

TGase 介导玉米醇溶蛋白改善大豆分离蛋白膜性能的研究

曹芷郡^{1,2,3}, 陈佳鹏¹, 任健^{1,2,3}, 宋春丽^{1,2,3}, 刘军³

(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. 黑龙江省玉米主食工业化工程技术研究中心, 黑龙江齐齐哈尔 161006; 3. 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)

摘要:为改善大豆分离蛋白膜的性能, 利用碱性蛋白酶制备玉米醇溶蛋白酶解产物(ZH), 通过转谷氨酰胺酶(TGase)催化大豆分离蛋白(SPI)与ZH发生交联反应, 对反应条件进行了优化; 通过控制反应时间得到4种修饰产物(分别为0 h-SPI/ZH、0.5 h-SPI/ZH、1 h-SPI/ZH、1.5 h-SPI/ZH), 并对修饰产物制备的膜性能进行研究。结果表明:最佳的TGase催化SPI与ZH交联反应条件为SPI与ZH质量比3.5:1、底物质量浓度40 mg/mL、pH 7.5、酶添加量10 U/g(以蛋白质质量计)、反应温度45℃、反应时间1.5 h; 随着反应时间的延长, 4种修饰产物制备的复合膜抗拉强度和透明度增加, 含水量、断裂伸长率和水蒸气透过率降低; 与SPI膜相比, 1.5 h-SPI/ZH制备的复合膜的抗拉强度增加了5.5%, 含水量与水蒸气透过率分别下降了25.6%和32.2%, 透明度增加了114.2%。综上, 采用TGase催化SPI与ZH发生交联, 所制的复合膜综合品质较好, 为SPI复合膜的开发提供了技术支持。

关键词:大豆分离蛋白; 玉米醇溶蛋白; 转谷氨酰胺酶; 膜; 交联

中图分类号: Q518.4; TS206.4 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2023)07-0079-06

TGase-induced zein to improve properties of soy protein isolates film

CAO Zhijun^{1,2,3}, CHEN Jiapeng¹, REN Jian^{1,2,3}, SONG Chunli^{1,2,3}, LIU Jun³

(1. College of Food and Bioengineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China;

2. Heilongjiang Engineering Research Center of Corn Staple Food Industrialization, Qiqihar

161006, Heilongjiang, China; 3. Heilongjiang Key Laboratory of Corn Deep Processing

Theory and Technology, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China)

Abstract: In order to improve the properties of soybean protein isolates film, the enzymatic hydrolysates of zein (ZH) was prepared by alkaline protease. The cross-linking reaction between soybean protein isolates (SPI) and ZH was catalyzed by transglutaminase (TGase), and the reaction conditions were optimized. Four modified products (0 h-SPI/ZH, 0.5 h-SPI/ZH, 1 h-SPI/ZH, and 1.5 h-SPI/ZH) were obtained by controlling the reaction time, and the properties of the film produced by the modified products were investigated. The results showed that the optimal reaction conditions were as follows: mass ratio of SPI to ZH 3.5:1, substrate mass concentration 40 mg/mL, pH 7.5, TGase

addition 10 U/g (based on the mass of protein), reaction time 1.5 h and reaction temperature 45℃. With the prolonging of reaction time, the tensile strength and opacity of the composite film prepared by the four modified products increased, while the water content, elongation at break and water vapor transmission rate decreased. Compared with SPI film, the tensile strength of the composite film prepared by 1.5 h-SPI/ZH

收稿日期: 2022-03-28; 修回日期: 2023-04-06

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项(2021ZX12B09); 2020年度黑龙江省玉米主食工业化工程技术研究中心开放课题(SPKF202003); 黑龙江省属高等学校基本科研业务费科研项目(135309507)

作者简介: 曹芷郡(1997), 女, 在读硕士, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程(E-mail) 2814474771@qq.com。

通信作者: 宋春丽, 教授, 博士(E-mail) songchunli@qjhr.edu.cn。

increased by 5.5%, the water content and water vapor transmission rate decreased by 25.6% and 32.2%, respectively, and the opacity increased by 114.2%. In conclusion, the overall quality of the composite film prepared by TGase catalyzed cross-linking of ZH and SPI is good, providing technical support for the development of SPI composite film.

