

大豆蛋白-酪蛋白类蛋白反应的工艺优化

杨杨¹, 王冰¹, 李新福^{2,3}, 布冠好⁴, 李雪霞¹, 刘振⁵,
陈召剑⁵, 徐宝才², 张娜¹

(1. 哈尔滨商业大学 食品工程学院黑龙江省食品科学与工程重点实验室, 哈尔滨 150076;

2. 江苏雨润肉食品有限公司 肉品加工与质量控制国家重点实验室, 南京 211806;

3. 哈尔滨大众肉联食品有限公司, 哈尔滨 150137;

4. 河南工业大学 粮油食品学院, 河南 450001;

5. 克东禹王大豆蛋白食品有限公司, 齐齐哈尔 164800)

摘要: **目的** 在大豆蛋白中导入酪蛋白, 弥补大豆蛋白中 Met 含量过少的不足, 并提高其功能。 **方法** 以大豆蛋白和酪蛋白为原料, 采用 α -糜蛋白酶催化类蛋白反应, 向大豆多肽 (SP) 中导入酪蛋白非磷酸肽 (CNPP), 形成大豆蛋白-酪蛋白重组体 (CNPSPC), 并对其产率进行测定。然后基于人工神经网络模型对 CNPSPC 反应条件进行优化。 **结果** 当底物 CNPP 与 SP 的质量比为 4:1, 反应温度为 46.2 °C, 反应 pH 为 4.97, 反应时间为 20 h 时, CNPSPC 的产率达到最大, 可达 (87.0±0.10) %。 **结论** 该预测模型可以很好地对大豆蛋白-酪蛋白类蛋白反应的工艺条件进行优化, 优化的 CNPSPC 可作为很好的生物膜原料。

关键词: 大豆蛋白-酪蛋白重组体; 类蛋白反应; 人工神经网络; 优化

中图分类号: S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2019)03-0011-08

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2019.03.003

Process Optimization of Soy Protein-Casein Protein Reaction

YANG Yang¹, WANG Bing¹, LI Xin-fu^{2,3}, BU Guan-hao⁴, LI Xue-xia¹, LIU Zhen⁵,
CHEN Zhao-jian⁵, XU Bao-cai², ZHANG Na¹

(1. Key Laboratory of Food Science and Engineering of Heilongjiang Province, School of Food Engineering,
Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

2. State Key Laboratory of Meat Processing and Quality Control, Jiangsu Yurun Meat & Food Co., Ltd., Nanjing, 211806, China;

3. Harbin Volkswagen Meat Food Co., Ltd., Harbin 150137, China;

4. School of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China;

5. Kedong Yuwang Soy Protein Food Co., Ltd., Qiqihar 164800, China)

ABSTRACT: The work aims to introduce casein into soy protein to make up for the deficiency of too little Met in soy protein and to improve the functional properties. Soybean protein and casein were used as raw material to introduce soybean peptide (SP) in the casein non phosphopeptides (CNPP) by chymotrypsin catalyzed plastein reaction so as to form soybean protein-casein complexes (CNPSPC), and determine the yield. Then the reaction conditions of CNPSPC were op-

收稿日期: 2018-11-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31871747); 国家自然科学基金青年科学基金(31301602); 十三五国家重大科技专项(2016YFD0400402)。

作者简介: 杨杨 (1991—), 女, 哈尔滨商业大学博士, 主要研究方向为大豆、谷物化学与加工。

通信作者: 张娜 (1979—), 女, 哈尔滨商业大学教授、博导, 主要研究方向为食品安全与食品化学。

timized based on the artificial neural network model. When the ratio of substrate addition was 4 : 1 (CNPP and SP), the reaction temperature was 46.2 °C, the reaction pH was 4.97, and the reaction time was 20 h, the yield of CNPSPC reached a maximum of (87.0±0.10)%. This prediction model can optimizer the process of soy protein-casein protein reaction better. The optimized CNPSPC can be used as a good biofilm material.

