

复合蛋白酶法制备玉米胚蛋白多肽及其抗氧化活性研究

李艳娟, 李书国

(河北科技大学 生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050018)

摘要:利用复合酶(碱性蛋白酶:木瓜蛋白酶=1:1)酶解玉米胚蛋白制备蛋白多肽,在单因素实验的基础上,采用 Box - Behnken 设计响应面法,以蛋白多肽的还原力为检测指标,优化酶解条件。确定玉米胚蛋白的最佳酶解条件为:加酶量 9 200 IU/g,底物浓度 11%,酶解时间 188 min,在此条件下测定的还原力为 0.229。将玉米胚蛋白多肽添加到面条中,考察其在面条中的抗氧化防褐变能力,并与抗坏血酸的添加效果进行对比。结果表明,玉米胚蛋白多肽粉添加到面条中具有防褐变的作用,添加量为 0.9% 时对鲜面条褐变速率的抑制作用最强,与添加抗坏血酸的效果相当。此外质构仪分析(TPA)实验结果表明,在面条中添加 0.9% 的玉米胚蛋白多肽粉,对面条的硬度、弹性有一定程度的改善作用。

关键词:玉米胚蛋白;蛋白多肽;酶解;抗氧化活性

中图分类号:TS 213.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1007 - 7561(2015)02 - 0073 - 06

Preparation of corn germ protein polypeptide by compound protease hydrolysis and its antioxidant activity

LI Yan - juan, LI Shu - guo

(College of Bioscience & Bioengineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018)

Abstract: The corn germ protein polypeptides (CGPP) were prepared from protein of corn germ by compound enzyme (alkaline proteases:papain = 1:1). The reducibility of polypeptides was selected as a detecting index and the conditions of enzymatic hydrolysis were optimized by response - surface method designed by Box - Behnken on the basis of single factor experiment. The optimum enzymolysis conditions of the corn germ protein were determined: protease dosage 9 200 IU/g, substrate concentration 11% and hydrolysis time 188 min. The reducibility of polypeptides of corn germ protein was 0.229 under the optimal conditions. The polypeptide was added to the noodles to check its ability of oxidation resistance, anti - browning, compared with the effect of ascorbic acid. The results showed that polypeptides of corn germ protein can effectively anti - browning in the storage of fresh noodles. When the additive amount was 0.9%, the effect of anti - browning was the same as ascorbic acid. TPA test results showed that adding 0.9% corn germ protein polypeptides into the noodles can improve its hardness and flexibility to a certain extent.

Key words: protein of corn germ; protein polypeptide; enzymatic hydrolysis; antioxidant activity

生物活性肽是天然氨基酸以不同排列组合方式构成的从二肽到复杂的线性或环形结构的不同肽类的总称,生物活性肽的分子量不同,其活性也不相同。生物活性肽一般由 2~6 个氨基酸组成,是分子

量集中在 200~1 000 的低聚肽混合物^[1]。张鸣镛等^[2]通过研究表明,玉米胚蛋白酶解物能显著提高正常小鼠的免疫脏器指数,增强腹腔巨噬细胞的吞噬百分率、吞噬指数和淋巴细胞的转化功能活性、促进溶血素的形成。表明玉米胚蛋白酶解物能提高机体的免疫功能,是一种很好的非特异性免疫激活剂。张强^[3]等通过研究表明玉米抗氧化肽对 O_2^- 和 $\cdot OH$ 的清除作用强于其它抗氧化剂。

收稿日期:204 - 08 - 14

基金项目:河北科技大学大学生科技创新项目(20100126)

作者简介:李艳娟,1991 年出生,女,河北魏县人,硕士研究生。

通讯作者:李书国,1969 年出生,男,河北景县人,博士,教授。

本文旨在利用复合蛋白酶对玉米胚蛋白进行水解制备玉米胚蛋白多肽(Corn Germ Protein Peptide, CGPP),以玉米胚蛋白多肽的还原力为指标,用响应面法优化酶解条件,研究其抗氧化活性。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

