

油料蛋白

DOI: 10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.2021.07.013

米糠蛋白的静高压联合酶法改性工艺优化及其特性研究

刘加艳,任宇鹏

(河南应用技术职业学院,郑州 450042)

摘要:采用静高压联合碱性蛋白酶对米糠蛋白进行改性。考察静压力、保压时间对米糠蛋白溶解性的影响,优化静高压改性条件。以米糠蛋白溶解性、乳化性和乳化稳定性为指标,通过单因素试验和正交试验综合评分法优化了酶法改性工艺。结果表明,米糠蛋白最适改性条件为静压力 200 MPa、保压时间 15 min、碱性蛋白酶添加量 1 500 U/g、pH 8、酶解温度 50 °C 和酶解时间 80 min,在此条件下米糠蛋白溶解性、乳化性、乳化稳定性、起泡性和泡沫稳定性分别增加了 57%、88%、182%、185%、43%。

关键词:米糠蛋白;静高压;碱性蛋白酶;溶解性;乳化性;起泡性

中图分类号:TS213.3;TS221 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)07-0075-06

Optimization of modification of rice bran protein by static high pressure combined with enzymatic method and its characteristics

LIU Jiayan, REN Yupeng

(Henan Technical Institute, Zhengzhou 450042, China)

Abstract: The rice bran protein was modified by static high pressure combined with alkaline protease. The static high pressure conditions were optimized by investigating the effects of static pressure, pressure holding time on the solubility of rice bran protein. With solubility, emulsifying ability and emulsion stability of rice bran protein as indexes, the enzymatic modification process was optimized by single factor experiment and comprehensive scoring method of orthogonal experiment. The results showed that the optimal modification conditions of rice bran protein were obtained as follows: static pressure 200 MPa, pressure holding time 15 min, dosage of alkaline protease 1 500 U/g, pH 8, hydrolysis temperature 50 °C and hydrolysis time 80 min. Under these conditions, the solubility, emulsifying ability, emulsion stability, foaming ability and foam stability of rice bran protein increased by 57%, 88%, 182%, 185% and 43%, respectively.

Key words: rice bran protein; static high pressure; alkaline protease; solubility; emulsifying ability; foaming ability

稻谷精加工中产生约 10% 的米糠,米糠含 12% ~ 20% 的蛋白质,米糠蛋白必需氨基酸模式与 FAO/WHO 推荐模式相近,生物价与牛奶、鸡蛋相似;米糠蛋白中清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白含量分别为 39%、34%、23%、4%,赖氨酸含量高达 5.8%;同

时,米糠蛋白中无抗营养因子,是一种优质低过敏性蛋白,适合作为特殊人群及婴幼儿营养食品^[1]。

米糠蛋白分子中的二硫键较多,与其他营养物质结合牢固,导致米糠蛋白不易分离,同时影响蛋白质的水合、结构和表面性质。目前,国内外多以超声或微波辅助酶法改性米糠蛋白以提高其溶解性和乳化性,如常慧敏等^[2]采取超声辅助酶法改性米糠蛋白,朱珈庆等^[3]采用微波与酶法联合改性米糠蛋白,改性后米糠蛋白的功能性均显著提高。

收稿日期:2020-09-16;修回日期:2021-03-16

作者简介:刘加艳(1978),女,讲师,研究方向为生物化工产品的研究与开发(E-mail)1615963404@qq.com。

通信作者:任宇鹏,副教授(E-mail)450976891@qq.com。

采用静高压改性蛋白是目前食品研究热点,该方法为蛋白质在 100 ~ 1 000 MPa 压力下,经压缩后基团发生位移而变性,同时可杀死微生物或使酶灭活,对食品的营养物质、色泽、风味等不会造成破坏,且不会生成有害产物。Zhu 等^[4]的研究表明,静高压可使米糠蛋白的结构和水合性质发生改变。本文采用静高压联合碱性蛋白酶改性米糠蛋白,对改性工艺条件进行优化,以期提高米糠蛋白功能性的同时缩短改性时间,扩展其在食品领域的应用。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