Key words: soy protein isolates; zein; transglutaminase; film; cross-linking

大豆分离蛋白(SPI)分子中存在大量的疏水键、二硫键、氢键,赋予了SPI良好的成膜性能^[1]。但是由于SPI的亲水性,导致其成膜后易吸水,阻水性能较差^[2],这限制了其在包装亲水性食品中的应用。常通过以下两方面改善SPI膜的性能:一是外源添加明胶改变SPI的亲疏水性^[3];二是对SPI进行改性修饰,天然高分子物质的大分子特性一定程度上有利于提升膜的特性^[4]。

转谷氨酰胺酶(TGase)能够催化蛋白质分子中的谷氨酰胺残基与赖氨酸残基发生分子内或分子间反应^[5],生成大分子物质。因此,理论上利用该酶将外源物导入SPI中,会改善蛋白质的成膜特性,然而利用TGase将不同种类蛋白交联制膜的研究暂无报道。

玉米醇溶蛋白是一种优良的成膜材料,而且其分子富含疏水性氨基酸(约占50%),能够赋予蛋白膜良好的阻水特性^[6]。因此,将玉米醇溶蛋白引入到SPI分子中,有望改变SPI的成膜性。由于玉米醇溶蛋白的水溶性极差^[7],因而利用蛋白酶解断裂玉米醇溶蛋白的肽键,以减小其在TGase反应中的空间位阻,同时暴露更多的反应位点。本研究通过TGase催化SPI和富含疏水基团的玉米醇溶蛋白酶解产物(ZH)发生交联反应,在形成致密网络结构的同时,将疏水性蛋白(玉米醇溶蛋白)导入SPI中,提高SPI膜的阻水性能,以期改善SPI的成膜性能。

1 材料与方法

1.1 实验材料

脱脂豆粕,哈尔滨市宾县禹王植物蛋白有限公司;玉米蛋白粉,中粮生化能源(龙江县)有限公司;TGase,江苏一鸣精细化工有限公司;碱性蛋白酶(≥ 20 万U/g),诺维信有限公司;亮氨酸标准品,天津市光复精细化工研究所;邻苯二甲醛,上海麦克林生化科技有限公司;低分子质量标准蛋白质(蓝色葡聚糖2000);抑肽酶、杆菌肽、氧化型谷胱甘肽、还原型谷胱甘肽,北京欣经科生物技术有限公司;其他试剂均为分析纯。

UV-5100型紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;TA.XT plus型质构仪,英国 Stable Micro

System 公司;Purifiers100型凝胶色谱仪,GE公司。

1.2 实验方法

1.2.1 SPI的制备

将脱脂豆粕与蒸馏水按料液比1:10低温溶胀过夜,调节pH为8.5,50℃水浴搅拌2h,随后离心收集上清液。调节pH为4.5,将悬浮液离心,所得沉淀用pH4.5的蒸馏水冲洗2次,离心,取沉淀,用2mol/L的NaOH调pH至7.5,冷冻干燥,获得SPI。

1.2.2 ZH的制备

采用Zheng等^[8]的方法制备玉米醇溶蛋白。取一定量的玉米蛋白粉,按料液比1:10加入PBS缓冲液(pH6.5),充分分散,加入 α -淀粉酶,70℃分散2h,随后90℃灭酶30min,冷却至室温,取沉淀水洗3次,烘干沉淀,研磨至粉末状并称质量。然后按液料比1:10加入丙酮提取30min,去除色素,离心,收集沉淀物,用70%乙醇(液料比10:1)在60℃下提取2h,离心收集上清液。将上清液蒸发浓缩至有微小颗粒析出,将浓缩液转移至小盒内,真空冷冻干燥,得到玉米醇溶蛋白。

将玉米醇溶蛋白以料液比1:10分散在pH8.5的水中,升温至60℃,按照0.1g/100g(以蛋白质质量计)的比例加入碱性蛋白酶,反应过程中用0.12mol/L的NaOH溶液维持体系pH8.5恒定(反应过程维持60℃恒温)。根据pH-stat法^[9]测定水解度,当水解度达到12.0%时,85℃处理5min灭酶终止反应,冷却至室温,冻干,获得ZH。

1.2.3 SPI与ZH修饰产物的制备

将SPI与ZH以质量比3.5:1混合均匀,加入一定量的水配成一定质量浓度的分散液,加入一定量TGase,调节体系pH,一定温度下反应一定时间后,将样品置于85℃水浴锅中灭酶5min,冷却至室温,冷却干燥后备用。

