

荞麦蛋白的酶水解工艺条件研究^{*}

张国权¹, 丰 凡¹, 高 梅², 魏益民^{1,3}, 杨 康¹, 唐 菊¹

(1 西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100;

2 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100;

3 中国农业科学院 农产品加工研究所, 北京 100094)

[摘 要] 为确定木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白的最佳工艺条件, 以水解度(DH)为指标, 系统分析了pH、温度、酶用量、时间、底物浓度等5个因素对木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白的影响, 并在此基础上进行了二次回归正交旋转试验(4因素全面试验), 建立了木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白的数学模型。结果表明, 木瓜蛋白酶在底物浓度80 g/L、温度45℃、酶用量20 000 U/g、pH值7.0、反应时间为3 h时, 荞麦蛋白的水解度可达14.38%。各因素对荞麦蛋白水解的影响顺序依次为: 温度> pH值> 酶用量> 底物浓度。

[关键词] 荞麦蛋白; 木瓜蛋白酶; 水解条件; 工艺条件

[中图分类号] S517.099; TQ936.1⁺6 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2007)03-0188-07

Study on enzymatic hydrolysis condition to buckwheat protein by protease

ZHANG Guo-quan¹, FENG Fan¹, GAO Mei², WEI Yimin^{1,3}, YANG Kang¹, TANG Ju¹

(1 College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

3 Institute of Food Science and Technology, CAAS, Beijing 100094, China)

Abstract: In order to obtain the optimal condition of hydrolysis for buckwheat protein by using papaya protease, taking DH as criterion, five factors, including substrate concentration, hydrolysis temperature, dosage of papaya protease, pH value and hydrolysis time, were systematically analyzed. Based on the single factors analysis, second-order regression rotation design was carried out, and the mathematics model was established. The result showed that the optimal condition of buckwheat protein was: substrate concentration 80 g/L, hydrolysis temperature 45℃, dosage of papaya protease 20 000 U/g, pH value 7.0 and hydrolysis time 3 h. Under the condition, DH of buckwheat protein was 14.38%. The sequence of factors that worked on the hydrolysis of buckwheat protein were as below: temperature> pH value> dosage of papaya protease> substrate concentration.

Key words: buckwheat protein; papaya protease; hydrolyzing conditions; technological conditions

天然蛋白质不完全水解产生的长短不一的肽段, 具有其前体所没有的特殊生理功能, 这些具有特殊生理活性的肽类被称为生物活性肽。肽比氨基酸

更易且更快地为机体吸收和利用, 并能对组织蛋白质的代谢产生积极有利的调节作用, 某些肽类还具有重要的生理活性^[1]。国内利用蛋白制备生物活性

* [收稿日期] 2006-07-20

[基金项目] 西北农林科技大学重点科研项目(20030203085)

[作者简介] 张国权(1968-), 男, 天津蓟县人, 副教授, 博士, 主要从事谷物品质评价及淀粉工程技术研究。E-mail: zhanggq98@126.com

[通讯作者] 魏益民(1957-), 男, 陕西咸阳人, 教授, 博士生导师, 主要从事农产品质量与安全研究。

肽的研究主要集中在大豆蛋白、乳蛋白和水产蛋白等方面,如大豆蛋白经生物酶水解后其功能特性明显改善,水解得到的肽和氨基酸混合物食入人体后,具有降低胆固醇的作用,亦有利于肠道内乳酸菌、双歧菌的生长^[2];Lahva等^[3]的研究也表明,牛奶酪蛋白的温和水解物具有抗菌活性。但目前关于荞麦蛋白多肽的相关报道还很少。

荞麦为蓼科(Polygonaceae)荞麦属(*Fagopyrum*)双子叶植物,具有较高的营养价值和保健功能^[4-5]。荞麦蛋白是荞麦籽粒中主要的生物活性成分,其清蛋白和球蛋白含量较高,醇溶蛋白和谷蛋白含量较低。现已证实,荞麦蛋白具有降低血液胆固醇、抑制脂肪蓄积、抗衰老、防治便秘等生理功能^[6-8]。也就是说,在荞麦蛋白质的多肽链内部可能存在着多功能区,选择合适的蛋白酶水解这些多肽链,将具有生物活性的肽链片段释放出来,就有可能得到具有各种生理功能的生物活性肽。为此,本试验选用木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白,分析酶用量、底物浓度、pH、水解时间、水解温度等因素对荞麦蛋白水解度的影响,并进行二次正交回归旋转组合试验对荞麦蛋白的酶解工艺条件进行了优化,以期对荞麦蛋白资源的深度开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