米糠,河南方欣米业;碱性蛋白酶(20 万 U/g),河南万邦实业有限公司;大豆油,中粮集团;磷酸盐缓冲剂,上海雷磁有限公司;其他试剂均为分析纯。

L2-600/2 型静高压设备,天津华泰森森有限公司;K1100 全自动凯氏定氮仪,济南海能仪器股份有限公司;BJ-750A 粉碎机,德清拜杰电器有限公司;PHS-25 型 pH 计,上海精科仪器有限公司;FD-1A-110 真空冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 碱提酸沉制备米糠蛋白

新鲜米糠粉碎过 0.150 mm 孔径(100 目)筛,40℃下按料液比 1:12 于 pH 9.5 的碱液中浸泡 2 h,1 600 g 下离心 15 min,取上清液;调上清液 pH 至 4.5,迅速于 1 600 g 下离心 15 min,收集沉淀;上清液加 20% 的乙醇溶液混匀静置 30 min,于 1 600 g 下离心 15 min。合并两次沉淀并调 pH 至 7.0,冷冻干燥备用^[5]。经测定,米糠蛋白提取率为(56.83 ± 0.57)%,蛋白质含量为(61.09 ± 0.37)%。

1.2.2 静高压联合酶法改性米糠蛋白

(1)静高压改性。配制质量浓度为 0.02 g/mL 的米糠蛋白溶液,以聚乙烯袋封装(100 mL/袋)。以水为介质,采用静高压设备分别在表压 0、100、200、300、400、500 MPa 下保压一定时间,加压速度为 150 MPa/min,加压过程温度不超过 30℃。加压后取出样品,待酶法改性。

(2)酶法改性。取静高压处理的米糠蛋白溶液,添加 0.01 g/mL 的碱性蛋白酶溶液,用盐酸溶液或氢氧化钠溶液调至一定 pH,于一定温度下反应一定时间,反应过程中用磷酸盐缓冲剂微调保持 pH 相对恒定;于 85℃灭酶 10 min,迅速冷却至室温,冷冻干燥得到静高压联合碱性蛋白酶改性的米糠蛋白^[6]。

1.2.3 米糠蛋白溶解性的测定

参考 GB 5009.5—2010 测定样品中总氮含量。

取一定量米糠蛋白溶于 50 mL 蒸馏水中,室温搅拌 1 h 并定容,于 1 600 g 下离心 20 min,取 10 mL 上清液用凯氏定氮法测定氮含量;以氮溶解指数(NSI)表示米糠蛋白溶解性^[7-8]。

1.2.4 米糠蛋白乳化性和乳化稳定性的测定

准确称取 2.0 g 米糠蛋白,配制成 0.01 g/mL 的中性蛋白溶液。取 30 mL 样品液与 8 mL 大豆油混合,在 10 000 g 下高速均质剪切 2 min,立即从底部吸取 50 μL 乳液于 100 mL 容量瓶中,用 0.1% 的十二烷基硫酸钠定容,立即于 500 nm 波长下测吸光度(A_0),10 min 后测吸光度(A_{10})。乳化性(I_{EA})和乳化稳定性(I_{ES})分别按式(1)和式(2)计算^[9]。

$$I_{EA} = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{\varphi LC \times 10\,000} \quad (1)$$

$$I_{ES} = \frac{A_0 \times \Delta t}{A_0 - A_{10}} \quad (2)$$

式中: N 为稀释倍数; φ 为体系中油相体积分数; L 为比色皿光径(1 cm); C 为蛋白质量浓度,g/mL; Δt 为测定吸光度的时间间隔,10 min。

