

番茄籽蛋白酶解产物的功能特性研究

白雪¹, 张彬^{1*}, 赵强², 罗家星¹, 肖义波¹

(1.南昌大学中德食品工程中心, 江西南昌 330047;

2.南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西南昌 330047)

摘要:以番茄籽蛋白为原料, 研究不同蛋白酶对番茄籽蛋白水解物功能性质的影响并与原蛋白的功能性质进行比较。结果表明: 不同蛋白酶水解番茄籽蛋白的规律相似, 水解度随时间增加而提高, 但在相同时间内, 不同水解物的水解度不同, 说明不同的蛋白酶对番茄籽蛋白的水解效率不同, 其中碱性蛋白酶水解效率最高14.48%; 木瓜蛋白酶可较高效地回收番茄籽蛋白, 蛋白回收率高达81.12%; 番茄籽分离蛋白经酶解改性后其表面疏水性降低, 但溶解性和乳化性均有不同程度的提高, 其中胰蛋白酶水解物的溶解性最好; 木瓜蛋白酶水解物的乳化性能最优。因此, 酶法水解可改善番茄籽蛋白的功能性质, 且不同蛋白酶对蛋白的功能性质的影响不同, 可根据实际需要选择蛋白酶。

关键词:番茄籽蛋白, 酶解, 功能特性

Study on functional properties of tomato seed protein hydrolysates produced with various proteases

BAI Xue¹, ZHANG Bin^{1*}, ZHAO Qiang², LUO Jia-xing¹, XIAO Yi-bo¹

(1.Sino-German Food Engineering Center of Nanchang University, Nanchang 330047, China;

2.State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: The effects of various proteases on the functional properties of tomato seed protein hydrolysates (TSPH) were determined. The difference of functional properties between TSPH and tomato seed protein isolate (TSPI) were compared. The hydrolytic process of tomato seed protein with different proteases were similar, the degree of hydrolysis increased with the hydrolysis time. The degree of hydrolysis of five different TSPHs in equal times varied with the proteases, which indicated that the hydrolysis efficiency of proteases was different. According to the result, the hydrolysis efficiency of alcalase was highest among them. The degree of hydrolysis of TSPH prepared with Alcalase was the highest which was 14.48%, while Papain was more effective in recovering of protein reached to 81.12%. The functional properties of TSPHs was better than that of TSPI. The functional properties of TSPH also varied with the protease. The highest surface hydrophobicity was observed for TSPH prepared by Protamex, the solubility of Trypsin-treated TSPH was the highest, and TSPH was prepared with Papain having the best emulsifying properties. Therefore, enzymatic hydrolysis of TSPH with different enzymes studied here was found to significantly improve protein functional properties, and which were also determined by different proteases, different tomato seed protein hydrolysate products with desirable functionalities could actually be selected according to the different proteases.

Key words: tomato seed protein; hydrolysis; functional properties

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)04-0189-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.04.033

番茄是最常见的果蔬之一, 我国每年有大量的番茄被加工成番茄制品。在番茄加工过程中会产生大量果渣, 占原料的3%~5%, 其中番茄籽占干渣净重的60%以上^[1]。据FAO统计, 2012年中国番茄产量达5000万t^[2], 可产生90~150万t番茄籽。番茄籽中含有22.2%~33.9% (干基) 粗蛋白^[3], 是一种可以利用的蛋白资源。Lazos等^[3]研究发现番茄籽蛋白氨基酸种类齐全, 与常见植物蛋白相比, 赖氨酸含量较高; Majzoobi

等^[4-6]发现将番茄籽添加到面条、面包等食品中, 可改善食品的加工性质, 提高其营养性。

蛋白最常用的提取方法为碱提酸沉, Liadakis等^[7-9]优化了碱液提取番茄籽蛋白的工艺条件, 并探讨了提取条件对其功能性质的影响。然而, 蛋白溶解性差, 碱液提取率低, 从而限制了番茄籽蛋白在食品工业中的应用。鉴于此, 采用有效的提取方法回收蛋白, 同时改善它的功能性质使其能够满足食品工业应用