供试荞麦蛋白粉由宁夏泽发荞麦制品有限公司提供;木瓜蛋白酶由润得生物制剂公司生产,酶活力 $> 2\,000\text{ U/mg}$;供试仪器有凯氏定氮仪(KJEL-TEC2100 system)、PK121R冷冻离心机及精密pH计(Model 210A plus)。

1.2 荞麦蛋白质等电点的确定^[9]

准确称取 $1\,000\text{ g}$ 样品于 50 mL 烧杯中,加入 19 mL 水,持续搅拌,用 0.1 mol/L HCl或NaOH在 2 min 内将pH调至预定值。待pH稳定后再连续搅拌浸提 25 min ,并控制料液比为 $1:20$ 。浸提完全后 $3\,000\text{ r/min}$ 离心 10 min ,取上清液测定氮含量,并换算成氮溶解指数值,绘制N SI-pH曲线,确定等电点。其中氮溶解指数按下式计算:

$$\text{氮溶解指数}/\% = \frac{N_1}{N_0} \times 100.$$

式中: N_1 为上清液中的氮含量, N_0 为总氮含量。

试验设计了8个pH梯度,分别为3.0、3.5、

4.0、4.5、5.0、5.5、6.0和6.5,每个pH梯度重复3次。

1.3 水解工艺条件的设计^[10-12]

称取荞麦蛋白粉加入适量水配制成一定浓度的荞麦蛋白溶液,在 85°C 下热变性 15 min ,补充蒸馏水至反应的底物浓度。调节至反应温度搅拌 20 min ,调节pH值为设定值,加入一定比例的蛋白酶,在反应温度下恒温酶解,酶解过程中不断进行搅拌,同时控制pH偏差 ≤ 0.1 。达到预定反应时间后,调节pH至荞麦蛋白等电点,之后将荞麦蛋白酶解液加热升温至 85°C ,保温 10 min 使酶活力丧失,在低温离心机中 $12\,000\text{ r/min}$ 、 10°C 离心 10 min ,除去未水解荞麦蛋白和其他非溶性物质,倾出上清液,测定氨态氮含量,计算水解度(DH)。

1.3.1 单因素试验 以水解度为测定指标,进行单因素试验以确定木瓜蛋白酶用量、底物浓度、水解温度、水解时间和pH值。

(1)酶用量。 30 g/L 的荞麦蛋白在水解温度 40°C 、pH 7.0,酶用量分别为 $5\,000$ 、 $10\,000$ 、 $15\,000$ 、 $20\,000$ 、 $25\,000\text{ U/g}$ 的条件下,水解 4 h ;

(2)底物浓度。在木瓜蛋白酶用量为 $20\,000\text{ U/g}$ 、水解温度为 40°C 、pH 7.0的条件下,分别对质量浓度 10 、 30 、 50 、 70 和 90 g/L 的荞麦蛋白水解 4 h ;

(3)水解温度。 30 g/L 的荞麦蛋白在酶用量 $20\,000\text{ U/g}$ 、pH 7.0,水解温度分别为 35 、 40 、 45 、 50 、 55°C 的条件下,水解 4 h ;

(4)水解时间。 30 g/L 的荞麦蛋白在酶用量 $20\,000\text{ U/g}$ 、 40°C 、pH 7.0的条件下,分别水解 1 、 2 、 3 、 4 、 5 h ;

(5)pH值。 30 g/L 的荞麦蛋白在酶用量 $20\,000\text{ U/g}$ 、 40°C 、pH分别为 4.0 、 5.0 、 6.0 、 7.0 、 8.0 的条件下,水解 4 h 。

1.3.2 二次正交旋转组合设计试验^[13] 在单因素试验的基础上,选择底物浓度、温度、酶用量、pH 4个因素进行二次正交旋转组合设计试验^[8],以水解度(DH)为评定指标,因素水平编码见表1。

1.4 水解度的测定

总氮的测定采用凯氏定氮法^[14];氨态氮的测定采用甲醛滴定法^[14]。以“水解度 $/\% = \frac{\text{氨态氮}}{\text{总氮}} \times 100\%$ ”计算水解度。

1.5 数据处理

试验进行试验方案的设计, 并对所得数据进行分析

利用 DPS 数据处理软件对二次正交旋转组合 处理。

表 1 二次正交旋转组合设计的 4 因素水平编码表

Table 1 Decisive variety X and linear coded data

水平编码 Level Z_j	底物浓度/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Substrate concentration X_1	温度/ Temperature X_2	酶用量/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$) Dosage of papaya protease X_3	pH X_4
+ 2	80	56	26 000	8.0
+ 1	75	53	23 000	7.5
0	70	50	20 000	7.0
- 1	65	47	17 000	6.5
- 2	60	44	14 000	6.0
变化幅度 Δ_j Range of variation	5	3	3 000	0.5