KEY WORDS: soybean protein-casein complexes; plastein reaction; artificial neural network; optimization

生物可降解膜具有绿色、安全、无毒的优点,因此一直处于包装材料研究的前沿。生物降解薄膜可用于多种用途,如减少水分流失,抑制氧气吸收,减少脂质迁移,改善机械搬运性能,提供物理保护,或作为商业包装的替代品材料。动植物蛋白膜聚合物相对便宜、丰富、可生物降解和食用,因此目前备受关注。大豆蛋白溶液在改性后,其内部存在的多种分子作用力发生改变,使得大豆蛋白具有较好的成膜性能。通过类蛋白反应将氨基酸添加到大豆蛋白中,能够使大豆蛋白成为营养组分更加完善,具有良好成膜性的优质蛋白,满足现代化工业对食品深加工的需求^[1]。

神经网络结构兴起于 20 世纪 40 年代^[2],由于其在非线性分析上有很大优势,可为科学决策提供依据,广泛应用于食品工业领域。

文中以大豆蛋白和酪蛋白为原料,采用 α -糜蛋白酶催化类蛋白反应,向大豆多肽中导入酪蛋白非磷酸肽,通过控制反应条件来预测类蛋白的产率。通过对类蛋白催化作用进行深入研究,以提高动植物蛋白的利用率,同时为研制出新型成膜特性和功能特性相结合的大豆蛋白组装体包装材料提供理论支撑。

1 实验

1.1 材料与试剂

材料与试剂:大豆分离蛋白,辽宁阜新市维远蛋白科技有限公司;干酪素,北京奥博星生物科技有限责任公司;Alcalase 碱性蛋白酶,北京索莱宝科技有限公司; α -糜蛋白酶(2000 U/g),北京索莱宝科技有限公司。

1.2 仪器与设备

仪器与设备:HH-8 电热恒温水浴锅,金坛三和仪器有限公司;G1-21M 高速离心机,上海安亭科技仪器厂;PH-10 精密 pH 计,力辰科技有限公司;ES-D 精密电子分析天平,天津市德安特传感技术有限公司;YC-015 实验型喷雾干燥机,上海比朗仪器有限公司;DHG-9145A 电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;KDN-F 自动定氮仪,上海纤检仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 大豆蛋白-酪蛋白类蛋白的制备

1) 大豆多肽的制备。参考曲玲玲等人的方法^[3]制备大豆多肽。

2) 酪蛋白非磷酸肽的制备。参考 Zhang 等人的方法^[4]制备 CNPP。

3) 类蛋白产物的合成。将干燥后的 SP 和 CNPP 以质量比 1 : 1 均匀混合,用蒸馏水调配至适宜浓度,并用氢氧化钠和盐酸溶液调节溶液到合适的 pH,加入适量的 α -糜蛋白酶溶液(2000 U/g)混匀后保温一定时间^[5],反应结束后,再加入同体积(12%)的 TCA 灭酶,在转速 3500 r/min 条件下离心 30 min,分别对上清液(N_1)和沉淀(N_2)进行总氮测定,根据式(1)计算 CNPSPC 的产率:

$$P = \frac{N_2}{N_1 + N_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中: P 为类蛋白产率(%); N_1 为上层清液的含氮量(%); N_2 为下层沉淀的含氮量(%)。

1.3.2 类蛋白反应工艺参数优化

1.3.2.1 单因素试验

针对类蛋白反应过程中添加酶的情况,对影响 CNPSPC 产率的酶、底物浓度、时间、温度、pH 及加酶量等 6 个条件进行单因素试验。

1) 反应酶的选择。根据以上实验步骤,底物质量分数为 30% (CNPP 与 SP 的质量比为 1 : 1) 的条件下,分别加入胰凝乳酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶、Alcalase 碱性蛋白酶和 α -糜蛋白酶, pH 调至 5.0,反应温度为 37 °C,酶添加量为 1000 U/g,反应时间为 5 h,在反应结束后测得 CNPSPC 产率随反应时间的变化曲线。

2) 单因素条件选取。将水解后的 SP 和 CNPP 以 1 : 1 的质量比配制底物的质量分数分别为 20%, 30%, 40%, 50%, 60% 的水溶液,并考察反应温度水平为 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 °C,保温时间水平为 5, 10, 15, 20, 25 h,调节 pH 水平为 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, α -糜蛋白酶加酶量水平为 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 U/g,以及将水解后的 CNPP 和 SP 按照 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4, 1 : 5 (质量比) 的比例,选出 CNPSPC 产率高的工艺参数。

1.3.2.2 人工神经网络对类蛋白反应工艺进行优化

因素水平见表 1，以反应温度 (X_1)、pH (X_2) 和 CNPP 与 SP 的质量比 (X_3) 为决定变量因素，以产率 (Y) 为响应目标，采用 JMP 10.0 软件进行神经网络模型试验。