收稿日期: 2014-05-20

作者简介: 白雪(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然食物资源的开发与利用。

* 通讯作者: 张彬(1956-), 男, 大学本科, 教授, 食品工程。

的需要,是提高番茄籽蛋白利用度的关键。酶法水解,是一种酶促降解蛋白达到提取、改性目的的方法,不仅可以避免苛刻的提取条件,对蛋白回收率高,减少副产物,还可以得到具有多种理想功能特性和高营养的蛋白质,目前已有不少改善植物蛋白的成功实例,如米渣蛋白^[10]、核桃蛋白^[11]、小麦面筋蛋白^[12]等。

目前关于如何采用酶法从番茄籽中高效回收具有理想功能性质的番茄籽蛋白肽的研究尚未见报道。由于酶的专一性、酶切位点及作用方式的不同等因素的存在,对特定的蛋白水解效率存在较大差异,蛋白功能特性的好坏也与酶的选择有关。本文选用不同蛋白酶水解番茄籽蛋白,比较研究酶解前后不同产物的功能性质,以期为番茄籽蛋白的提取利用提供实验数据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

番茄籽 由中粮屯河股份有限公司提供;Alcalase 2.4L(标识酶活力为2.4AU/g)、Neutrase 0.8L(标识酶活力为0.8AU/g)和 Flavourzyme(标识酶活力为500LAPU/g) 均由诺维信酶制剂(北京)有限公司提供;Trypsin(4000U/g) 江苏雪山酶制剂厂;Papain(酶标活力为60-75AU/g) Sigma公司;其他所用化学试剂 均为分析级。

FreeZone 12-Plus型冷冻干燥机 美国Labconco公司;KDY-9820型全自动凯氏定氮仪 厦门精艺兴业有限公司;T6型紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;F-4500型荧光分光光度计 日本日立公司;FSH-II型高速匀浆机 江苏金坛市环宇科学仪器厂;PB-10 pH计、BS224S型电子天平 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;RH B1 S25型搅拌器 德国IKA公司;Anke LXJ-II B型, TGL-16C型离心机 上海安亭科学仪器厂;RE-5298型旋转蒸发仪 上海亚荣仪器厂;HH-6型电热恒温水浴锅 常州国化电器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程 番茄籽→粉碎、筛分→脱脂→挥干→水洗→离心→纤维素酶处理→水洗→离心→浓缩蛋白→酶解→高温灭酶→离心→上清液冻干→酶解产物→分析测定。

1.2.2 番茄籽浓缩蛋白的制备 番茄籽粉碎后,过60目筛,筛下物用石油醚浸提脱脂。称取100g脱脂番茄籽粉,以1:10(w/v)加入去离子水,在50℃水浴锅中搅拌30min后离心(5000r/min, 15min),所得沉淀再用去离子水洗三次,以除去水溶性杂质及糖分。

沉淀物继续用去离子水(1:10, w/v)分散,边搅拌边加NaOH溶液(1mol/L)调节pH到6.0,加入纤维素酶0.1g,在50℃中保温1h,离心(5000r/min, 15min),去除上清液,沉淀物用去离子水洗三次,以除去脱脂番茄籽中的纤维素,所得浓缩蛋白含量可达到80%以上(干基)。

1.2.3 番茄籽蛋白的酶法水解 按表1中条件分别进行酶解,每种酶做三个平行水解实验。水解过程中反应体系的pH通过添加1mol/L的氢氧化钠溶液加以控制。酶解完成后,将酶解物pH调到7.0,在沸水浴中保

温10min,灭酶,离心(4500r/min, 15min),取上清液冻干,得到番茄籽蛋白粉(TSPH)储存在-20℃冰箱中备用。

表1 不同蛋白酶的水解条件

Table 1 Hydrolysis conditions of different proteases

酶类型	温度(℃)	pH	时间(h)	1/α	E/S(w/w)
碱性蛋白酶	55	8.5	4	1.04	1/100
木瓜蛋白酶	50	6.5	4	5	1/100
风味蛋白酶	50	7	4	2.27	1/100
中性蛋白酶	50	7	4	2.27	1/100
胰蛋白酶	43	8	4	1.2	1/100

1.2.4 番茄籽分离蛋白的制备 番茄籽粉碎后,过60目筛,筛下物用石油醚浸提脱脂。脱脂番茄籽粉用蒸馏水(1:20, w/v)分散,用1mol/L NaOH溶液调节pH至8.5,在50℃下保温30min,期间滴加NaOH溶液以维持pH,离心(4800r/min, 10min),收集上清液。用1mol/L HCl溶液调节该上清液pH至4.5,4℃冰箱冷沉20min后,离心(4800r/min, 15min),弃上清液,沉淀经两次水洗后,冷冻干燥,得到的番茄籽分离蛋白。