2 结果与分析

2.1 荞麦蛋白等电点的确定

荞麦蛋白的 NSI-pH 曲线如图 1 所示。由图 1 可见, 当 pH 为 4.5 时, 氮溶解指数最小, 随着 pH 的减小或增大, 氮溶解指数不断增加, 因此确定荞麦蛋白的等电点为 pH 4.5。

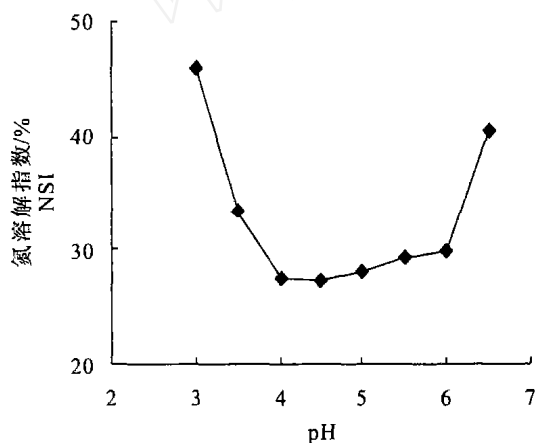


图 1 荞麦蛋白 NSI-pH 曲线

Fig. 1 Relationship between NSI of buckwheat protein and pH value

2.2.2 底物浓度 图 3 结果表明, 随着底物浓度的增加, 荞麦蛋白的水解度呈逐渐上升趋势; 当底物浓度为 70 g/L 时, 水解度最大达 8.11%; 此后随着底物浓度的增加, 水解度呈逐渐下降趋势。这是因为酶活性中心在被底物饱和之前, 水解度随底物浓度的增加而增大, 但底物浓度过大会导致底物分散不均匀, 过多底物分子竞争酶的活性中心, 影响了酶的催

2.2 木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白的条件

2.2.1 酶用量 图 2 结果表明, 随着木瓜蛋白酶用量的增加, 荞麦蛋白的水解度逐渐增大, 当酶用量为 20 000 U/g 时, 水解度达到 6.51%。此后, 随酶用量的增加荞麦蛋白水解度变化较小, 甚至呈下降趋势。因此使用 20 000 U/g 的木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白较为适宜。

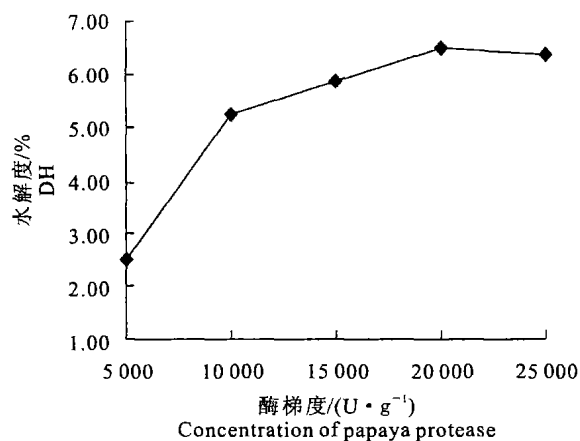


图 2 酶用量对荞麦蛋白水解度的影响

Fig. 2 Relationship between dosage of papaya protease and the degree of buckwheat protein hydrolysis

化效率及产物分子的扩散, 导致水解度降低。因此, 底物浓度以 70 g/L 为宜。

2.2.3 水解温度 由图 4 可以看出, 当水解温度为 35~50 时, 荞麦蛋白的水解度呈明显上升趋势, 并于 50 时达到最大; 而当水解温度为 50~55 时, 水解度呈明显下降趋势。可见, 木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白有其适宜的温度范围, 超过此温度范围, 其

水解度均会下降。由此可知,木瓜蛋白酶水解荞麦蛋

白的适宜温度为 50 。

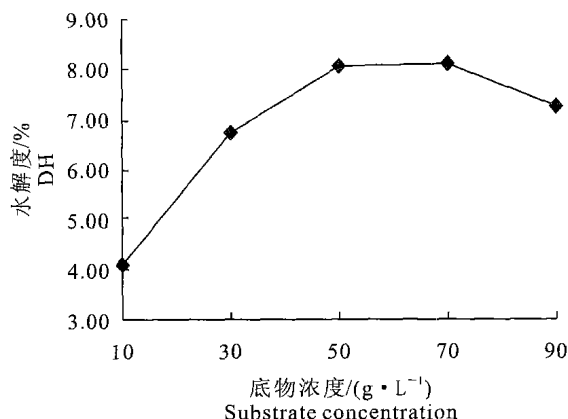


图3 底物浓度对荞麦蛋白水解度的影响

Fig 3 Relationship between substrate concentration and the degree of buckwheat protein hydrolysis