玉米胚,河北邢台平安糖业公司;玉米胚蛋白粉(蛋白质含量为80%),实验室自制;小麦粉,石家庄益海粮油工业有限公司;木瓜蛋白酶(50万IU/g)和碱性蛋白酶(20万IU/g),北京索莱宝科技有限公司;氢氧化钠,天津市大陆化学试剂厂;磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、铁氰化钾、三氯化铁、三氯乙酸,天津博迪化工股份有限公司。

1.2 主要仪器设备

FA2204N型电子天平,上海菁海仪器有限公司;KQ2200型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;HH-4型智能数显恒温水浴锅,巩义市予华仪器有限责任公司;SP-722E型可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司;TGL-10B型高速离心机,上海安亭科技仪器厂;XT2i/5型质构仪(HDP/PFS型探头),英国stable micro system公司;WGB-2000型智能白度仪,浙江光学仪器制造有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 玉米胚蛋白粉的酶解

称取一定量的玉米胚蛋白粉置于锥形瓶中,加入10 mL蒸馏水,用0.5 mol/L的NaOH调其pH,然后加入适量复合蛋白酶,在恒温条件下水解一定时间。

1.3.2 灭酶

玉米胚蛋白酶解完成后,置于90℃热水中,轻轻震荡加热5~10 min,然后放入冷水中冷却至室温,备用^[4]。以下实验所用酶解液均为灭酶的酶解液。

1.3.3 水解度的测定

水解过程中,用一定浓度的NaOH溶液将体系的pH值保持设定值,并记录碱液的消耗总量。按下式计算出水解度^[5]。

$$DH = \frac{B \times N_b}{a \times M_p \times hta} \times 100\%$$

式中: B —碱液的体积,mL; N_b —碱液的浓度,mol/L; α —氨基酸的解离度; M_p —底物中蛋白总量;hta—底物中蛋白质中肽键的总数,mmol/g。对玉米胚芽蛋白而言,hta为7.75。

1.3.4 玉米胚蛋白多肽还原力的测定

通过测定玉米胚蛋白多肽的还原力来说明其抗氧化活性强弱。取酶解液1.0 mL,加入2.5 mL 0.2 mol/L的磷酸缓冲液(pH 6.6)调节其pH值,再加入1.0%的铁氰化钾溶液2.5 mL,摇匀。将该混合物置于50℃水浴中反应20 min,然后加入2.5 mL

10%的三氯乙酸溶液,混合后用5 000 r/min离心10 min,取上清液2.5 mL,加入2.5 mL蒸馏水和1 mL 0.1% FeCl₃溶液并混合均匀,静置10 min,在700 nm处测定吸光值A,吸光值越大,还原力越强^[6]。以吸光度值表示还原力的大小。

1.3.5 玉米胚蛋白多肽的脱苦

将活性炭置于125℃的烘箱中,烘烤4 h后取出。称取20%的活性炭放于酶解液中,在40℃温度下搅拌30 min脱苦(实验证明该脱苦条件对CGPP的还原力影响较小)^[7]。脱苦后将溶液高速离心,将活性炭分离除去。

1.3.6 面条的制备方法

准确称量5份10 g的小麦粉,一份中加入10 mL水、2 mL酶解液,一份中加入8 mL水、3 mL酶解液,一份中加入7 mL水、4 mL酶解液,一份中加入6 mL水、0.01 g抗坏血酸,最后一份中加入10 mL水(对照)。混合均匀,揉成光滑面团,成熟15 min,利用家用压面机的光滑压辊压延三次,最后成2 mm厚面片,最后切成2 cm宽的面条。

1.3.7 面条的质构仪分析(TPA)实验

先设定质构仪TPA实验的实验前速1 mm/s,实验中速5 mm/s,返回速度5 mm/s,挤压程度为75%,感应力2 g。将面条置于球形探头正下方,可轻轻移动面条进行重复测定。每个样品平行测定6次,取4组相近数值求平均值。