1.2.4 SPI与ZH复合膜的制备

使用溶液浇铸法制备复合膜^[10]。制备30mg/mL的蛋白分散液,取30mL分散液加热至80℃,添加0.25mL甘油与0.75g卡拉胶,充分溶解后,缓慢滴加NaOH溶液,调节溶液的pH至9.0。静置消泡后,将溶液倒入有机玻璃板,均匀流延,置

于70℃的干燥箱中干燥揭膜。最后将其置于25℃的环境下吸潮24h,即得复合膜。

1.2.5 玉米醇溶蛋白酶解液分子质量分布测定

参照王晓杰等^[11]的方法,利用凝胶色谱法测定玉米醇溶蛋白酶解液分子质量分布。

测试条件:Superdex Peptide 10/300 GL 色谱柱;上样量100 μL;流速0.25 mL/min;检测波长214 nm。

1.2.6 ZH 溶解度的测定

用pH为7.5的PBS缓冲液溶解ZH,配制成质量浓度为2 g/L的溶液。涡旋使其充分溶解后,置于4℃冰箱溶胀,8 000 r/min离心20 min,收集上清液并通过Folin-酚法测定可溶性蛋白质的含量。溶解度以可溶性氮的占比表示。

1.2.7 SPI 与 ZH 修饰产物接枝度的测定

参照闫爽等^[12]的方法测定接枝度。

1.2.8 复合膜性能测试

1.2.8.1 含水量的测定

通过称量法测定样品含水量。将膜剪成20 mm × 20 mm的形状,然后置于称量瓶中105℃下烘干至恒重,按式(1)计算含水量。

$$y = (m_1 - m_2) / m_1 \times 100\% \quad (1)$$

式中:y为含水量; m_1 为膜初始质量,g; m_2 为膜恒重后的质量,g。

1.2.8.2 机械性能的测定

使用质构仪测定膜的机械性能^[13]。将膜裁剪成10 mm × 60 mm的矩形长条,初始拉伸距离为20 mm,拉伸速度为200 mm/min,测得膜的抗拉强度和断裂伸长率。

1.2.8.3 水蒸气渗透性的测定

参照Crizel等^[14]的方法测定膜的水蒸气透过率。

1.2.8.4 不透明度的测定

将膜剪裁成大小合适的长条状,贴在比色皿一侧,测定其在600 nm波长处的吸光值,以空白比色皿为对照^[15]。

2 结果与讨论

2.1 ZH 的分子质量与溶解度

利用凝胶色谱法考察ZH的分子质量分布,能够直观地呈现ZH的可溶性物质分子质量组成。玉米醇溶蛋白酶解液分子质量分布见图1,各肽段占比见表1。

由图1、表1可知,玉米醇溶蛋白酶解液保留体积集中在10.04~19.12 mL,分子质量主要为125~6 473 Da,其中分子质量125~1 003 Da的肽段为主要组分,占57.76%,分子质量1 003~6 473 Da的肽段占37.39%。经测定,ZH溶解度为43.76%。综