2.2.4 水解时间 由图5可知,荞麦蛋白水解度随水解时间的延长呈先增大后降低的趋势。其中水解3 h时水解度达最大值,为7.97%。所以确定适宜的酶解时间为3 h。

2.2.5 pH值 由图6可以看出,随着pH值的增大,荞麦蛋白的水解度呈先增大后降低的趋势,但

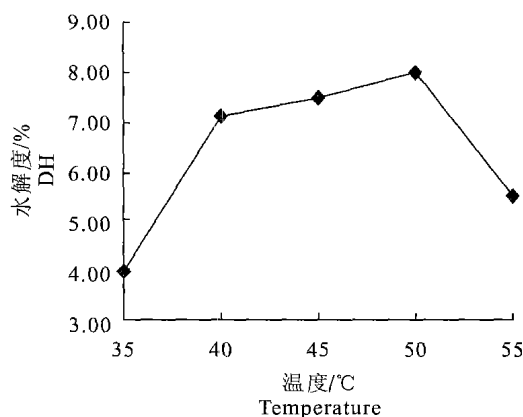


图4 温度对荞麦蛋白水解度的影响

Fig 4 Relationship between hydrolysis temperature and the degree of buckwheat protein hydrolysis

pH为5.0~7.0时变化较为平缓,以pH7.0时的水解度最大。pH值对酶促反应的影响是多方面的,过酸或过碱都可使酶空间构象发生改变而导致酶失活;pH值还可改变底物的解离状态,影响底物与酶的结合。因此,选择木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白的pH值为7.0,这样也更容易控制。

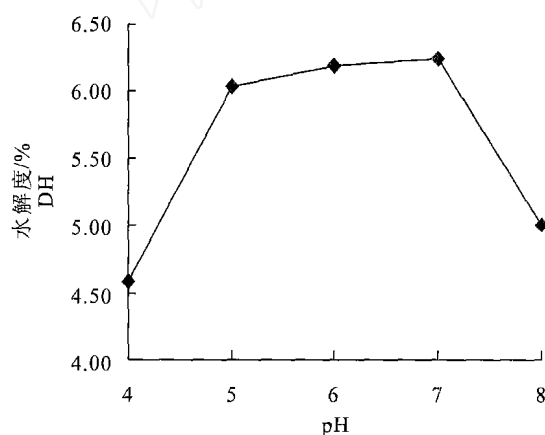


图5 水解时间对荞麦蛋白水解度的影响

Fig 5 Relationship between hydrolysis time and the degree of buckwheat protein hydrolysis

2.3 荞麦蛋白酶水解的二次回归正交旋转组合试验

二次回归正交旋转组合设计及试验结果见表2。以水解度为固定变量Y,以底物浓度(X_1)、温度(X_2)、酶用量(X_3)、pH(X_4)为因变量,经过统计分

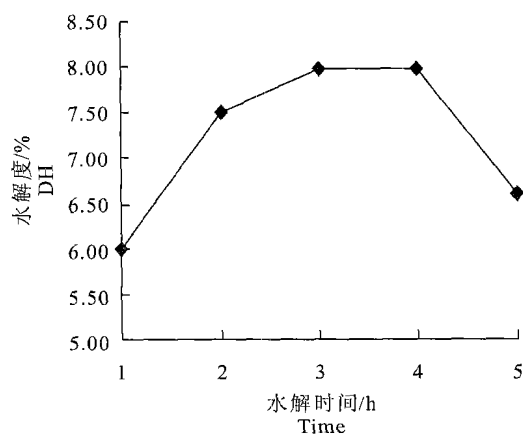


图6 pH值对荞麦蛋白水解度的影响

Fig 6 Relationship between pH value and the degree of buckwheat protein hydrolysis

析得到的数学模型为:

$$Y = 7.306 - 0.156X_1 - 0.349X_2 + 0.242X_3 + 0.275X_1^2 + 0.234X_2^2 + 0.193X_3^2 + 0.323X_4^2 - 0.265X_1X_2 + 0.261X_1X_3$$