1.3.8 面条褐变速率的测定

将新做好的面条切成合适的形状,立即装入保鲜袋中,用智能白度仪每隔0.5 h测定一次面条的白度(白度是指距离理想白色的程度。白度值越大说明防褐变程度越大),每个样品白度值均平行测定3次,取其平均值作为样品的白度值,连续测定5 h^[8]。

2 结果与分析

2.1 玉米胚蛋白酶解的单因素实验

根据玉米胚蛋白的特点,选定碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶(碱性蛋白酶:木瓜蛋白酶=1:1)进行复配,作为蛋白水解酶。

2.1.1 酶解温度对水解度和CGPP还原力的影响

在pH值为10、加酶量为8 000 IU/g玉米胚蛋白粉、底物浓度为10%、酶解时间为3 h的条件下,考察酶解温度分别为40、50、60、70℃时,玉米胚蛋白的水解度和CGPP的还原力,结果如图1所示。

由图1可知,蛋白质的水解度和CGPP还原力均是随着温度的升高先逐渐升高,达到60℃后,水解度和还原力随着温度的升高逐渐降低,其原因可能是随着温度的升高,逐渐达到蛋白酶的最适酶解温度,活性达到最大;温度继续升高,蛋白酶的活

性开始下降,表现为蛋白质的水解度也随之下降。水解度增大,具有生物活性的短肽浓度越大;温度继续升高,水解度开始减小,CGPP的浓度逐渐减少,也可能由于温度过高使部分酶失活,还原力在60℃达到最大后逐渐下降。

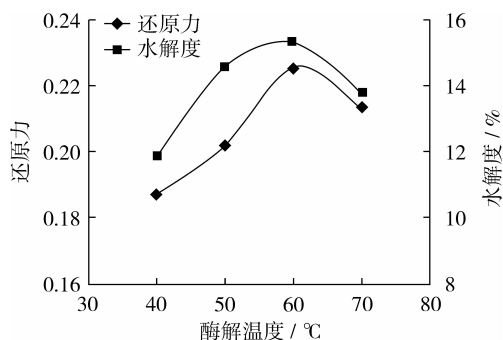


图1 酶解温度对还原力和水解度的影响

2.1.2 pH 值对玉米胚蛋白水解度和 CGPP 还原力的影响

在酶解温度为60℃、加酶量为8 000 IU/g玉米胚蛋白粉、底物浓度为10%、酶解时间为3 h的条件下,考察pH分别为8、9、10、11时,玉米胚蛋白的水解度和CGPP的还原力,结果如图2所示,随着pH的逐渐升高,蛋白水解度和CGPP还原力均是先增加,在pH达到10后,水解度和还原力开始下降。主要原因可能是随着pH值逐渐升高,复合蛋白酶的活性越来越高,10为其最适pH值,继续升高pH则造成了蛋白酶的活性降低甚至失活。当pH大于10时,酶的构象会发生变化,酶会失活^[9],所以还原力会下降。

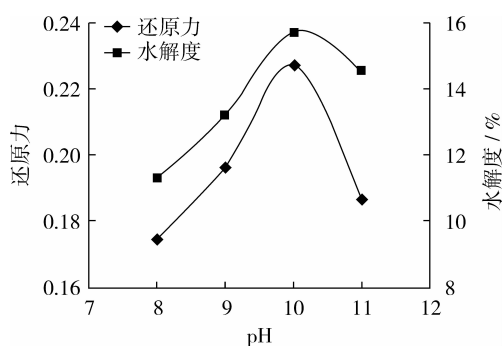


图2 pH对还原力和水解度的影响

2.1.3 加酶量对水解度和 CGPP 还原力的影响

在pH值为10、酶解温度为60℃、底物浓度为10%、酶解时间为3 h的条件下,考察加酶量分别为4 000 IU/g玉米胚蛋白粉、8 000 IU/g玉米胚蛋白粉、12 000 IU/g玉米胚蛋白粉、16 000 IU/g玉米胚蛋白粉时,玉米胚蛋白的水解度和CGPP的还原力,测定结果如图3所示。