表 1 响应面试验因素水平
Tab.1 Response surface test factor level

水平	因素		
	反应温度 (X_1) / $^{\circ}\text{C}$	反应 pH (X_2)	CNPP 与 SP 质 量比 (X_3)
-1	40	4	2 : 1
0	45	5	3 : 1
+1	50	6	4 : 1

采用 Microsoft Office Excel 2003 软件对数据进行处理和绘图，采用 SPSS 软件对数据进行方差分析 (ANOVA) 和最小显著差异 (LSD) 分析 ($P<0.05$)，采用 JMP 10.0 软件对工艺参数进行优化。

2 结果与分析

2.1 单因素对 CNPSPC 产率的影响

5 种常用酶对 CNPSPC 产率的影响结果见图 1。图 1—2 中的小字母均分别代表显著不同 ($P<0.05$)。

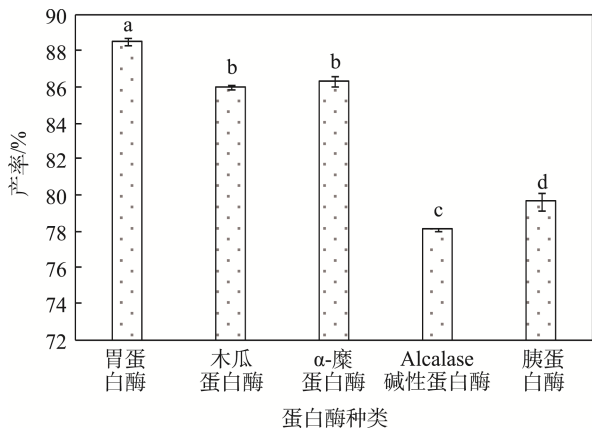


图 1 蛋白酶对 CNPSPC 产率的影响
Fig.1 Effect of protease on CNPSPC yield

胃蛋白酶最适水解 pH 为 2.0，具有较强的催化能力，而其他酶类最适 pH 一般为 5.0~7.0，因此 CNPSPC 在胃蛋白酶作用下产率较高^[6]。由于胃蛋白酶价格昂贵，因此该实验不选用。其次， α -糜蛋白酶和木瓜蛋白酶产率相对较高但差异不明显。由于木瓜蛋白酶可多向水解，专一性较弱，因此后续实验中选用 α -糜蛋白酶。

底物 CNPP 和 SP 以质量比 1 : 1 混合后底物浓度

对产率的影响见图 2a。随着底物 SP 和 CNPP 的质量分数从 20%到 60%不断增加，其合成的 CNPSPC 的产率出现先显著升高后显著下降的变化趋势 ($P<0.05$)。当质量分数为 40%时，CNPSPC 的产率最大，为 $(82.8 \pm 1.9)\%$ ；底物的质量分数升高为 50%之后，其产率显著下降 ($P<0.05$)。CNPSPC 产率与其底物的关系曲线呈现“钟型变化”，此研究结果相似于 Lee 等人的研究^[7]。一些学者也指出，对于类蛋白反应来说底物的质量分数为 40%是较好的。Tasi 等^[8]对合成类蛋白的产率与流变学特性进行分析发现，当底物大豆蛋白的质量分数为 20%~40%时，产率有显著变化。因此，大多研究发现，当原料底物浓度较高时，不仅影响合成的类蛋白反应产率，更有可能促进大分子类蛋白的生成。Monti 等人^[9]研究发现，底物浓度较大有助于肽酶的降解，并能加快高相对分子质量肽的合成速率，促进类蛋白反应的进行。

温度对 CNPSPC 产率的影响见图 2b。合成温度从 30 $^{\circ}\text{C}$ 升至 50 $^{\circ}\text{C}$ 时，CNPSPC 产率随合成温度的升高而显著增长 ($P<0.05$)，大于 50 $^{\circ}\text{C}$ 后，产率下降速率较大，且在 50 $^{\circ}\text{C}$ 时制备得到的 CNPSPC 产率达到最大值，为 $(86.0 \pm 0.2)\%$ 。Williams 等^[10]人以菌体蛋白水解物为研究对象发现类蛋白产物在低于 0 $^{\circ}\text{C}$ 和高于 70 $^{\circ}\text{C}$ 以上时稳定性较差。研究发现温度的变化会影响类蛋白的合成^[11]。Sukan^[12]等在对温度和类蛋白研究中发现：温度不超过 50 $^{\circ}\text{C}$ 时，产物的产率和速率逐渐增加，70 $^{\circ}\text{C}$ 之后，产率开始衰减，因此在 20~50 $^{\circ}\text{C}$ 之间的蛋白产率最大。