表 2 4 因素二次回归正交旋转组合设计及试验结果
Table 2 Experiment structural matrix and DH data

序号 No	X_1	X_2	X_3	X_4	X_1X_2	X_1X_3	X_1X_4	X_2X_3	X_2X_4	X_3X_4	Y
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	8.41
2	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	8.11
3	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	-1	6.53
4	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	6.57
5	1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	8.87
6	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	9.28
7	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	8.71
8	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	9.06
9	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	8.48
10	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	7.61
11	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	8.29
12	-1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	9.11
13	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	8.85
14	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	9.39
15	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	8.76
16	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	8.55
17	-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8.31
18	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8.19
19	0	-2	0	0	0	0	0	0	0	0	8.08
20	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	8.08
21	0	0	-2	0	0	0	0	0	0	0	7.32
22	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	8.52
23	0	0	0	-2	0	0	0	0	0	0	8.92
24	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	7.96
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.28
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.26
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.89
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.65
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.53
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.26
31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.04
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.38
33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.06
34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.65
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.30
36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.39

2.3.1 回归模型的检验 由回归方程的方差分析结果(表 3)可知, F 值= 7.734 3> $F_{0.01}(9, 26)$ = 3.18, 达到极显著水平, 且相关系数 $R=0.853 3$, 说明试验所建立的二次回归方程与实际情况拟合程度较好, 可进行有效的预测; 另外, 理论上 Durbin-Watson 统计量 d 接近于 2 时, 表明模型拟合是合适的, 而本试验统计量 $d=1.868 5$, 同样说明该方程拟合度良好。

表 3 多元回归模型方差分析结果

Table 3 Variance analysis of model estimated by multiple regression

相关系数(R) Correlation coefficient	F 值 F value	显著水平(P) Significant level	剩余标准差(S) Residual standard deviation	调整后的相关系数(R _a) Adjusted correlation coefficient
0.853 3	7.734 3	0.000 1	0.476 6	0.796 2

各个因素与 Y (DH) 的关系即回归系数的显著性分析结果(表 4)表明, 该模型各因子回归系数 r 在不同程度上达显著水平。 X_2 (温度)对 Y (水解度)的影响极显著, 即温度是对试验结果影响最大的因子; X_4 (pH 值)对水解度的影响极显著, 说明 pH 值对蛋白水解度的影响是二次关系; 另外, X_1 (底物浓度)与 X_2 (温度)、 X_3 (酶用量)的交互对试验结果也有显著影响。

表 4 多元回归模型各因子回归系数的显著性分析

Table 4 Model coefficients estimated by multiple regression for papaya protease

回归系数(r) Regression coefficient	偏相关 Partial correlation	t 检验值 t value	显著水平(P) Significant level
$r(Y, X_1)$	- 0.300 0	1.603 6	0.120 4
$r(Y, X_2)$	- 0.574 9	3.582 3	0.001 3**
$r(Y, X_3)$	0.438 3	2.486 7	0.019 4*
$r(Y, X_1^2)$	0.539 3	3.265 4	0.003 0**
$r(Y, X_2^2)$	0.477 9	2.774 3	0.009 9**
$r(Y, X_3^2)$	0.410 4	2.295 0	0.029 7*
$r(Y, X_1^3)$	0.600 8	3.832 1	0.000 7**
$r(Y, X_1X_2)$	- 0.399 2	2.220 0	0.035 0*
$r(Y, X_1X_3)$	0.394 1	2.186 4	0.037 6*

注: * 表示在 0.05 水平显著, ** 表示在 0.01 水平显著。
Note: * means remarkable at level 0.05, ** means remarkable at level 0.01.

2.3.2 荞麦蛋白酶水解工艺参数的优化 通过软件处理最后得出水解度(DH)最高的优化组合为 $X_1 = 2.000\ 0$, $X_2 = -2.000\ 0$, $X_3 = 2.000\ 0$, $X_4 = 1.999\ 9$, 即木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白的最佳方案为底物浓度 80 g/L、温度 44 ℃、酶用量 26 000 U/g、pH 值 7.999(约为 8), 此时的水解度为 14.38%。通过验证, 模型的预测值与实际值基本吻合。

2.3.3 各因素对荞麦蛋白水解度的贡献率 为反映某一因素的变化规律及其对水解度的贡献率, 将 4 个因素的 3 个变量固定在零水平, 可以得到以下 4 个一元方程:

$$Y_1 = 7.306 - 0.156X_1 + 0.275X_1^2,$$
$$Y_2 = 7.306 - 0.349X_2 + 0.234X_2^2,$$
$$Y_3 = 7.306 + 0.242X_3 + 0.193X_3^2,$$
$$Y_4 = 7.306 + 0.323X_4.$$