由图3得,水解度和还原力随着加酶量的增加

先增加,当酶用量达到8 000 IU/g时,水解度和还原力达到最大,然后随着酶量的增加两者逐渐减少。因为随着酶用量的增大,酶的活性基团增多,加剧了酶解反应。加酶量继续增大,则可能导致酶的活性基团过多,没有结合位点而浪费,甚至影响到正常的反应;而加入过多的酶也可能造成玉米胚蛋白活性肽的过度水解而破坏其抗氧化活性,造成还原力在达到一定值后出现下滑^[10]。

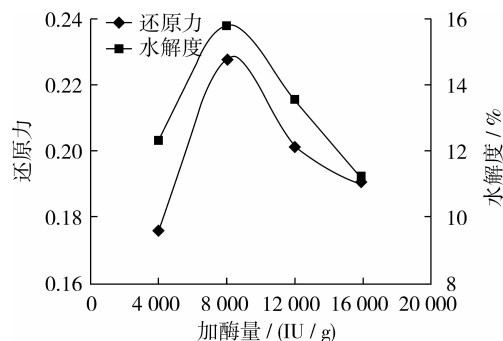


图3 加酶量对还原力和水解度的影响

2.1.4 底物浓度对水解度和酶解液还原力的影响

在pH值为10、酶解温度为60℃、加酶量为8 000 IU/g玉米胚蛋白粉、酶解时间为3 h的条件下,考察底物浓度分别为5%、10%、15%、20%时,玉米胚蛋白的水解度和CGPP的还原力,测定结果如图4所示。

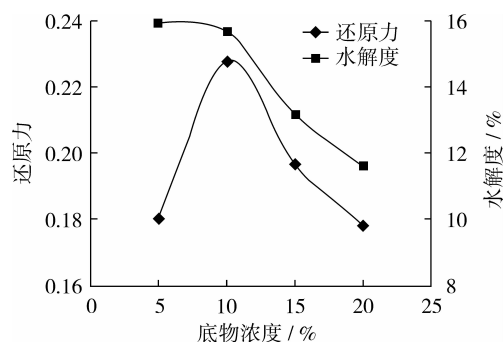


图4 底物浓度对还原力和水解度的影响

底物浓度逐渐升高时,胚芽蛋白的水解度逐渐降低,这是因为底物浓度逐渐增大,在加酶量一定的情况下,可以与酶结合的蛋白基团比例下降,只有越来越少的蛋白参与了酶解反应,所以水解度逐渐下降;当底物浓度为5%时,CGPP的还原力较低,可能由于酶的比例相对较高,造成部分蛋白质的过度水解,影响了酶解产物的活性。底物浓度由5%逐渐升高至10%,还原力呈直线上升状态,当底物浓度超过10%后还原力逐渐下降,一方面因为底物浓度增大,在一定程度上阻碍了蛋白质分子在水中的游离分散,进而影响酶解反应,另一方面由于酶的比例下降,部分蛋白质的酶解反应可能不够彻底。因此,最适底物浓度为10%。

2.1.5 酶解时间对水解度和 CGPP 还原力的影响

在 pH 值为 10、酶解温度为 60 ℃、加酶量为 8 000 IU/g 玉米胚蛋白粉、底物浓度为 10% 的条件下,考察酶解时间分别为 2、3、4、5 h 时,玉米胚蛋白的水解度和 CGPP 的还原力,测定结果如图 5 所示。

随着酶解时间的增加,水解度呈持续上升状态,但在 3 h 后,水解度增加趋势渐缓,这是因为随着酶解过程的进行,蛋白酶酶切位点逐渐减少,水解速度下降,小分子肽生成速度也减少^[11]。CGPP 的还原力则先增大后减小,在 3 h 时有最大值,可能因为时间过长,造成部分玉米胚活性肽过度水解而失活。