1.2.5 测定方法

1.2.5.1 水解度的测定 采用pH-stat法^[13],根据实验过程中为维持酶解液pH稳定而加入的碱的量计算DH:

$$DH(\%) = \frac{h}{h_{tot}} \times 100 = \frac{BN_b}{\partial h_{tot} M_p} \times 100$$

式中,B:水解过程中维持pH不变消耗的NaOH量,mL;N_b:NaOH的摩尔浓度,mol/gL;h_{tot}:蛋白中肽键总数。

h_{tot}可根据氨基酸组成计算出,计算式为^[14]:

$$\text{肽键毫摩尔数} = \frac{\text{每百克脱脂样中所含氨基酸克数}}{\text{氨基酸相对分子质量}}$$

$$h_{tot} = \frac{\text{总肽键毫摩尔数}}{\text{每百克脱脂样中所含蛋白质克数}} (\text{mmol/g})$$

式中,番茄籽蛋白的h_{tot}为7.59;M_p:蛋白质的质量(N×6.25),g;α:氨基解离度。

1.2.5.2 蛋白回收率的测定 采用凯氏定氮法(GB 5009.5-2010, N×6.25)测定番茄籽粕中的蛋白含量,福林酚法测定酶解物上清液中的蛋白含量,上清液蛋白质量与番茄籽原料中蛋白质量的比值即为蛋白回收率^[15],其计算式为:

$$\text{蛋白回收率}(\%) = \frac{\text{酶解液中的蛋白质量}}{\text{原料中的蛋白质量}} \times 100$$

1.2.5.3 表面疏水性的测定 采用荧光探针ANS法^[16]测定表面疏水性。用磷酸缓冲液(0.01mol/gL, pH7.0)配制0.05%(w/v)的蛋白质溶液,用高速分散机(12000r/min)均质1min后,再用上述磷酸缓冲液逐步稀释至浓度在0.005%~0.025%之间。取不同浓度样品2mL,测定各浓度蛋白质的荧光强度(FI₀),再分别加入8mmol/L的ANS溶液20μL。涡旋振荡5s,避光静置10min,然后测定添加ANS溶液的样品的荧光强度(FI₁)。激发波长λ_{ex}=390nm,发射波长λ_{em}=470nm。FI₁与FI₀的差值记为FI,以荧光强度FI为纵坐标,蛋白质浓度为横坐标作图,其斜率即为番茄籽蛋白分子的

表面疏水性 H_o 。以番茄籽分离蛋白作对照。

1.2.5.4 溶解性 参照Bera & Mukherjee报道的方法^[17],稍作改动。用去离子水配制0.1%的样品溶液,用1mol/L HCl或NaOH溶液调节该样品溶液pH(3.5~11.5)后,离心(5000r/min, 15min),取适量上清液,以去离子水补足至1mL,按福林酚法测定上清液中的蛋白质含量。以番茄籽分离蛋白作对照。

$$\text{溶解性}(\%) = \frac{\text{上清液中蛋白质质量}}{\text{样品中蛋白质质量}} \times 100$$

1.2.5.5 乳化及乳化稳定性^[18] 采用比浊法测定样品的乳化活性(EAD)和乳化稳定性(ESD)。在圆底离心管中加入16mL 0.1%的样品溶液和4mL大豆油,用匀浆机以12000r/min高速剪切1min,立即用移液枪从底部0.5cm处取乳状液50 μ L,加入5mL 0.1% SDS(w/v)溶液稀释,涡旋振荡混匀,在500nm波长处测吸光值 A_0 , 10min后再取50 μ L,用SDS溶液稀释后测定其吸光值 A_{10} 。以番茄籽分离蛋白作对照。

$$\text{乳化活性指数: EAI}(\text{m}^2/\text{g}) = \frac{2 \times 2.303}{C \times (1 - \varphi) \times 10^4} \times A_0 \times D$$