由以上方程可知, 各因素对水解度的影响次序

依次为水解温度> pH> 酶用量> 底物浓度, 即水解温度对荞麦蛋白的影响效应最大。

2.3.4 双因素交互作用对荞麦蛋白水解的影响 由二次回归方程可知, 底物浓度与温度、酶用量的交互作用对荞麦蛋白水解有显著影响。由图 7 和图 8 可知, 底物浓度及酶用量为 1~ 2 时水解度最大, 温度为 -2~-1 时的水解度较高。当底物浓度一定时, 随着酶用量的升高, 水解度呈上升趋势; 当酶用量一定时, 随着底物浓度的增加, 水解度逐渐升高。在二者的交互作用下, 酶用量是主要因素。在底物浓度和温度对水解度的交互作用中, 当底物浓度一定时, 随温度在取值范围内逐渐升高, 水解度呈下降趋势, 这可能是温度太高导致酶失活所致。与单因素试验相比, 各因素对水解度的影响趋势基本一致, 二次回归方程的模拟情况基本能够反映实际情况。

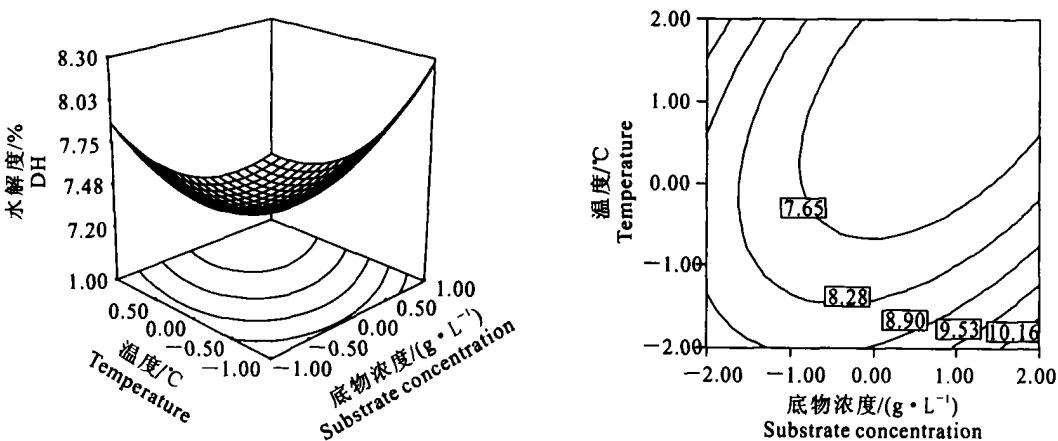


图 7 底物浓度(X_1)、温度(X_2)对水解度交互作用的响应面图及等高线图
Fig. 7 Response surface plot and contour map for the alternating effects of substrate concentration (X_1) and temperature (X_2) on DH (Y)

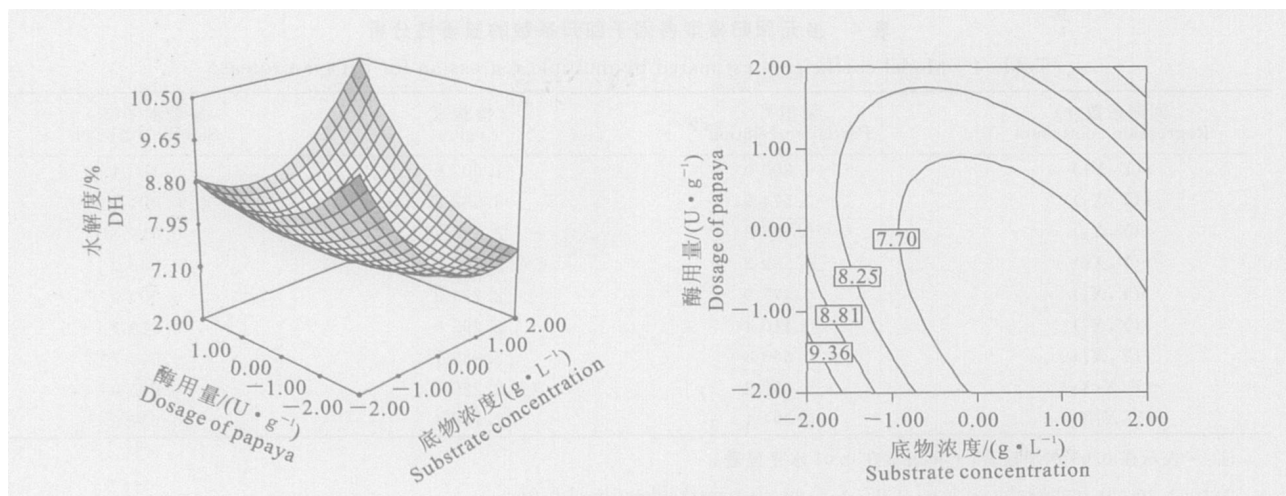


图 8 底物浓度(X_1)、酶用量(X_3)对水解度交互作用的响应面图及等高线图

Fig 8 Response surface plot and contour map for the alternating effects of substrate concentration (X_1) and dosage of papaya protease (X_3) on DH (Y)