1.2.5 起泡性和泡沫稳定性的测定

称取一定量的米糠蛋白,配制成 0.03 g/mL 的中性蛋白溶液。取 100 mL 样品液于 500 mL 量筒中,室温下在 10 000 g 下高速均质 3 min,分别记录初始时(V_0)和 30 min 时(V_{30})的泡沫体积^[10-11],起泡性(F_C)和泡沫稳定性(F_S)分别按式(3)和(4)计算。

$$F_C = \frac{V_0 - 100}{V_0} \times 100\% \quad (3)$$

$$F_S = \frac{V_{30} - 100}{V_0 - 100} \times 100\% \quad (4)$$

2 结果与分析

2.1 静高压工艺条件的优化

2.1.1 静压力对米糠蛋白溶解性的影响

按 1.2.2 方法,配制 0.02 g/mL 的米糠蛋白溶液,分别在不同的静压力下保压 10 min,将溶液冷冻干燥,测定其溶解性,考察静压力对米糠蛋白溶解性的影响,结果见图 1。

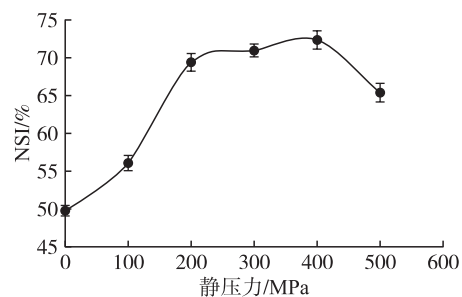


图 1 静压力对米糠蛋白溶解性的影响

由图 1 可知,米糠蛋白溶解性随静压力的增高

先增大后减小,200~400 MPa时溶解性较好。球形的蛋白质分子内部有一些空穴,具有一定的可压缩性和柔性,高压下基团发生位移,一些化学键被破坏,亲水性基团形成或暴露,溶解性增加,静压力为500 MPa时可能由于新的化学键生成,溶解性降低。静压力为200 MPa时米糠蛋白溶解性接近最大值,且静压力增高伴随耗能和耗时增加,故选择静压力为200 MPa。

2.1.2 保压时间对米糠蛋白溶解性的影响

按1.2.2方法,配制0.02 g/mL的米糠蛋白溶液,在静压力200 MPa下保压一定时间,将溶液冷冻干燥,测定其溶解性,考察保压时间对米糠蛋白溶解性的影响,结果见图2。

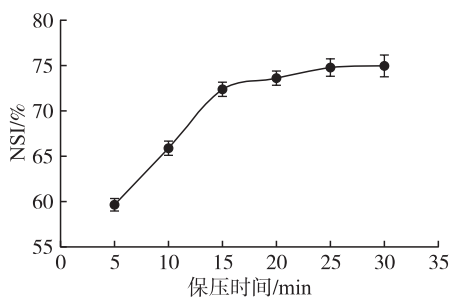


图2 保压时间对米糠蛋白溶解性的影响

由图2可知,在静压力200 MPa下随着保压时间的延长,0~15 min时米糠蛋白溶解性增速较快,15~30 min时增速较慢,可能由于压力造成的基团位移及亲水性基团暴露趋于饱和^[12-13],故选择保压时间为15 min。

2.2 酶法改性米糠蛋白的工艺优化

2.2.1 单因素试验

按1.2.2方法,在静压力200 MPa和保压时间15 min条件下,对米糠蛋白进行静高压改性后,再进行酶法改性,考察碱性蛋白酶改性对米糠蛋白功能性质的影响。

2.2.1.1 酶添加量对米糠蛋白溶解性、乳化性和乳化稳定性的影响

经静高压处理后的米糠蛋白溶液,在pH 7条件下分别添加500、1 000、1 500、2 000、2 500、3 000 U/g碱性蛋白酶(以米糠蛋白质量计,下同),45℃酶解60 min,考察酶添加量对米糠蛋白溶解性和乳化性、乳化稳定性的影响,结果分别见图3、图4。