$$\text{乳化稳定性指数: ESI}(\%) = \frac{A_{10}}{A_0} \times 100$$

式中,C: 样品溶液浓度(g/mL); 0.001g/mL; φ : 油相所占体积分数(L/L)为0.20; D: 稀释倍数, 100。

2 结果与讨论

2.1 酶法水解

由图1可知,番茄籽蛋白在五种不同酶的作用下水解度变化过程相似,即水解度随反应时间增加而增加,当达到某点后增加速度变慢。最初30min内,水解速度最快。从水解效率看,碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶对番茄籽蛋白的水解效率最高,在水解30min后水解度分别达到10.10%和7.34%,而后缓慢增加,酶解4h后DH分别为14.48%和13.09%。而中性蛋白酶对番茄籽蛋白的水解效率最低,水解4h后,水解度仅为3.77%。由此可得,对于番茄籽蛋白,若酶解时间相

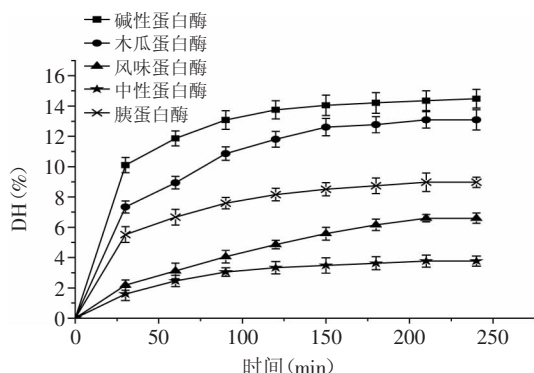


图1 不同蛋白酶酶解番茄籽蛋白过程中DH的变化

Fig.1 Changes in DH of tomato seed protein during hydrolysis with five different proteases

表2 酶解产物的化学组成及蛋白回收率

Table 2 Proximate composition and protein recovery

蛋白酶名称	碱性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶	中性蛋白酶	胰蛋白酶
蛋白回收率(%)	59.66±1.13	81.12±2.13	46.95±1.24	47.11±1.47	63.71±2.41

同,所加酶量也相等时,碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶所得酶解液的水解度更高,即番茄籽蛋白的肽链更容易在这两种酶的作用下裂解。

2.2 蛋白回收率

酶解过程复杂,影响酶解效果的因素很多。从经济角度看,酶解物的产量是重点考虑因素之一。由表2可知,木瓜蛋白酶水解得到的酶解物蛋白回收率最高,其次就是胰蛋白酶。酶解番茄籽蛋白还可在酶解前通过热处理、超声波处理等预处理手段来提高蛋白质回收及酶解液性能,这些预处理手段已有效改善了其他蛋白酶解效果,但对番茄籽蛋白酶解的作用还需进一步研究。

2.3 表面疏水性

蛋白表面疏水性反映了疏水基团和极性溶液环境结合的数目,表达了分子间相互作用的能力^[19]。由图2可知,与番茄籽分离蛋白的表面疏水值(7470.2)相比,番茄籽蛋白酶解物的表面疏水值显著降低。这可能是因为蛋白质经蛋白酶水解后,裂解成分子较小的肽链及自由氨基酸,小肽链所含的疏水基团可能比大分子少,也可能是在水解过程中部分疏水基团被改性,使其表面疏水性减小^[20]。番茄籽蛋白酶解物因使用的酶不同,表面疏水值有较大不同,由中性蛋白酶水解得到的酶解物其疏水值最大,而由碱性蛋白酶水解产物的疏水值最小,从水解度方面看,中性蛋白酶对TSPI的水解度最低,碱性蛋白酶最高,所以有可能是因为碱性蛋白酶水解物含的小分子肽链及自由氨基酸更多,表面疏水基团少,导致表面疏水值下降幅度大。另一方面,蛋白质受蛋白酶的作用,分子结构发生变化,原来埋藏在分子内部的疏水基团暴露,中性蛋白酶水解物的表面疏水性较大有可能是因为释放了更多的疏水基团及不带电氨基酸^[21]。也可能是不同酶解物在pH7.0及10mmol/L PBS缓冲液(表面疏水