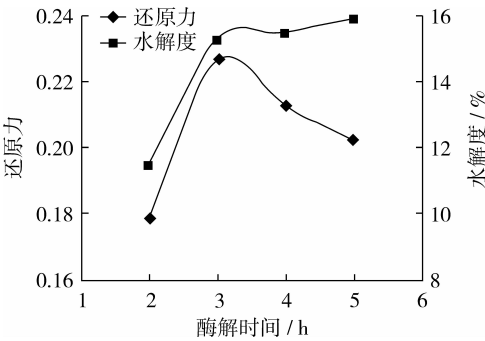


图 5 酶解时间对还原力和水解度的影响

2.2 响应面法优化实验

2.2.1 响应面设计方案及结果

根据以上结果,玉米胚蛋白的水解度和 CGPP 的还原力的变化趋势基本一致,故根据 Box - Benhnken 的中心组合实验设计原理,选择 CGPP 的还原力为优化指标,又由于温度和 pH 范围相对较窄,单因素实验选定最佳值后,与其它因素的交互作用不明显,故选取加酶量、底物浓度和酶解时间作为响应面实验的因素,进行三因素三水平实验(表 1),其结果见表 2。

表 1 响应面影响因素及水平

因素水平	A	B	C
	加酶量/(IU/g)	底物浓度/%	酶解时间/h
-1	4 000	5	2
0	8 000	10	3
1	12 000	15	4

表 2 响应面分析的实验设计和结果

序列号	A	B	C	还原力
1	1	-1	0	0.207
2	0	1	-1	0.188
3	0	0	0	0.228
4	0	0	0	0.228
5	0	0	0	0.228
6	0	0	0	0.228
7	-1	0	1	0.182
8	1	1	0	0.212
9	-1	0	-1	0.179
10	1	0	-1	0.192
11	0	-1	1	0.182
12	1	0	1	0.201
13	-1	1	0	0.196
14	0	0	0	0.228
15	0	-1	-1	0.179
16	-1	-1	0	0.189
17	0	1	1	0.201

利用 Design - Expert7. 1. 3 软件进行实验结果的数据分析,二次回归拟合得到还原力对编码自变量加酶量、底物浓度、酶解时间的二次多项回归方程: $R_1 = 0.23 + 8.25 \times 10^{-3} A + 5.0 \times 10^{-3} B + 3.5 \times 10^{-3} C - 5.0 \times 10^{-4} AB + 1.5 \times 10^{-3} AC + 2.5 \times 10^{-3} BC - 0.013A^2 - 0.014B^2 - 0.027C^2$,回归方程显著性检验、方差分析及最佳点值分析结果见表 3。

从表 3 的分析结果来看,整体模型的“Prob > F”值小于 0.05,表明该方程模型回归显著,模型的相关系数 $R^2 = 0.9057$,调整确定系数 (Adj R - Squared) 为 0.9865,说明该模型能解释 98.65% 响应值的变化,因而该模型拟合程度良好,实验误差小,可以用此模型对玉米胚蛋白的酶解进行分析和预测。回归方程各项的方差分析结果还表明:A、B、C、 A^2 、 B^2 、 C^2 为显著性影响因素,其中一次项 A、B 对 CGPP 还原力的影响极显著 ($P < 0.01$);C 的影响显著 ($P < 0.05$);二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 的影响极显著 ($P < 0.01$);交互项 AB、BC、AC 对 CGPP 还原力的影响不显著 ($P > 0.05$)。

表 3 回归方程方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F 值	概率 > F	显著性
模型	5.8200×10^{-3}	9	6.467×10^{-4}	131.21	<0.0001	显著
A	5.445×10^{-5}	1	5.445×10^{-4}	110.48	<0.0001	显著
B	2.000×10^{-4}	1	2.000×10^{-4}	40.58	0.0004	显著
C	9.800×10^{-5}	1	9.800×10^{-5}	19.88	0.0029	显著
AB	1.000×10^{-6}	1	1.000×10^{-6}	0.20	0.6660	不显著
AC	9.000×10^{-6}	1	9.000×10^{-4}	1.83	0.2186	不显著
BC	2.500×10^{-5}	1	2.500×10^{-5}	5.07	0.0590	不显著
A^2	7.116×10^{-6}	1	7.116×10^{-6}	144.38	<0.0001	显著
B^2	8.253×10^{-4}	1	8.253×10^{-4}	167.44	<0.0001	显著
C^2	2.957×10^{-3}	1	2.957×10^{-3}	599.94	<0.0001	显著

