋白质质量浓度与·OH清除能力呈量效关系。这与郑志强等<sup>[28]</sup>采用碱性蛋白酶等蛋白酶酶解小麦蛋白的研究结果一致。随着质量浓度的增加,酶解物中提供质子的供体增多,将溶液中更多的·OH从高度氧化态还原成更稳定的羟基化衍生物,更有利于抑制自由基的链式反应。通过 SPSS 19 软件的计算,MFH、MNH 和 MPH 的·OH清除能力  $IC_{50}$  值分别为 1.45、2.19、2.04 mg/mL(以蛋白质质量浓度计),MFH 的·OH清除能力最强。中性蛋白酶和木瓜蛋白酶都是内切酶,可从肽链内部酶解肽键产生活性肽段,而风味蛋白酶是内切酶和外切酶的复合物,能从肽链内部酶解肽键,也能从肽链的末端切下一个氨基酸,使 MFH 中含有活性肽段和更多的游离氨基酸。这些游离氨基酸与肽链相比,能够更快地与·OH结合,抑制自由基链式反应<sup>[29]</sup>。因此,从提高豌豆蛋白·OH清除能力的角度分析,将风味蛋白酶用作二次酶解酶是制备高抗氧化活性豌豆蛋白酶解物的最佳用酶。

### 2.7 MFH、MNH 和 MPH 的苦味评价

由于蛋白质经蛋白酶酶解后疏水性基团的暴露,酶解物呈现苦味,限制了生物活性肽的应用范围<sup>[30]</sup>。通常通过测定酶解物的苦味对酶解物进行

评价。酶解物的苦味评价如表 2 所示。

由表 2 可知,相同质量浓度下,豌豆蛋白的苦味最低,麦芽协同中性蛋白酶酶解物的苦味略低于仅采用中性蛋白酶酶解豌豆蛋白产物的苦味。在完整蛋白质中,大部分疏水性氨基酸侧链包裹在蛋白质内部,不与味蕾接触,感觉不到苦味<sup>[23]</sup>。当蛋白质酶解后,蛋白质中的疏水性氨基酸暴露,使酶解物产

生苦味。并且疏水性氨基酸处于肽链末端时,苦味比处于中间时强。而先加入麦芽酶解豌豆蛋白,能将在末端的色氨酸、苯丙氨酸和丙氨酸等疏水性氨基酸酶解下来,减少疏水性氨基酸在多肽链末端的可能,从而降低酶解物的苦味。麦芽协同风味蛋白酶脱除苦味效果较差,麦芽协同木瓜蛋白酶脱除苦味效果不明显,具体原因还需要进一步研究。

表 2 酶解物的苦味评价

样品	强	较强	中	弱	无
豌豆蛋白					+++++
MFH			+	++++	
MNH				++++	++
MPH			++	++++	
风味蛋白酶酶解物				++++	+
中性蛋白酶酶解物			++++	+	
木瓜蛋白酶酶解物			++	++++	

注:评价人员为四女二男,样品中蛋白质质量浓度为 40 mg/mL,一个“+”表示一票。

### 3 结论

将麦芽分别与 3 种蛋白酶(风味蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶)协同酶解豌豆蛋白,并对 3 种酶解物的功能特性和抗氧化活性进行测定。结果表明:采用麦芽协同低加酶量( $\leq 1.25\%$ )的蛋白酶酶解豌豆蛋白后,豌豆蛋白的溶解性、持油性和体外消化性提高;酶解物抗氧化能力均高于豌豆蛋白,且麦芽协同中性蛋白酶酶解物的苦味较低。说明与豌豆蛋白相比,酶解后的豌豆蛋白在功能特性上有所改善,并且在一定程度上能够清除自由基,提高豌豆蛋白的抗氧化活性。