反应时间对 CNPSPC 产率的影响见图 2c。产率随着反应时间的延长呈持续上升的趋势，20 h 时产率最高，随后开始缓慢衰减。由于时间延长，类蛋白部分发生水解，使得产率降低^[13]。一些研究表明，类蛋白反应程度在 20 h 左右增加趋于平缓。岳楠、赵新淮^[14]等人的发现与该研究相类似，其以酪蛋白为底物合成类蛋白反应发现，20 h 为蛋白的最佳反应时间，当反应进行 5 h 后其游离氨基酸的减小量在混合组分中达 150.5 $\mu\text{mol/g}$ 。

pH 对 CNPSPC 产率的影响见图 2d。pH 为 4.0~5.0 时，CNPSPC 产率显著增加 ($P<0.05$)，pH 值为 6.0~8.0 时，CNPSPC 产率显著降低 ($P<0.05$)，且在 pH 值为 5.0 时，CNPSPC 产率达到最大值，为 $(85.95 \pm 0.28)\%$ 。正如刘振春^[15]等人的研究，采用胃蛋白酶催化大豆蛋白和燕麦蛋白的类蛋白反应，当 pH=5.0 时，产率最大。这可能是由于在 SP 和 CNPP 的等电点附近，此时的溶液中静电荷越少，分子间斥力越少，使得 CNPSPC 越容易聚集。综上所述，选择 pH 在 4.0~6.0 之间进行工艺参数优化。

底物比例与 CNPSPC 产率的关系见图 2e。由图 2e 可知，底物 CNPP 和 SP 质量比由 2 : 1 增加到 3 :

1 时, CNPSPC 产率显著增加 ($P<0.05$), 当 CNPP 和 SP 的质量比超过 3 : 1 时, 随着底物 CNPP 和 SP 质量比的增加, CNPSPC 产率增加趋于平缓。一些研究表明, 随着底物添加量的增多, 类蛋白反应程度会趋于平缓。Yamashita 等^[16]将 L-Met 通过类蛋白反应添加到大豆蛋白中, 证实随着 L-Met 添加量的增加, 类蛋白产率逐渐增加, 大豆蛋白中 L-Met 的含量也随之增加, 但当 L-Met 的添加量超过一定量时, 类蛋白产率趋于平缓, 所以选择质量比例在 2 : 1~4 : 1 之间进行工艺参数优化。

酶添加量对 CNPSPC 产率的影响见图 2f。酶可

以催化各种反应的发生^[17], 随着 α -糜蛋白酶添加量由 0.5 kU/g 增大到 2.5 kU/g 时, CNPSPC 产率呈先增加后降低的趋势 ($P<0.05$)。当添加量为 2.0 kU/g 时, 产率最大, 为 $(85.36 \pm 0.2)\%$ 。可能是随着反应的进行, 酶的添加量越多, 酶催化底物的能力已经超出实际所需的处理量, 对产率的影响不再显著^[18]。朱晓杰^[19]利用木瓜蛋白酶来修饰类蛋白产物, 研究发现: 当酶添加量分别为 1.5 kU/g 和 2.5 kU/g 时, 反应最显著。综上所述, 酶添加量过多反而抑制了酶的活性, 致使 CNPSPC 产率下降, 所以该实验选择酶添加量为 2.0 kU/g。