上,较低的分子质量及较高的溶解度减小了蛋白质的空间位阻,从而极大地增加了玉米醇溶蛋白与其他反应底物结合位点接触的概率,有利于后续与SPI发生交联反应。

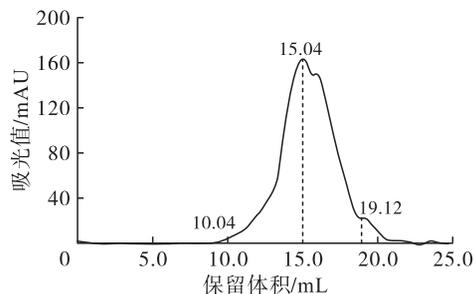


图1 玉米醇溶蛋白酶解液分子质量分布

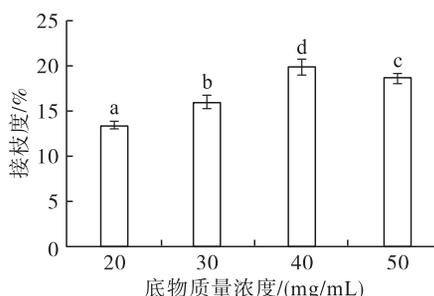
表1 玉米醇溶蛋白酶解液各肽段占比

分子质量/Da	占比/%
>6 473	0.21
[1 003 ~ 6 473]	37.39
[125 ~ 1 003)	57.76
<125	4.64

2.2 修饰产物制备条件的优化

2.2.1 底物质量浓度的优化

在pH 8.0、反应温度40℃、酶添加量5 U/g(以蛋白质质量计,下同)、反应时间1 h的条件下,考察底物质量浓度对接枝度的影响,结果见图2。



注:不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。下同

图2 底物质量浓度对修饰产物接枝度的影响

由图2可知:随着底物质量浓度从20 mg/mL增加到40 mg/mL,修饰产物的接枝度从13.4%增加到19.9%;但当底物质量浓度继续增加至50 mg/mL时,接枝度下降,这可能是由于反应体系黏度增加,分子碰撞概率变小^[16]。因此,选择最佳底物质量浓度为40 mg/mL。

2.2.2 反应时间的优化

在pH 8.0、反应温度40℃、酶添加量5 U/g、底物质量浓度40 mg/mL的条件下,考察反应时间对接枝度的影响,结果见图3。

由图3可知,随着反应时间从0.5 h延长到1.5 h,产物的接枝度从17.6%增加到23.5%,当反应时

间继续延长至 2 h 时,接枝度下降,可能是由于大豆蛋白发生自交联,造成空间位阻增大而阻碍 ZH 的导入。因此,选择最佳反应时间为 1.5 h。

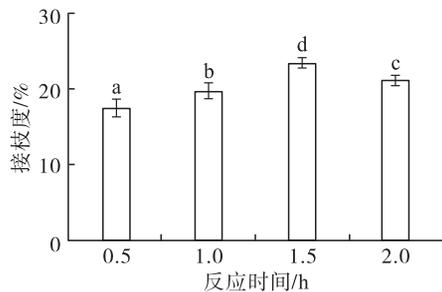


图3 反应时间对修饰产物接枝度的影响

2.2.3 酶添加量的优化

在 pH 8.0、反应温度 40℃、反应时间 1 h、底物质量浓度 40 mg/mL 的条件下,考察酶添加量对接枝度的影响,结果见图 4。

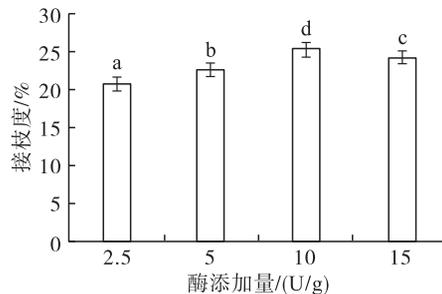


图4 酶添加量对修饰产物接枝度的影响

由图 4 可知:随着酶添加量的增加,接枝度显著增加,在酶添加量 10 U/g 时,接枝度达到最高,为 25.6%;但随着酶添加量的继续增加,接枝度下降。有研究表明, TGase 能够催化蛋白质中的谷氨酰胺残基与赖氨酸残基发生分子内及分子间交联^[17],当酶的添加量过大时,导致蛋白质分子内交联的概率增加,一部分氨基酸残基被包埋在分子内部无法进行反应,降低酶的作用效果^[18]。因此,确定最佳酶添加量为 10 U/g。

2.2.4 反应温度的优化

在 pH 8.0、酶添加量 5 U/g、反应时间 1 h、底物质量浓度 40 mg/mL 的条件下,考察反应温度对接枝度的影响,结果见图 5。

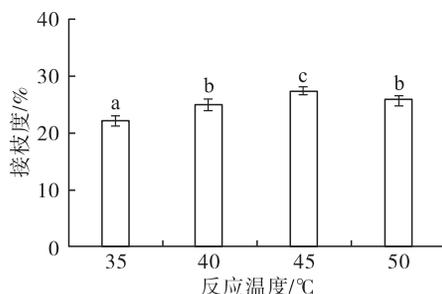


图5 反应温度对修饰产物接枝度的影响

由图 5 可知:随着反应温度从 35℃ 升高到 45℃,产物的接枝度从 22.1% 增加到 27.6%;反应温度继续升高到 50℃ 时,接枝度下降。上述现象与酶自身的特性相符,即在适宜温度时活力最高,当温度高于最适温度时,酶的活力反而下降。因此,选择最佳反应温度为 45℃。