3 结论与讨论

很多学者对大豆蛋白、玉米蛋白、大米蛋白、芝麻蛋白等的理化特性及水解规律进行了研究。宋宏哲等^[15]、曹玉华等^[16]对木瓜蛋白酶水解大豆蛋白的研究表明,对大豆蛋白水解影响较大的因素是 pH 值和温度,最小的是时间;郑冬梅等^[17]对玉米蛋白水解的研究表明,pH 和温度对水解度的影响较大,其次为底物浓度。本研究表明,荞麦蛋白的等电点为 pH 4.5,这与陶健等^[18]、张政等^[19]的报道相一致。影响木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白的因素顺序依次为水解温度 > pH > 酶用量 > 底物浓度,这一结论符合上述试验得到的蛋白水解反应规律。此外,本研究通过二次正交旋转组合试验,得到的木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白的二次回归数学模型为 $Y = 7.306 - 0.156X_1 - 0.349X_2 + 0.242X_3 + 0.275X_1^2 + 0.234X_2^2 + 0.193X_3^2 + 0.323X_1X_2 + 0.265X_1X_3 + 0.261X_2X_3$ 。

二次旋转的优化工艺参数与单因素试验结果相比,二者的底物浓度相差不大,优化参数增大了酶用量,提高了 pH 而降低了反应温度。单因素试验结果表明,当反应温度为 50 时,荞麦蛋白的水解度最大,此时可能由于温度升高而提高了酶促反应效率,但在最高催化效率的情况下可能造成酶的快速失活,因此适当降低反应温度是有利的;另从经济角度考虑,适当降低酶用量并保持中性 pH 更有利于反应条件的控制和工业成本的降低。综合考虑单因素及二次旋转试验结果,木瓜蛋白酶水解荞麦蛋白的适宜工艺参数为:底物浓度 80 g/L,温度 45,酶用量 20 000 U/g, pH 7.0,水解时间 3 h。

最近几年,有关生物活性肽的研究迅速发展。如牛奶中的酪蛋白水解后得到的多肽,具有抑制血管紧张素转换酶(ACE)的特性,能够预防高血压及心脑血管疾病^[20];大豆多肽能够降低胆固醇、降血压、促进脂肪代谢^[21];玉米肽可促进乙醇代谢,降低血液中乙醇及其氧化产物乙醛的含量^[22]。这些均说明了蛋白在适宜酶以及该酶适宜的条件下水解后可能生成各种生物活性多肽。荞麦蛋白被木瓜蛋白酶水解后得到的多肽液呈微黄色,无悬浮物质和沉淀。下一步将对优化条件下制备的荞麦多肽的抗氧化、抑制血管紧张素转换酶特性进行研究,并进行动物试验验证,从而为荞麦蛋白的综合利用提供理论基础。

【参考文献】

- [1] 陈栋梁. 多肽的世界——认识功能肽[M]. 武汉: 武汉出版社, 2003: 156-165.
- [2] Ader N J. Enzymatic hydrolysis of protein for increased solubility[J]. Agric Food Chem, 1976, 24(6): 1090-1096.
- [3] Lahov E, Regelson W. Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: caseicin, isracidin peptides[J]. Food and Chemical Toxicology, 1996, 34(1): 131-145.
- [4] 杜双奎, 李志西, 于修焯. 荞麦蛋白研究进展[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 409-425.
- [5] 郭月英, 贺银凤. 苦荞麦的营养成分、医疗功能及开发现状[J]. 农产品加工, 2004, 19(2): 24-25.
- [6] 魏益民. 荞麦品质与加工[M]. 西安: 世界图书出版公司, 1995: 8-12.
- [7] 朱锡义. 荞麦的营养价值与综合利用[J]. 云南农业科技, 1986, 14(1): 40-42.