从图3可知,米糠蛋白溶解性随着酶添加量的增加而增大,酶添加量超过2 000 U/g之后,米糠蛋白溶解性增加变缓。从图4可知,米糠蛋白乳化性随着酶添加量的增大而增加。这是因为在静高压作用下,蛋白质形成和暴露出更多的亲水基团,且更利

于酶解。在酶催化下,蛋白质限制性水解为小分子肽,小分子肽可快速地分散在油-水界面上,形成吸附作用,增大乳化性,且降低界面体系的自由能,稳定乳化液^[14]。乳化稳定性反映乳化液保持良好乳化性的时间,乳化稳定性的大小与蛋白质亲水性与疏水性的平衡有关。随着酶添加量的增加,米糠蛋白溶解性增加,且亲水基团和水形成牢固的界面,使乳化稳定性增加。酶添加量超过2 000 U/g后,蛋白质结构舒展,更多亲水基团和疏水基团暴露,疏水力增大,使得脂肪微滴相互吸引,乳化稳定性下降^[15]。

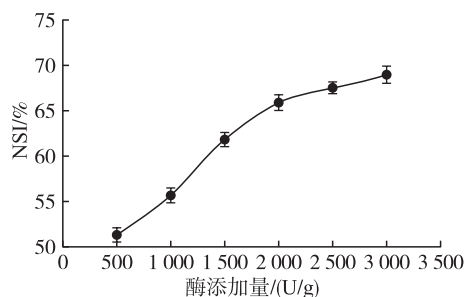


图3 酶添加量对米糠蛋白溶解性的影响

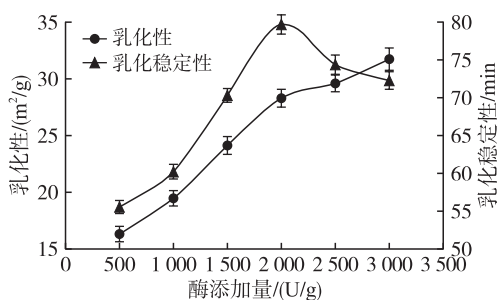


图4 酶添加量对米糠蛋白乳化性和乳化稳定性的影响

2.2.1.2 pH对米糠蛋白溶解性、乳化性和乳化稳定性的影响

静高压处理后,在酶添加量2 000 U/g、酶解时间60 min、酶解温度45℃条件下,考察pH对米糠蛋白溶解性、乳化性和乳化稳定性的影响,结果分别见图5、图6。

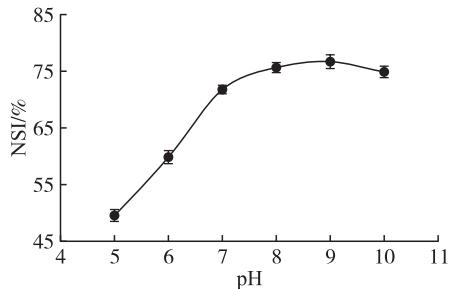


图5 pH对米糠蛋白溶解性的影响

由图5可知,米糠蛋白溶解性在pH 5~8增加较快,在pH 8~10之间增加缓慢。米糠蛋白等电点在4.5左右,碱性蛋白酶最适pH为9左右;pH增

大,偏离等电点而使米糠蛋白溶解性增加,同时由于酶活力增强,使得蛋白质水解成更多的小分子肽,亲水基团暴露,溶解性增大^[16]。

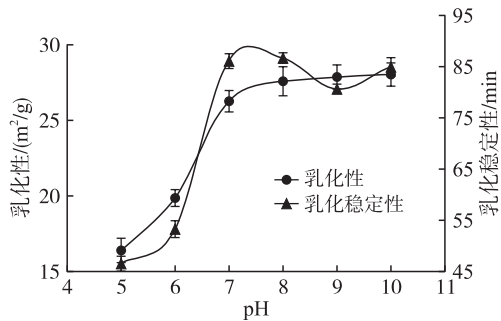


图6 pH对米糠蛋白乳化性和乳化稳定性的影响

由图6可知:米糠蛋白的乳化性随pH的增加而增大,pH大于7时增加趋势变缓;乳化稳定性随pH的增加先增大后减小。由于酶的作用使亲水亲油基团暴露,使得蛋白快速形成油-水吸附膜而使乳化稳定性升高;当pH大于7时,酶活性使得更多小分子肽生成,小分子肽形成的吸附膜不足以维持油-水的稳定性,乳化稳定性降低。