2.2.5 pH 的优化

在酶添加量 5 U/g、反应温度 40℃、反应时间 1 h、底物质量浓度 40 mg/mL 的条件下,考察 pH 对接枝度的影响,结果见图 6。

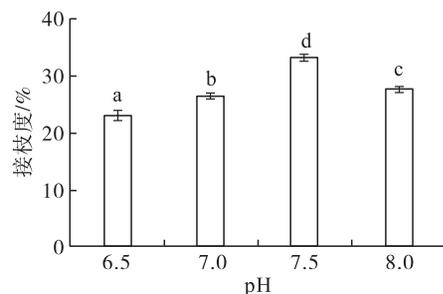


图6 pH 对修饰产物接枝度的影响

由图 6 可知,当 pH 达到 7.5 时,接枝度达到 33.4%,当继续增大反应体系的 pH 至 8.0 时,接枝度下降至 27.5%,这是因为 pH 的变化会影响酶的活性和稳定性。因此,选择最佳 pH 为 7.5。

基于以上结果,在优化条件下,控制不同反应时间(0~1.5 h)制备 SPI 与 ZH 的交联产物(根据反应时间不同分别命名为 0 h-SPI/ZH、0.5 h-SPI/ZH、1 h-SPI/ZH、1.5 h-SPI/ZH),并制备复合膜。

2.3 复合膜性能分析

2.3.1 含水量

含水量是膜应用的关键参数之一,它表示膜的亲水能力。不同反应时间修饰产物所制复合膜的含水量见表 2。

表 2 反应时间对复合膜含水量的影响

类别	含水量/%
SPI 膜	33.18 ± 0.81 ^c
0 h-SPI/ZH 膜	29.78 ± 0.08 ^d
0.5 h-SPI/ZH 膜	27.77 ± 0.04 ^e
1 h-SPI/ZH 膜	26.57 ± 0.32 ^b
1.5 h-SPI/ZH 膜	24.68 ± 0.22 ^a

注:肩标上不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。下同

由表 2 可知,外源添加 ZH,复合膜的含水量由 33.18% 降低到 29.78%,这主要是因为 ZH 中含有大量疏水基团,使复合膜的亲水性下降,导致复合膜含水量减小。当蛋白共混物(0 h-SPI/ZH)经 TGase 处理后,所制复合膜含水量显著下降,当反应时间延

长至 1.5 h,复合膜含水量相比 SPI 膜下降 25.6%。这可能是因为 TGase 促使交联反应发生,引起蛋白质分子结构发生了变化,使亲水基团被包埋于分子内部^[19],从而导致亲水性下降。

2.3.2 机械性能

膜的机械性能主要包括抗拉强度和断裂伸长率。抗拉强度是指膜内部链之间的凝聚力产生的抗拉力,而断裂伸长率是膜柔韧性的一个指标。不同反应时间修饰产物所制复合膜的机械性能见表 3。

表 3 反应时间对复合膜机械性能的影响

类别	抗拉强度/MPa	断裂伸长率/%
SPI 膜	6.88 ± 0.23 ^{cd}	62.05 ± 2.60 ^e
0 h - SPI/ZH 膜	3.77 ± 0.21 ^a	41.61 ± 2.05 ^d
0.5 h - SPI/ZH 膜	5.69 ± 0.35 ^b	35.08 ± 2.41 ^c
1 h - SPI/ZH 膜	6.50 ± 0.45 ^c	26.96 ± 1.74 ^b
1.5 h - SPI/ZH 膜	7.26 ± 0.29 ^d	19.88 ± 2.41 ^a

由表 3 可知,与 SPI 膜相比,0 h - SPI/ZH 制备的复合膜抗拉强度和断裂伸长率均减小,分别为 3.77 MPa 和 41.61%,这是因为玉米醇溶蛋白膜具有低抗拉强度和断裂伸长率^[20-21]。然而,0 h - SPI/ZH 经 TGase 处理后所制复合膜抗拉强度增加,且随着交联反应的进行,其抗拉强度显著增加,反应 1.5 h 时,复合膜的抗拉强度较 SPI 膜增加 5.5%。这是因为在反应过程中,谷氨酰胺残基与赖氨酸残基发生了交联反应,形成了异肽键,增强了分子间作用力,从而提高了膜的抗拉强度^[22]。此外,经 TGase 处理后,复合膜断裂伸长率随着反应时间的延长而下降,这是因为交联后分子质量增大,使分子流动性下降^[23],导致了断裂伸长率的减小。