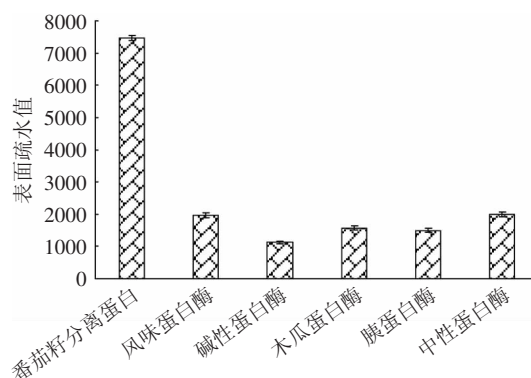


图2 番茄籽分离蛋白及不同蛋白酶制备的番茄籽蛋白肽的表面疏水性

Fig.2 Surface hydrophobicity of tomato seed protein isolate and tomato seed protein hydrolysates prepared using five different proteases

性的测定环境中适应性不同,从而形成不同的构象,为维持这些构象,使得或多或少的疏水基团暴露于水相中^[15]。蛋白酶与蛋白相互作用,松散的肽链更易被酶作用而被水解。酶的本质是蛋白质,也可能含亲水/疏水氨基酸,它们与肽链相互作用形成酶-肽复合物。此外,酶与肽链之间亲水/疏水基团数量的平衡亦会影响酶的催化效果,进而导致不同酶解物疏水性不同^[21]。

2.4 溶解性

蛋白质的溶解性是蛋白最重要的功能性质之一,也是蛋白应用性的一大重要衡量指标。有报道说溶解性与亲水性氨基酸直接相关,而与表面疏水性不一定相关^[22]。由图3可知,各酶解物的溶解度都随pH升高而增大,且在大于pH4.5的环境中都有较好的溶解性(>60%)。而番茄籽分离蛋白在pH小于8的环境中,溶解度不足20%,在pH11.5的环境中,溶解度也只达到了40.83%。由此可见,酶解后的番茄籽蛋白的溶解性有了显著提高($p < 0.05$)。在实验所测pH范围内,由中性蛋白酶制备的酶解物溶解性最低,这可能与其水解度低有关(图1)。由此可推测,蛋白酶解物的溶解性较好,可能是因为大分子蛋白在酶的作用下裂解,分子量减小,形成了分子量较小,有较多亲水基团且更容易溶解的多肽链片段,亲水性氨基酸的贡献也不容忽视。

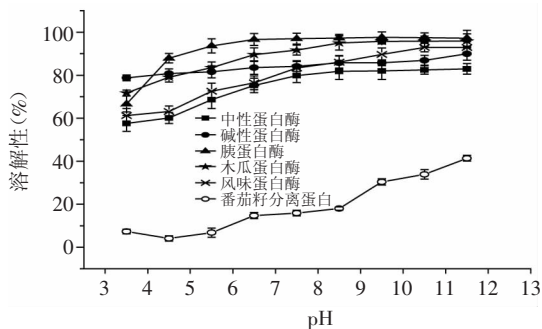


图3 番茄籽分离蛋白及不同蛋白酶制备的番茄籽蛋白肽的溶解性

Fig.3 Protein solubility of tomato seed protein isolate and tomato seed protein hydrolysates prepared using five different proteases

2.5 乳化性(EAI)及乳化稳定性(ESI)

EAI的理论依据是蛋白乳化液的浊度与乳化液微粒的界面(蛋白质在油-水界面的吸附、扩散和稳定形成的界面)面积存在线性相关性。ESI与时间和乳化液粒径有关,粒径越小则乳化液稳定性越好。

图4中A图和B图分别反映了不同番茄籽蛋白酶解物在pH7.0的EAI和ESI。

由图4可知,与番茄籽分离蛋白的EAI(4.68 ± 0.22)相比,各酶解物的EAI均有不同程度的提高,除中性蛋白酶与碱性蛋白酶所制备的酶解物的ESI比番茄籽分离蛋白的ESI(87.60 ± 4.33)有所降低外,其他酶解物的ESI均高于90%。中性蛋白酶和碱性蛋白酶作用得到的番茄籽蛋白酶解物的乳化活性指数和乳化稳定性指数都较小,且其水解度分别为3.77%和14.48%。酶解改变了蛋白质的结构,使一些原先包裹