2.2.1.3 酶解温度对米糠蛋白溶解性、乳化性和乳化稳定性的影响

静高压处理后,在酶添加量2 000 U/g、酶解时间60 min、pH 7条件下,考察酶解温度对米糠蛋白溶解性、乳化性和乳化稳定性的影响,结果分别见图7、图8。

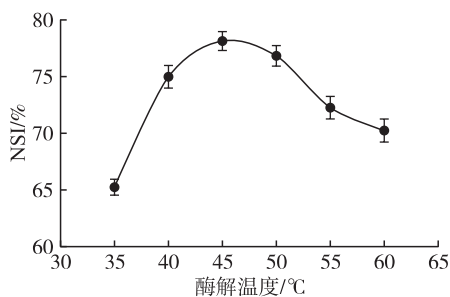


图7 酶解温度对米糠蛋白溶解性的影响

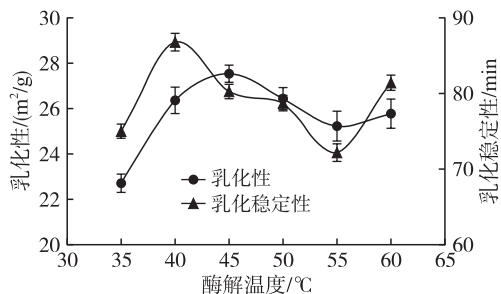


图8 酶解温度对米糠蛋白乳化性和乳化稳定性的影响

由图7可知,随着酶解温度的升高,米糠蛋白溶解性先升高后降低,并在45°C时达到最大值。碱性蛋白酶最适温度为40~50°C,可使蛋白质结构得以

充分展开,亲水基团增多;50°C以上时,由于酶部分变性,溶解性下降。由图8可知:乳化性于35~45°C时升高,45~55°C时降低,55~60°C再次升高;乳化稳定性于40°C达到最高值,之后降低,55°C之后再升高。这可能与酶的最适温度有关,较低的温度下形成稳定的蛋白膜,温度升高,蛋白质继续水解使得蛋白膜的界面黏性变差;60°C时可能由于蛋白中的淀粉糊化,形成淀粉网络结构,增大了溶液的界面性质^[17]。