2.3.3 水蒸气渗透性

膜的水蒸气渗透性是水分子接触膜,然后渗透进入膜,最后通过压力差迁移透过膜的过程。不同反应时间修饰产物所制复合膜的水蒸气渗透性见表 4。

表 4 反应时间对复合膜水蒸气渗透性的影响

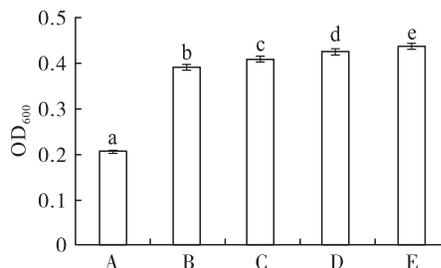
类别	水蒸气透过率/ (10 ⁻⁹ g · m ⁻¹ · s ⁻¹ · Pa ⁻¹)
SPI 膜	2.98 ± 0.09 ^e
0 h - SPI/ZH 膜	2.89 ± 0.08 ^e
0.5 h - SPI/ZH 膜	2.61 ± 0.17 ^b
1 h - SPI/ZH 膜	2.48 ± 0.12 ^b
1.5 h - SPI/ZH 膜	2.02 ± 0.18 ^a

由表 4 可知,ZH 的加入使 SPI 膜的水蒸气透过率下降,这是因为 ZH 本身带有疏水基团,从而降低

了复合膜对水分子的亲和力,提高了复合膜的阻水性能。蛋白共混物(0 h - SPI/ZH)经 TGase 处理后,复合膜的水蒸气透过率显著下降,与 SPI 相比,1.5 h - SPI/ZH 制备的复合膜水蒸气透过率下降 32.2%。这是因为 TGase 催化蛋白质分子发生交联,导致亲水基团包埋于分子内部^[24-25]。由此可见交联修饰对膜的水蒸气透过率有显著影响。

2.3.4 不透明度

膜的不透明度与原料自身色泽有关,吸光值一定程度上可以表征膜的不透明度。不同反应时间修饰产物所制复合膜的不透明度见图 7。



注: A.SPI膜; B.0 h-SPI/ZH膜; C.0.5 h-SPI/ZH膜; D.1 h-SPI/ZH膜; E.1.5 h-SPI/ZH膜

图 7 反应时间对复合膜不透明度的影响

由图 7 可知,与 SPI 膜相比,ZH 的加入使得复合膜的不透明度增加至 0.390,这主要是由于 ZH 自身色泽所致^[26]。随着 TGase 处理时间的延长,复合膜不透明度继续增加,1.5 h - SPI/ZH 制备的复合膜相较 SPI 膜增加 114.2%。这是因为 SPI 与 ZH 发生了交联作用,形成了更加紧密的结构。

3 结论

研究确定了 TGase 催化 SPI 和 ZH 制备交联修饰产物的最佳条件:底物质量浓度 40 mg/mL,SPI 与 ZH 质量比 3.5:1,酶添加量 10 U/g,pH 7.5,反应温度 45 ℃,反应时间 1.5 h。与 SPI 相比,在最佳条件下修饰反应使得所制复合膜的特性发生了显著变化,其抗拉强度增加,含水量与水蒸气透过率分别下降了 25.6% 和 32.2%。由此可见,利用 TGase 将 SPI 与 ZH 共价交联,能够获得具有良好机械性能和较低水蒸气透过率的可食性复合膜。

参考文献:

- [1] MARYAM ADILAH Z A, JAMILAH B, HANANI NUR Z A. Functional and antioxidant properties of protein - based films incorporated with mango kernel extract for active packaging[J]. Food Hydrocolloid, 2018, 74(1): 207 - 218.
- [2] KANG H, WANG Z, ZHANG W, et al. Physico - chemical properties improvement of soy protein isolate films through caffeic acid incorporation and tri - functional