续表

来源	平方和	自由度	均方	F 值	概率 > F	显著性
残差	3.450×10^{-5}	7	4.929×10^{-6}			
失拟项比 F 值	3.450×10^{-5}	3	1.150×10^{-5}			
绝对误差	0.000	4	0.000			
总和	5.854×10^{-3}	16				

注: $R^2=0.905\ 7$, Adj R-Squared = 0.986 5。

2.2.2 因素间的交互作用

根据回归方程,利用 Design-Expert7.1.3 软件作不同因子的响应面图,加酶量、底物浓度、酶解时间三个影响因素及其交互作用对 CGPP 还原力的影响见图 6~图 8。

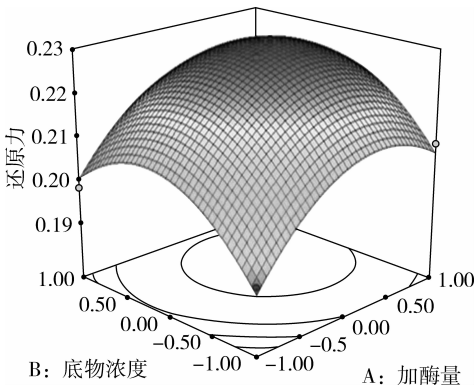


图 6 底物浓度和加酶量的交互作用图

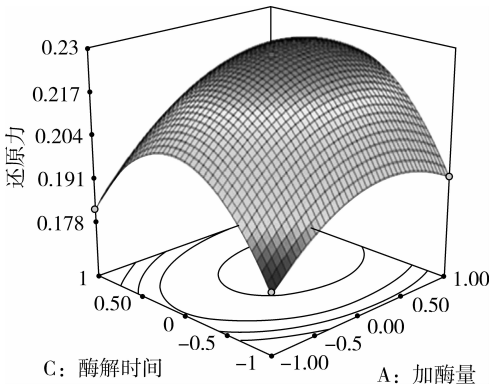


图 7 加酶量和酶解时间的交互作用图

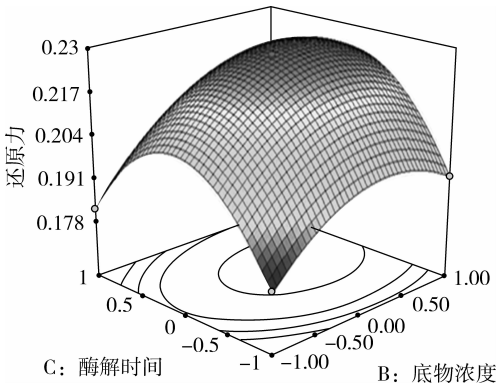


图 8 底物浓度和酶解时间的交互作用图

图 6~图 8 直观地反映了各因素对响应值的影

响,由曲面图的弯曲程度和等高线的封闭情况可以看出,交互作用的稳定点基本落在实验范围内,说明还原力的极值出现在实验数据范围内。极大值几乎都出现在同一水平上,结合方程中交互项的显著性分析,可知几因素间交互作用不显著。结合表 3,依据一次项回归系数绝对值的大小可知因素的主效应关系为:加酶量>底物浓度>酶解时间。

2.2.3 最优工艺条件的确定

为了确定玉米胚蛋白最佳酶解条件,通过软件 Design-Expert7.1.3 软件求解方程,得出了最优提取工艺条件为加酶量 9 274.9 IU/g、底物浓度 10.9%、酶解时间 3.1 h,预测还原力为 0.230。