### 参考文献:

- [1] JIANG S, DING J, ANDRATE J, et al. Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH - shifting and ultrasound combined treatments [J]. *Ultrason Sonochem*, 2017, 38: 835 - 842.
- [2] KAISER A C, BARBER N, MANTHEY F, et al. Physicochemical properties of hammer - milled yellow split pea (*Pisum sativum* L.) [J]. *Cereal Chem*, 2019, 96(2): 313 - 323.
- [3] 李静红. 响应面法优化酪蛋白酸钠 - 豌豆分离蛋白纳米乳液制备工艺 [J]. *中国食物与营养*, 2018, 24(6): 35 - 40.
- [4] STEFFI R, DIANA L, SUSANNE K, et al. Identification and quantification of ACE - inhibiting peptides in enzymatic hydrolysates of plant proteins [J]. *Food Chem*, 2017, 224(1): 19 - 25.
- [5] ROTIMI E, GIRGIH A T, RONG H, et al. Structural and functional characterization of yellow field pea seed (*Pisum sativum* L.) protein - derived antihypertensive peptides [J]. *Food Res Int*, 2015, 77(11): 10 - 16.
- [6] 张敏佳,刘文颖,贾福怀,等. 豌豆肽对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2018, 44(8): 135 - 140.
- [7] 李慧,王琪,周泉城. 响应曲面法优化豌豆蛋白酶解条件 [J]. *食品工业*, 2018, 39(9): 85 - 89.
- [8] 潘芬,杨敏,刘梦阳,等. 豌豆蛋白酶解产物促进益生菌生长活性研究 [J]. *中国食品学报*, 2019, 19(2): 27 - 36.
- [9] KLOST M, DRUSCH S. Functionalisation of pea protein by tryptic hydrolysis - characterisation of interfacial and functional properties [J]. *Food Hydrocoll*, 2019, 86(1): 134 - 140.
- [10] BARAC M, CABRILO S, STANOJEVIC S, et al. Functional properties of protein hydrolysates from pea (*Pisum sativum* L.) seeds [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2012, 47(7): 1457 - 1467.
- [11] 管敦仪. 啤酒工业手册 [M]. 北京:中国轻工业出版社, 2009.
- [12] WANG K D, TIAN Y P, ZHOU N D, et al. Studies on fermentation optimization, stability and application of prolyl aminopeptidase from *Bacillus subtilis* [J]. *Process Biochem*, 2018, 74(11): 10 - 20.
- [13] OKAI M, YAMAMURA A, HAYAKAWA K, et al. Insight into the transition between the open and closed conformations of *Thermus thermophilus* carboxypeptidase [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 484(4): 787 - 793.
- [14] 徐英操,刘春红. 蛋白质水解度测定方法综述 [J]. *食品研究与开发*, 2007, 28(7): 173 - 176.
- [15] 陈珂珂,任健. 热处理对葵花分离蛋白功能性质的影