2.2.1.4 酶解时间对米糠蛋白溶解性、乳化性和乳化稳定性的影响

静高压处理后,在酶添加量2 000 U/g、酶解温度45°C、pH 7条件下,考察酶解时间对米糠蛋白溶解性、乳化性和乳化稳定性的影响,结果分别见图9、图10。

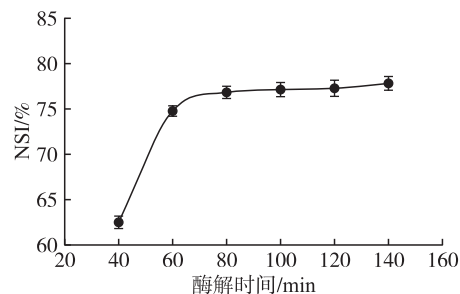


图9 酶解时间对米糠蛋白溶解性的影响

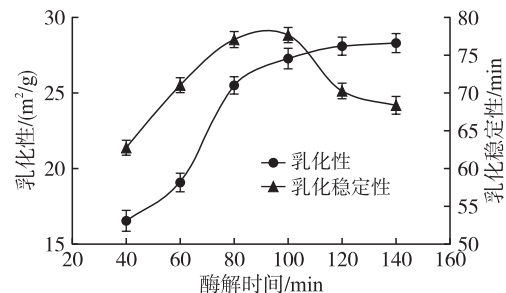


图10 酶解时间对米糠蛋白乳化性和乳化稳定性的影响

由图9可知,酶解时间80 min时,米糠蛋白溶解性基本达到最大值。李帅斐等^[18]的研究显示,95°C高温联合碱性蛋白酶改性米糠蛋白,最适酶解时间为120 min,与之相比,静高压联合碱性蛋白酶改性缩短了酶解时间,节省了操作时间。由图10可知,米糠蛋白乳化性随着酶解时间延长而增大,80 min后增大不明显,乳化稳定性在100 min后降低。

2.2.2 正交试验

在单因素试验的基础上,以酶添加量、pH、酶解温度、酶解时间为考察因素,以溶解性、乳化性、乳化稳定性为指标,进行L₉(3⁴)正交试验设计。根据姜志炜^[19]关于蛋白质溶解性、乳化性与食品感官性质的研究,采用隶属度对指标进行综合评分。正交试验因素水平见表1,正交试验方案及结果见表2。

表1 正交试验因素水平

水平	A 酶添加量/ (U/g)	B pH	C 酶解 温度/℃	D 酶解 时间/min
1	1 000	6	40	60
2	1 500	7	45	80
3	2 000	8	50	100

由表2可知,对米糠蛋白性质影响最大的因素为酶添加量,其次为pH,酶解温度和酶解时间的影响较小。经过静高压处理的0.02 g/mL米糠蛋白最佳酶解条件组合为A₂B₃C₃D₂,即酶添加量1 500 U/g、pH 8、酶解温度50℃和酶解时间80 min时,NSI、乳化性和乳化稳定性综合评分最好。

表2 正交试验方案及结果

试验号	A	B	C	D	NSI/%	乳化性/ (m ² /g)	乳化稳定性/ min	NSI 隶属度	乳化性 隶属度	乳化稳定性 隶属度	综合 评分
1	1	1	1	1	50.30	15.74	62.19	0.00	0.00	0.28	0.08
2	1	2	2	2	67.53	22.45	73.17	0.63	0.51	0.81	0.65
3	1	3	3	3	70.87	28.96	68.78	0.75	1.00	0.60	0.78
4	2	1	2	3	65.27	25.36	74.65	0.55	0.73	0.88	0.70
5	2	2	3	1	71.44	24.70	76.06	0.78	0.68	0.94	0.80
6	2	3	1	2	74.38	26.99	77.27	0.88	0.85	1.00	0.91
7	3	1	3	2	74.69	27.01	66.94	0.90	0.85	0.51	0.77
8	3	2	1	3	75.03	28.11	56.24	0.91	0.94	0.00	0.64
9	3	3	2	1	77.55	28.06	59.71	1.00	0.93	0.17	0.73
K ₁	1.51	1.55	1.63	1.61							
K ₂	2.41	2.09	2.08	2.33							
K ₃	2.14	2.42	2.35	2.12							
R	0.90	0.87	0.72	0.72							

注:指标隶属度 = $\frac{\text{指标值} - \text{指标最小值}}{\text{指标最大值} - \text{指标最小值}}$, 综合评分 = 0.4 × NSI 隶属度 + 0.3 × 乳化性隶属度 + 0.3 × 乳化稳定性隶属度。

2.2.3 验证试验

将未改性的米糠蛋白样品、200 MPa 静高压处理15 min及综合评分最优条件下联合改性的样品进行性质比较,结果见表3。

表3 不同米糠蛋白样品性质比较

样品	NSI/ %	乳化性/ (m ² /g)	乳化 稳定性/ min	起泡性/ %	泡沫 稳定性/ %
未改性	49.85 ^a	15.03 ^a	26.17 ^a	13.22 ^a	40.17 ^a
静高压改性	69.45 ^b	21.46 ^b	63.59 ^b	29.66 ^b	50.91 ^b
联合改性	78.27 ^c	28.30 ^c	73.72 ^c	37.80 ^c	57.28 ^c