为检验响应面法所建立的数学模型的可靠性,采用上述最优提取条件进行酶解试验,同时考虑到实际操作的便利,将实验条件修正为加酶量 9 200 IU/g、底物浓度 11%、酶解时间 188 min,进行 3 次重复试验,实际测得 CGPP 的还原力为 0.229,与理论值相对偏差为 2.6% (<5%),在 95% 置信区间内。因此,采用响应面法优化得到的玉米胚蛋白酶解数据准确可靠,具有使用价值。

2.4 CGPP 在面条中的应用研究

2.4.1 CGPP 对面条褐变速率的影响

将 CGPP 经脱苦后,添加到面条中,测试面条的白度,与添加抗坏血酸的面条进行对比,结果如表 4 所示。由表 4 可看出添加抗坏血酸和一定量 CGPP 均对面条褐变有一定的抑制与预防作用或对面条的白度提高有改善作用。其中 CGPP 添加量为 0.9% 时,其对白度(即防褐变效果)的影响与添加 0.1% 的抗坏血酸相当,为最佳添加量。

表 4 CGPP 对面条白度(防褐变速率)的影响 %										
组别	时间/h									
	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
空白对照组	41	39	37	35	34	33	32	32	31	30
CGPP(0.6%)	42	40	39	38	38	37	36	35	34	33
CGPP(0.9%)	44	43	42	41	40	40	39	38	37	36
CGPP(1.2%)	42	41	40	40	39	38	37	36	35	34
抗坏血酸(0.1%)	44	43	42	42	41	40	39	38	37	37

CGPP 具有防褐变的功效机制在于:一可能是许多氨基酸及其衍生物具有抗氧化能力,如半组氨酸、胱氨酸、酪氨酸、色氨酸、亮氨酸等,具供氢

能力的氨基酸如色氨酸和酪氨酸将氢原子给予自由基后,自身形成的自由基中间体苯氧自由基和吲哚自由基借助共振求得稳定,导致自由基链反应减慢或终止,从而达到抗氧化的效果;其二可能是酸性氨基酸侧链羧基与金属离子互作钝化金属离子的氧化作用,减弱自由基链反应,达到抗氧化效果;其三可能与肽链的构象有关,肽键或肽的构象对其组成氨基酸的抗氧化活性既有拮抗作用又有协同效应。

2.4.2 CGPP 对面条质构的影响

脱苦后的 CGPP 添加到面条中,进行 TPA 实验,图 9 和图 10 分别为空白对照组和 CGPP 添加量为 0.9% 时的测试结果图。在评价面条的品质时,硬度、弹性、粘性为重要指标。硬度为第一次压缩时的最大峰值;弹性是指样品经过第一次压缩以后能够恢复的程度,恢复的高度是在第二次压缩过程中测得的;粘性是指第一次压缩曲线到达零点到第二次压缩曲线开始之间的曲线的负面积,反映的是由于测试样品的粘着作用探头所做的功。由两图中可以看出,添加 CGPP 后的面条的硬度明显高于空白对照组,弹性和粘性也略好。

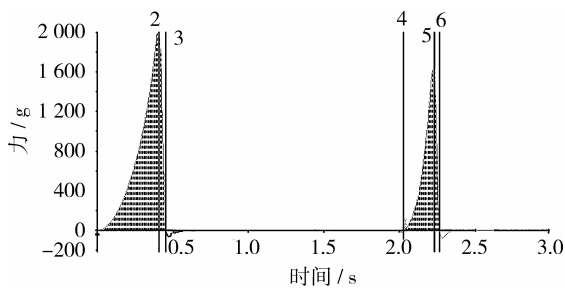


图 9 对照组的质构曲线

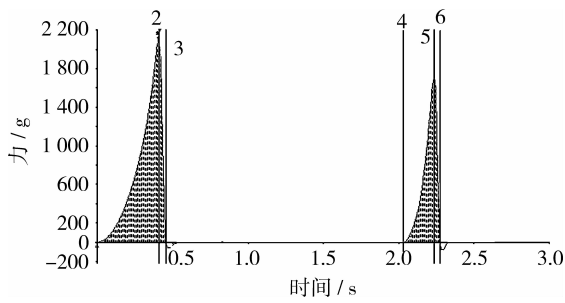


图 10 CGPP 添加(0.9%)组面条的质构曲线

分别对添加了不同量 CGPP 的面条进行测试,并与添加抗坏血酸的面条进行对比,结果见表 5。由表 5 可看出 CGPP 添加量为 0.9% 时,面条的硬度、弹性都较好,也就是说面条更有嚼劲、更劲道。所以就 TPA 实验测试结果来看,0.9% 是最佳添加量。在此添加量下,硬度、弹性都较抗坏血酸好。