- 响[J]. 食品工业, 2015, 36(7): 183-185.
- [16] SAETAE D, KLEEKAYAI T, JAYASENA V, et al. Functional properties of protein isolate obtained from physic nut (*Jatropha curcas* L.) seed cake[J]. Food Sci Biotechnol, 2011, 20(1): 29-37.
- [17] MOTOI H, FUKUDOME S, URABE I. Continuous production of wheat gluten peptide with foaming properties using immobilized enzymes[J]. Eur Food Res Technol, 2004, 219(5): 522-528.
- [18] PEARCE K N, KINSELLA J E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique[J]. J Agric Food Chem, 1978, 26(3): 716-723.
- [19] MARCINIAK D K, KOSTYRA H. Influence of nonenzymatic glycosylation (glycation) of pea proteins (*Pisum sativum*) on their susceptibility to enzymatic hydrolysis[J]. J Food Biochem, 2009, 33(4): 506-521.
- [20] TANG C H, SUN X, YIN S W, et al. Transglutaminase - induced cross - linking of vicilin - rich kidney protein isolate; influence on the functional properties and in vitro digestibility[J]. Food Res Int, 2008, 41(10): 941-947.
- [21] 杨双, 郑喜群, 刘晓兰, 等. 酶解时间对玉米蛋白粉酶解物抗氧化活性的影响[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 154-158.
- [22] 王晓杰, 郑喜群, 刘晓兰, 等. 双酶复合酶解对玉米肽抗氧化活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2010(8): 102-105.
- [23] 魏亚娟. 细菌氨肽酶的产酶条件优化及应用研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2008.
- [24] 管斌, 林洪, 王广策. 食品蛋白质化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [25] 郭兴凤, 崔会娟, 胡婷婷, 等. Alcalase 改性豌豆蛋白功能性研究[J]. 粮食与油脂, 2014, 27(2): 42-44.
- [26] 王利国, 刘锐, 张民, 等. 大豆分离蛋白酶解产物的理化性质研究[J]. 中国食品添加剂, 2018(3): 73-79.
- [27] ZHANG M D, PANG Y, XU Z J. Effect of the extent of enzymatic hydrolysis on foaming and emulsifying properties of corn germ protein hydrolysates[J]. Adv Mater Res, 2011, 183-185: 561-564.
- [28] 郑志强, 李宝林, 郝利民, 等. 不同蛋白酶对小麦蛋白酶解物抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(7): 161-166.
- [29] HUMISKI L M, ALUKO R E. Physicochemical and bitterness properties of enzymatic pea protein hydrolysates[J]. J Food Sci, 2007, 72(8): S605-S611.
- [30] 郭兴峰, 魏芳, 周祥山, 等. 苦味肽的形成机理及脱苦技术研究进展[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(21): 207-211.

(上接第 21 页)

- [3] 张怡评, 易瑞灶, 陈晖, 等. 离子色谱法测定鱼鳞胶原蛋白中羟脯氨酸含量方法的研究[J]. 中国海洋药物, 2011, 30(4): 45-48.
- [4] 陈哲, 路娟, 彭纪铭, 等. 柱前衍生 RP-HPLC 法同时测定珙菲亚中 14 种水解氨基酸[J]. 药学实践杂志, 2017, 35(2): 130-133.
- [5] 陈成, 张浩. HPLC 法测定十全大补膏滋剂中氨基酸成分的含量[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(7): 17-19.
- [6] 孙延君, 李瑞海. 不同产地侧柏叶药材及炮制前后氨基酸成分比较分析[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(8): 52-55.
- [7] 山广志, 左利民, 余立, 等. 柱前衍生 HPLC 法测定脾氨肽口服液中 17 种游离氨基酸[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(11): 1255-1258, 1268.
- [8] 金明, 牛宏亮, 袁辉, 等. 高效液相色谱柱后衍生法测定鸡肉中的 18 种氨基酸[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(1): 212-215.
- [9] 芮鸿飞, 张晓瑜, 刘兴泉, 等. PIBC 柱前衍生 - 反相高效液相色谱法测定黄酒中游离氨基酸和生物胺[J]. 食品科学, 2016, 37(8): 159-163.
- [10] 朱晓伟, 高新星, 安芳, 等. 柱前衍生化 HPLC - 荧光检测法测定高血压患者尿液中 22 种游离氨基酸的浓度[J]. 中国药房, 2010, 21(30): 2823-2825.
- [11] 付迪, 沈艳红, 宛燕飞, 等. OPA - FMOC 在线柱前衍生化 HPLC 法测定甘露聚糖肽中氨基酸组成及含量[J]. 分析实验室, 2016, 35(3): 353-356.
- [12] 吕汶骏, 赵钟兴, 廖丹葵, 等. 蚕蛹蛋白及其水解产物中氨基酸组成分析[J]. 食品科学, 2012, 33(12): 228-232.
- [13] 黄莉, 吴小曼, 纪宇, 等. 柱前衍生高效液相色谱法测定胎盘多肽注射液中的氨基酸[J]. 中国生化药物杂志, 2012, 33(4): 373-376, 380.