注:同列不同字母表示存在显著差异($p < 0.05$)。

由表3可知,与未改性样品相比,静高压改性和联合改性米糠蛋白溶解性、乳化性、乳化稳定性、起泡性及泡沫稳定性均显著增加,且联合改性米糠蛋白溶解性、乳化性、乳化稳定性、起泡性及泡沫稳定性增加更显著,分别增加了57%、88%、182%、185%、43%。

3 结论

基于单因素试验和正交试验,静高压与碱性蛋白酶联合改性米糠蛋白最适改性条件为静压力200 MPa、保压时间15 min、酶添加量1 500 U/g、pH 8、

酶解温度50℃和酶解时间80 min,在此条件下米糠蛋白结构被打开,二硫键断裂,暴露其亲水和疏水基团。联合改性后米糠蛋白溶解性、乳化性、起泡性均显著增加。研究结果为提高米糠的经济价值提供了参考。

参考文献:

- [1] 管晓,金周筠,金晶,等.米糠蛋白提取中的关键影响因素及其优化[J].食品科学,2012,33(10):24-28.
- [2] 常慧敏,杨敬东,田少君.超声辅助木瓜蛋白酶改性对米糠蛋白溶解性和乳化性的影响[J].中国油脂,2019,44(4):35-40.
- [3] 朱珈庆,李帅斐,于雷,等.米糠蛋白碱法提取联合微波与酶法改性工艺的优化[J].粮食与油脂,2017,30(7):60-64.
- [4] ZHU S M, LIN S L, RAMASWAMY H S, et al. Enhancement of functional properties of rice bran proteins by high pressure treatment and their correlation with surface hydrophobicity [J]. Food Bioproc Tech, 2017,10(2):317-327.
- [5] PHONGTHAI S, LIM S T, RAWDKUEN S. Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties [J]. J Cereal Sci, 2016,70(6):146-154.

(下转第91页)