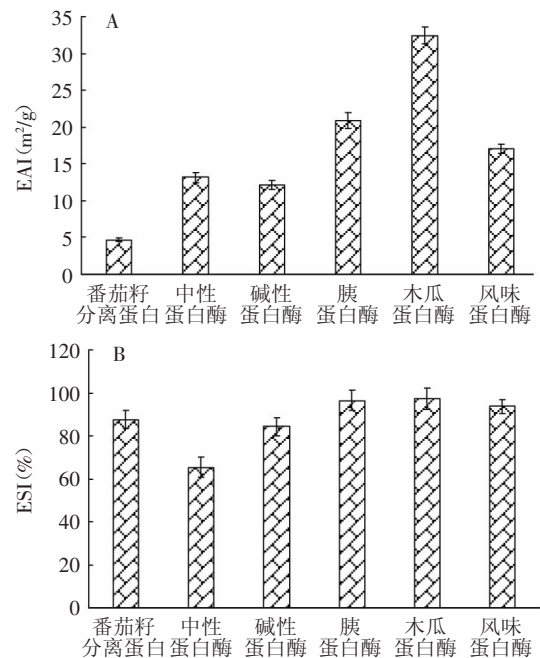


图4 番茄籽分离蛋白及不同蛋白酶制备的番茄籽蛋白肽的乳化活性指数(A)和乳化稳定性指数(B)

Fig.4 Emulsifying activity index (A) and emulsifying stability index (B) of tomato seed protein isolate and tomato seed protein hydrolysates prepared using five different proteases

在蛋白分子内部的疏水基团在酶解后暴露出来,疏水性增加,蛋白更快更多地吸附于油水界面,从而提高其乳化能力。所以水解度过小时,乳化能力较小。但过度水解可能会裂解生成过多的小肽,小肽虽能在界面上自由的移动和吸附,但不能像大分子蛋白质一样在界面上展开并且适应界面张力,所以水解度过大时,乳化性反而下降。木瓜蛋白酶作用得到的酶解产物的EAI和ESI值都是最高的,其次是胰蛋白酶。而木瓜蛋白酶酶解产物溶解性也比其他酶解物高,其次是胰蛋白酶水解物。从实验结果可知,EAI和ESI值与溶解度有一定关系,可能是因为蛋白质必须先溶解并移动到油水界面才具有乳化作用^[23]。

3 结论

不同蛋白酶水解番茄籽蛋白的规律相似,水解度随时间增加而提高,在前30min内水解速度最快。但各蛋白酶对番茄籽蛋白的水解能力不同,其中碱性蛋白酶水解能力最大,达14.48%。各水解物的蛋白回收率也不同,木瓜蛋白酶水解物的蛋白回收率最高,达81.12%。

不同蛋白酶制备的番茄籽蛋白水解物功能特性不同。与番茄籽分离蛋白相比,番茄籽蛋白水解物的表面疏水值降低而溶解性和乳化性都有提高。在各酶解物中,中性蛋白酶水解物表面疏水性最高,达1998.7。各酶解物的溶解性还受环境pH的影响,在pH3.5~11.5范围内,溶解度随pH增大而增大,当pH>4.5时溶解度均大于60%,且胰蛋白酶水解物溶解性最好,可达97%。木瓜蛋白酶水解产物乳化性能最好,可达32.45m²/g,乳化稳定性达97.3%。

(下转第209页)

apple purée product[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010, 11(4): 557-564.

[18] OEY I, LILLE M, VAN LOEY A, et al. Effect of high-pressure processing on colour, texture and flavour of fruit and vegetable-based food products: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2008, 19(6): 320-328.

[19] 凌关庭. 有“第七类营养素”之称的多酚类物质[J]. 中国食品添加剂, 2000, 11(1): 28-37.

[20] 李福枝, 刘飞, 曾晓希, 等. 天然类胡萝卜素的研究进展[J]. 食品工业科技, 2007, 28(9): 227-232.

[21] BULL M K, ZERDIN K, HOWE E, et al. The effect of high pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of valencia and navel orange juice[J]. Innovative Food

Science and Emerging Technologies, 2004, 5(2): 135-149.

[22] BUTZ P, EDENHARDER R, FERNANDEZGARCIA A, et al. Changes in functional properties of vegetables induced by high pressure treatment[J]. Food Research International, 2002, 35(2-3): 295-300.

[23] JACOBO-VELÁZQUEZ D A, HERNÁNDEZ-BRENES C. Stability of avocado paste carotenoids as affected by high hydrostatic pressure processing and storage[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2012, 16(10): 121-128.