表 5 TPA 测试结果

组别	硬度/g	粘度/(g·s)	弹性	粘结性	粘性	恢复性
空白	1 983.53	-3.88	0.50	0.482	954.12	0.21
CGPP(0.6%)	1 327.48	-1.98	0.487	0.463	623.38	0.2
CGPP(0.9%)	2 106.43	-2.66	0.508	0.467	979.83	0.20
CGPP(1.2%)	1 797.17	-3.888	0.494	0.481	864.175	0.22
抗坏血酸(0.1%)	1 886.83	-3.10	0.496	0.483	912.88	0.225

3 结论

相较于其他研究者使用单一的酶酶解玉米胚蛋白,本研究利用碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶双酶水解制备玉米胚蛋白多肽,水解速率较快,同时 CGPP 的还原力较好。采用响应面法优化酶解条件,最佳工艺条件为:加酶量 9 200 IU/g,底物浓度 11%,酶解时间 188 min,所得 CGPP 的还原力为 0.229。

将 CGPP 添加到鲜面条中,考察其防褐变效果,并做 TPA 试验。结果显示,CGPP 配料加入面条对鲜面条具有防褐变作用,添加量为 0.9% 时,对鲜面条防褐变速率的抑制作用最强,其效果与抗坏血酸相当。这是由于经酶解处理玉米胚蛋白被水解成蛋白肽,具有较好的还原力,能抑制小麦粉中多酚类物质氧化造成的褐变;同时 TPA 实验结果表明,添加 0.9% 的玉米胚蛋白多肽对面条的硬度、弹性有一定程度的改善作用,这与 CGPP 对面团的面筋结构形成的影响有关。

参考文献:

[1] 林峰,马勇,许亚光,等. 基于分子质量分布的食源性低聚肽品质评价[J]. 食品与发酵工业,2008,34(9):128-131.

[2] 张鸣镝,管晓,姚惠源,等. 玉米胚芽蛋白酶解物对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品科学,2007,28(20):73-77.

[3] 张强,阚国仕,陈红漫,等. 酶解玉米蛋白粉制备抗氧化肽[J]. 食品工业,2005(06):103-105.

[4] 刘志东,郭本恒,曲映红,等. 酪蛋白酶解物的抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2008,(20):19-23.

[5] 袁斌,吕桂善,刘小玲. 蛋白质水解度的简易测定方法[J]. 广西农业生物科学,2002,21(2):113-115.

[6] Cumby N, Zhong Y, Nacz M. Antioxidant activity and water-holding capacity of canola protein hydrolysates[J]. Food chemistry, 2008,109:144-148.

[7] 裴晓慧,张佳程,齐建勋. 核桃蛋白肽脱苦及其对 ACE 抑制活性的影响[J]. 食品工业科技,2012,33(20):236-239.

[8] 鲍宇如. 抗氧化剂对鲜面条褐变的影响研究[J]. 中国食物与营养,2009(8):46-49.

[9] 肖志刚,段玉敏,徐红华,等. 玉米胚芽肽酶的酶解工艺初步研究[J]. 食品工业科技,2008,29(1):178-180.

[10] 吴欣欣,胡二坤,崔慧娟,等. Alcalase 2.4L 酶解玉米蛋白水解产物抗氧化活性的研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2013,34(4):8-13.

[11] 陈雪梅,马兴胜,段善海,等. 酶法水解谷物胚芽蛋白研究[J]. 粮食与油脂,2002(11):2-4. 完