- [10] MITHEN R F. Glucosinolates and their degradation products[J]. *Adv Bot Res*, 2001, 35: 213 - 232.
- [11] TOKALIOĞLU Ş, ÇIÇEK B, İ NANÇ N, et al. Multivariate statistical analysis of data and ICP - MS determination of heavy metals in different brands of spices consumed in Kayseri, Turkey [J]. *Food Anal Methods*, 2018, 11: 2407 - 2418.
- [12] 张飞鸽, 元艳, 周顺超, 等. 微波消解 - 电感耦合等离子体质谱法测定油菜籽中的六种重金属含量[J]. *资源环境与工程*, 2017, 31(6): 811 - 814.
- [13] 黎红亮, 杨洋, 陈志鹏, 等. 花生和油菜对重金属的积累及其成品油的安全性[J]. *环境工程学报*, 2015, 9(5): 2488 - 2494.
- [14] 刘玉兰, 刘春梅, 温运启, 等. 食用植物油料中多环芳烃含量及安全风险分析[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2018, 39(5): 18 - 26.
- [15] 李培武, 赵永国, 张文, 等. 中国甘蓝型油菜硫苷含量及组份分析[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(7): 1346 - 1352.
- [16] 刘晓君, 张余权, 潘浴清, 等. 油菜籽中硫苷化合物的分离鉴定和定量测定[J]. *中国油脂*, 2014, 39(2): 89 - 93.
- [17] ZHOU Q, TANG H, JIA X, et al. Distribution of glucosinolate and pungent odors in rapeseed oils from raw and microwaved seeds[J]. *Int J Food Prop*, 2018, 21(1): 2296 - 2308.
- [18] 杨居荣, 查燕. 食品中重金属的存在形态及其与毒性的关系[J]. *应用生态学报*, 1999(6): 766 - 770.
- [19] 查燕, 杨居荣, 刘虹, 等. 污染谷物中重金属的分布及加工过程的影响[J]. *环境科学*, 2000, 21(3): 52 - 55.
- [20] 刘晓庚, 张珂嘉, 袁建, 等. 谷物中重金属离子迁移及其污染消控研究进展[J]. *粮食科技与经济*, 2013, 38(5): 7 - 12.
- [21] 王海翠, 胡林林, 李敏, 等. 多环芳烃(PAHs)对油菜生长的影响及其积累效应[J]. *植物生态学报*, 2013, 37(12): 1123 - 1131.
- [22] 张会敏. 瓜类蔬菜体内多环芳烃的分布特征及健康风险评估[D]. 南宁: 广西大学, 2019.
- [23] 李佳, 吴谋成, 韩继祥, 等. 甘蓝型油菜种皮和种胚硫甙含量及其组分分析[J]. *中国油料*, 1993(2): 45 - 47.
- [24] 韩继祥, 李佳, 吴谋成, 等. 白菜型油菜种皮和种胚硫甙总量及其分量分析[J]. *中国油料*, 1993(4): 51 - 53.
- [25] 李培武, 赵永国, 丁小霞, 等. 甘蓝型油菜叶片与种子硫苷相关性研究[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(3): 587 - 592.
- (上接第79页)
- [6] 刘梁, 孙维矿, 赵玲, 等. 响应面法优化米糠蛋白的酶解工艺[J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(3): 76 - 81.
- [7] 王长远, 郝天舒, 程皓. 利用碱性蛋白酶酶解米糠谷蛋白及功能性的研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2014, 12(11): 32 - 36.
- [8] SUN L H, LÜ S W, HE L Y. Comparison of different physical technique - assisted alkali methods for the extraction of rice bran protein and its characterizations[J]. *Int J Food Eng*, 2017, 13(10): 2 - 12.
- [9] 蔡勇建, 叶建芬, 吴晓娟, 等. 米糠贮藏时间对米糠蛋白功能性质影响[J]. *粮食与油脂*, 2015, 28(6): 31 - 34.
- [10] 阚建全, 段玉峰, 姜发堂. *食品化学*[M]. 北京: 中国计量出版社, 2009: 57 - 76.
- [11] ZHANG Y P, WANG B, ZHANG W N, et al. Effects and mechanism of dilute acid soaking with ultrasound pretreatment on rice bran protein extraction[J]. *J Cereal Sci*, 2019, 87(5): 318 - 324.
- [12] WANG X S, TANG C H, LI B S, et al. Effects of high - pressure treatment on some physicochemical and functional properties of soy protein isolates[J]. *Food Hydrocolloid*, 2008, 22(4): 560 - 567.
- [13] 刘国琴, 李琳, 李冰, 等. 超声和超高压处理对大豆分离蛋白特性影响的研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2005, 26(3): 1 - 4.
- [14] 王章存, 徐贤. 超高压处理对蛋白质结构及功能性质影响[J]. *粮食与油脂*, 2007(11): 10 - 12.
- [15] 王腾宇, 周凤超, 李红玲, 等. 米糠蛋白的提取及其功能性质研究[J]. *粮油加工*, 2010(11): 45 - 48.
- [16] 王艳玲, 张敏. 脱脂米糠中清蛋白和球蛋白的提取工艺及氨基酸组成分析[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(2): 226 - 230, 237.
- [17] 张慧娟, 张晖, 王立, 等. 响应面法优化脱脂米糠蛋白提取工艺[J]. *中国油脂*, 2009, 34(1): 312 - 317.
- [18] 李帅斐, 赵安琪, 杨末, 等. 碱法提取联合高温和酶法改性米糠蛋白的研究[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(6): 153 - 157.
- [19] 姜志伟. *蛋白质加工技术*[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 157 - 169.