[24] LIU F, WANG Y, LI R, et al. Effects of high hydrostatic pressure and high temperature short time on antioxidant activity, antioxidant compounds and color of mango puree[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2014, 22(21): 35-43.

(上接第192页)

参考文献

[1] Liadakis G N, Tzia C, Oreopoulou V, et al. Protein isolation from tomato seed meal, extraction optimization[J]. Journal of Food Science, 1995, 60(3): 477-482.

[2] 联合国粮农组织数据库[DB/OL]. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>, 2012/2014-6-24.

[3] Lazos E S, Kalathenos P. Technical note: Composition of tomato processing wastes[J]. International Journal of Food Science & Technology, 1988, 23(6): 649-652.

[4] Sogi D S, Sidhu J S, Arora M S, et al. Effect of tomato seed meal supplementation on the dough and bread characteristics of wheat (PBW 343) flour[J]. International Journal of Food Properties, 2002, 5(3): 563-571.

[5] Majzoobi M, Ghavi F S, Farahnaky A, et al. Effect of tomato pomace powder on the physicochemical properties of flat bread (Barbari bread)[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2011, 35(2): 247-256.

[6] Ekthamasut K. Effect of tomato seed meal on wheat pasting properties and alkaline noodle qualities[J]. Australian Journal of Technology, 2006, 9: 147-152.

[7] Liadakis G N, Tzia C, Oreopoulou V, et al. Isolation of tomato seed meal proteins with salt solutions[J]. Journal of Food Science, 1998, 63(3): 450-453.

[8] Sogi D S, Garg S K, Bawa A S. Functional properties of seed meals and protein concentrates from tomato-processing waste[J]. Journal of Food Science, 2002, 67(8): 2997-3001.

[9] Sogi D S, Arora M S, Garg S K, et al. Fractionation and electrophoresis of tomato waste seed proteins[J]. Food Chemistry, 2002, 76(4): 449-454.

[10] 陈升军, 熊华, 李庭, 等. 米渣蛋白酶解及酶解物功能性研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(5): 114-118.

[11] 张然, 严文慧, 齐斌. 核桃蛋白酶解产物的特性研究[J]. 食品科学, 2011, 32(1): 23-26.

[12] 孔祥珍, 周惠明, 钱海峰. 小麦面筋蛋白酶解物的制备及其功能性研究[J]. 中国农业科学, 2006, 39(3): 593-598.

[13] Rosenthal A, Pyle D L, Niranjana K, et al. Combined effect of operational variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil and protein from soybean[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001, 28(6): 499-509.

[14] 谢丽蒙, 程凡升, 袁瑾, 等. 食源性蛋白质水解度常数 htot 值的测定[J]. 氨基酸和生物资源, 2013, 35(1): 15-18.

[15] Zhao Q, Xiong H, Selomulya C, et al. Enzymatic hydrolysis of rice dreg protein: Effects of enzyme type on the functional properties and antioxidant activities of recovered proteins[J]. Food Chemistry, 2012, 134(3): 1360-1367.

[16] Kato A, Nakai S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure, 1980, 624(1): 13-20.

[17] Bera M B, Mukherjee R K. Solubility, emulsifying, and foaming properties of rice bran protein concentrates[J]. Journal of Food Science, 1989, 54(1): 142-145.

[18] Pearce K N, Kinsella J E. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1978, 26(3): 716-723.

[19] Wu W U, Hettiarachchy N S, Qi M. Hydrophobicity, solubility, and emulsifying properties of soy protein peptides prepared by papain modification and ultrafiltration[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1998, 75(7): 845-850.

[20] Yuan D, Yang X, Tang C, et al. Physicochemical and functional properties of acidic and basic polypeptides of soy glycinin[J]. Food Research International, 2009, 42(5): 700-706.

[21] Longo M A, Combes D. Influence of surface hydrophilic/hydrophobic balance on enzyme properties[J]. Journal of Biotechnology, 1997, 58(1): 21-32.

[22] Trevino S R, Scholtz J M, Pace C N. Amino acid contribution to protein solubility: Asp, Glu, and Ser contribute more favorably than the other hydrophilic amino acids in RNase Sa[J]. Journal of Molecular Biology, 2007, 366(2): 449-460.

[23] 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: 311-318.