- aziridine hybridization[J]. *Food Hydrocolloid*, 2016, 61(12): 923–932.
- [3] BAI H, XU J, LIAO P, et al. Mechanical and water barrier properties of soy protein isolate film incorporated with gelatin[J]. *J Plast Film Sheet*, 2013, 29(2): 174–188.
- [4] XU Y, XU C, CHEN M, et al. A soy protein – based composite film with a hierarchical structure inspired by nacre[J]. *J Renew Mater*, 2022, 10(3): 639–652.
- [5] WANG X, LIU X, ZHENG X, et al. Preparation of corn glycopeptides and evaluation of their antagonistic effects on alcohol – induced liver injury in rats [J/OL]. *J Funct Foods*, 2020, 66: 103776[2022–03–28]. <https://doi.org/10.1016/j.iff.2019.103776>.
- [6] 徐群娜, 白忠薛, 马建中. 玉米醇溶蛋白的化学改性及应用研究进展[J]. *材料导报*, 2021, 35(3): 3194–3203.
- [7] GITERU S G, ALI M A, OEY I. Recent progress in understanding fundamental interactions and applications of zein [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2021, 120: 106948 [2022–03–28]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106948>.
- [8] ZHENG X Q, LIU X L, YU S F, et al. Effects of extrusion and starch removal pretreatment on zein proteins extracted from corn gluten meal[J]. *Cereal Chem*, 2014, 91(5): 496–501.
- [9] ADLER – NISSEN J. Limited enzymic degradation of proteins; a new approach in the industrial application of hydrolases[J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 1982, 32(1): 138–156.
- [10] AGA B, GGA C, GNBD E, et al. Preparation and characterization of soy protein films reinforced with cellulose nanofibers obtained from soybean by – products [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 89: 758–764.
- [11] 王晓杰, 刘晓兰, 曲悦, 等. 两步水解法制备玉米抗氧化活性肽及产物的稳定性[J]. *中国粮油学报*, 2020, 35(12): 67–73.
- [12] 闫爽, 宋春丽, 任健, 等. 分子链修饰改善玉米谷蛋白的功能性质[J]. *中国油脂*, 2021, 46(10): 24–28, 36.
- [13] MILENA M T, MASSON M M, SILVA N C, et al. Soybean straw nanocellulose produced by enzymatic or acid treatment as a reinforcing filler in soy protein isolate films[J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 198: 61–68.
- [14] CRIZEL T D M, RIOS A D O, ALVES V D, et al. Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace[J]. *Food Hydrocolloid*, 2018, 74(1): 139–150.
- [15] 李帅, 谷雨, 牛春艳. 大豆分离蛋白/壳聚糖可食膜制备及性能研究[J]. *食品工业*, 2018, 39(9): 73–77.
- [16] 朱常月. 壳聚糖降解物与两种蛋白的酶法糖基化交联及产物性质[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [17] 宋春丽, 赵新淮. 食品蛋白质的糖基化反应: 美拉德反应或转谷氨酰胺酶途径[J]. *食品科学*, 2013(9): 382–387.
- [18] DANG Y L, ZHANG W, SHI Y X. Methods for extracting the taste compounds from water soluble extract of Jinhua ham[J]. *Eur Food Res Technol*, 2008, 228(1): 93–102.
- [19] LUISA A, GASPAR C, DE GOES – FAVONI S P. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins; a review[J]. *Food Chem*, 2015, 171(15): 315–322.
- [20] CEPDS A, MASDO B, FFSA C, et al. Physical chemical study of zein and arabinogalactans or glucuronomannans polyelectrolyte complexes and their film – forming properties [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 100: 105394[2022–03–28]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105394>.
- [21] HUO W, WEI D, ZHU W, et al. High – elongation zein films for flexible packaging by synergistic plasticization: preparation, structure and properties [J]. *J Cereal Sci*, 2018, 79: 354–361.
- [22] HERRERO A M, CA MBERO M I, JA ORDO E Z, et al. Raman spectroscopy study of the structural effect of microbial transglutaminase on meat systems and its relationship with textural characteristics[J]. *Food Chem*, 2008, 109(1): 25–32.
- [23] CHEN G, DONG S, ZHAO S, et al. Improving functional properties of zein film via compositing with chitosan and cold plasma treatment[J]. *Ind Crops Prod*, 2019, 129: 318–326.
- [24] LI D Z, LI X J, WU G C, et al. The characterization and stability of the soy protein isolate/1 – octacosanol nanocomplex [J/OL]. *Food Chem*, 2019, 297: 124766 [2022–03–28]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.041>.
- [25] FENG X, ZHU C, FAN L, et al. Effects of high – intensity ultrasound treatment on functional properties of plum (*Pruni domesticae semen*) seed protein isolate[J]. *J Sci Food Agric*, 2018, 98: 5690–5699.
- [26] WELLER C L, GENNADIOS A, SARAIVA R A. Edible bilayer films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax[J]. *LWT – Food Sci Technol*, 1998, 31(3): 279–285.