(下转第 199 页)

59.54%, 总不饱和脂肪酸相对含量 91.81%。医学研究表明^[10], 不饱和脂肪酸有明显降低高密度脂蛋白血清胆固醇的作用, 进而减少高血压、心脏病及中风等疾病的发病率。亚油酸是人体必需脂肪酸, 它与平滑肌的收缩、脂类代谢中酶的活性、中枢神经系统的活动、脉搏与血压的调节、类固醇激素的生理功能、前列腺素的合成及其他生理机能有关^[11]; 此外, 亚油酸还具有营养脑细胞, 调节植物神经的作用^[12]。超临界 CO₂ 流体萃取的苹果籽油中亚油酸含量高, 品质优良, 无溶剂残留, 具有较高的营养价值。

[参考文献]

- [1] 张敬滋 我国浓缩苹果汁行业进入成熟期[N]. 中国食品报, 2004-02-03(A02).
- [2] 中华人民共和国农业部市场与经济信息司 全国农业统计提要[R/OL]. 北京: 农业部信息中心, 2004-2006 <http://www.agri.gov.cn/>.
- [3] 于修焯 苹果籽及苹果籽油特性研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2004.
- [4] 廖传华, 黄振仁 超临界 CO₂ 流体萃取技术——工艺开发及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 7.
- [5] 杨柏崇, 李元瑞 猕猴桃籽油的超临界二氧化碳萃取研究[J]. 食品科学, 2003, 24(3): 104-107.
- [6] 柳仁民, 张 坤, 崔庆新 核桃油的超临界 CO₂ 流体萃取及其 GC/MS 分析[J]. 中国油脂, 2003, 28(7): 51-53.
- [7] 朱自强 超临界流体原理与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [8] Daukšas E, Venskutonis P R, Sivik B. Comparison of oil from *Nigella damascena* seed recovered by pressing, conventional solvent extraction and carbon dioxide extraction[J]. J Food Sci, 2002, 67(3): 1021-1024.
- [9] 于修焯, 李志西, 杜双奎 苹果籽油超声波辅助浸提及产品理化特性研究[J]. 农业工程学报, 2005, 21(9): 155-159.
- [10] 王敬勉, 廖德胜, 张永洪 葡萄籽油的营养及食疗价值研究[J]. 营养学报, 1996, 18(2): 221-223.
- [11] 唐传核, 徐建祥, 彭志英 脂肪酸营养与功能的最新研究[J]. 中国油脂, 2000, 25(6): 20-23.
- [12] 吴时敏 功能性油脂[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [8] Karlubik M, Michalik I Content of amino acids and the biological value of buckwheat grain proteins in comparison with other crops[J]. Acta-Zoo Technica, 1997: 97-105.
- [9] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis[S]. 14th edition. Washington DC, USA: AOAC, 1984: 673-678.
- [10] 陶 红, 梁 歧, 张鸣镝 热处理对大豆蛋白水解液分子量的影响[J]. 食品科学, 2003, 24(11): 37-41.
- [11] 董颖超 蛋白酶对大豆蛋白的水解特性及动力学性质的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2001: 7-8.
- [12] 刘艳秋, 陈 光, 孙 琨 Protamex 复合蛋白酶水解大豆分离蛋白的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 155-158.
- [13] 袁志发, 周静宇 试验设计与分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 360-370.
- [14] 蔡武城, 袁厚积 生物物质常用化学分析法[M]. 北京: 科学出版社, 1982: 59-89.
- [15] 宋宏哲, 张 飞, 张博坤, 等 木瓜蛋白酶水解大豆浓缩蛋白实验研究[J]. 大豆通报, 2005(4): 19-21.
- [16] 曹玉华, 杨惠萍 固定化木瓜蛋白酶制备大豆肽的研究[J]. 中国油脂, 2005, 30(4): 53-55.
- [17] 郑冬梅, 李升福, 孔保华 玉米蛋白水解条件的优化研究[J]. 食品科学, 2002, 23(8): 52-56.
- [18] 陶 健, 毛利新, 杨小娇, 等 碱萃取酸等电沉淀制备荞麦蛋白[J]. 中国食品学报, 2006, 6(3): 49-53.
- [19] 张 政, 王转花, 刘凤艳, 等 苦荞蛋白复合物的营养成分及其抗衰老作用的研究[J]. 营养学报, 1999, 21(2): 159-162.
- [20] Sinha R, Radha C, Prakash J, et al Whey protein hydrolysate: functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation[J]. Food Chemistry, 2007, 101: 1484-1491.
- [21] 李玉珍, 林亲录, 肖怀秋 大豆多肽特性及其应用现状[J]. 中国食品添加剂, 2005(6): 91-94.
- [22] 刘勇刚, 李世敏, 郭爱亮 玉米活性肽研究进展[J]. 深圳职业技术学院学报, 2004, 3(1): 28-31.

(上接第 194 页)