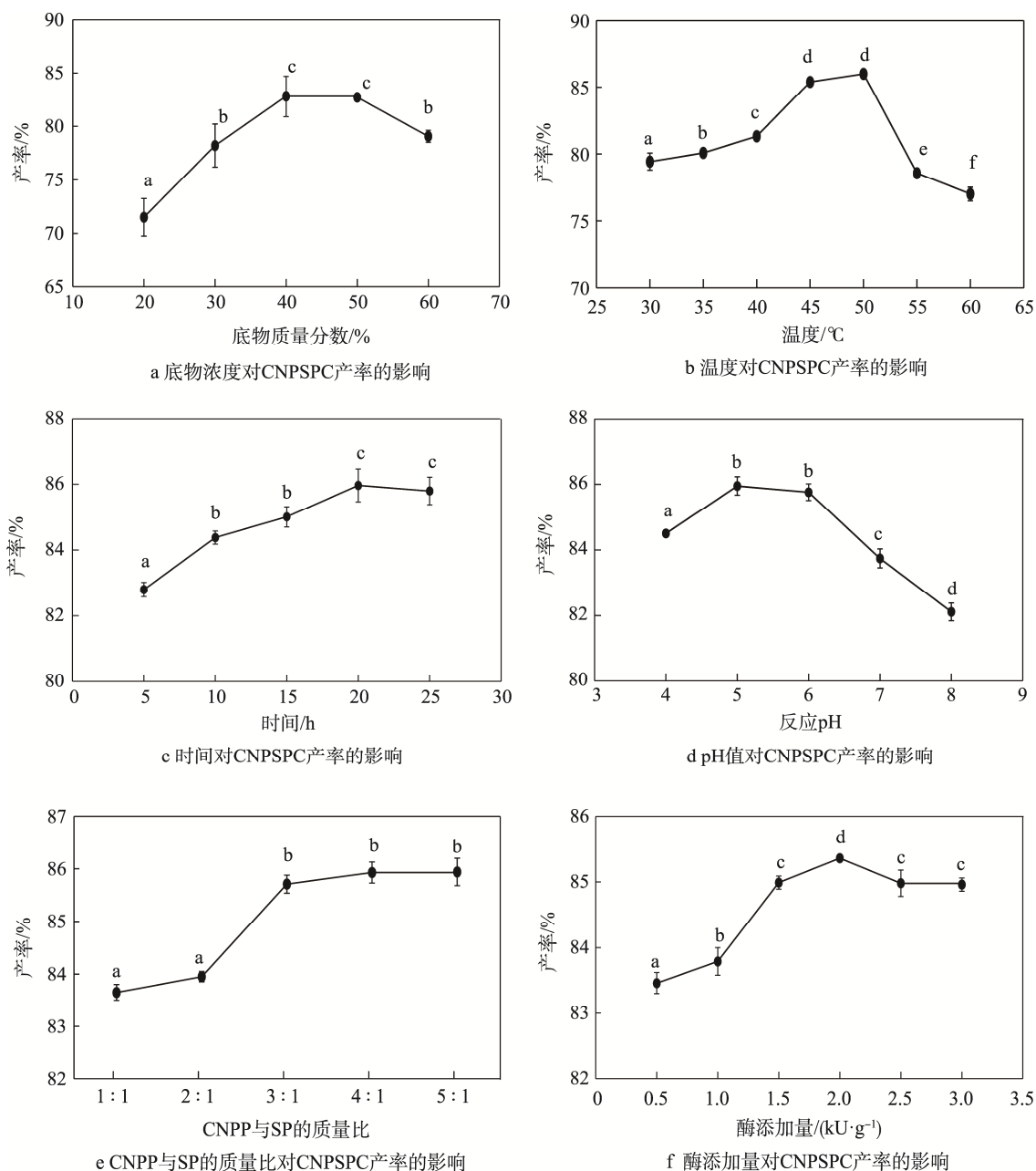


图 2 各单因素对 CNPSPC 产率的影响
Fig.2 Effect of each single factor on the yield of CNPSPC

2.2 人工神经网络工艺优化类蛋白反应工艺

2.2.1 人工神经网络数据的采集

根据 Box-Benhknen 实验设计方案所得产率见表 2。

2.2.2 人工神经网络隐藏节点的确定

选择 3×4×1 的三层结构为神经网络,即 3 个输入神经元,代表反应温度 (X_1)、pH (X_2) 和 CNPP 与 SP 的质量比 (X_3); 4 个隐含层神经元; 1 个输出神经元,代表 CNPSPC 的产率 (Y)。调节各参数的隐藏节点数为 4, 过拟合罚项为 0.001, 历程数为 20, 拟合决定系数 R^2 值为 0.9999。

2.2.3 人工神经网络模型的优化与分析

为了研究反应温度 (X_1)、pH (X_2) 和 CNPP 与 SP 的质量比 (X_3) 等 3 个条件对 Y 的影响, 先固定其中的 1 个因素为 0 水平, 采用 JMP10.0 软件中的曲面刻画器作三维曲面图, 再对其进行正投影处理^[20], 结果见图 3。

表 2 Box-Benhknen 实验设计方案与结果
Tab.2 Scheme and results of Box-Benhknen experiment

试验号	X_1	X_2	X_3	产率 $Y/\%$
1	45	4.0	2 : 1	85.77 ± 0.09
2	50	5.0	4 : 1	86.59 ± 0.12
3	40	5.0	2 : 1	85.82 ± 0.10
4	40	5.0	4 : 1	85.75 ± 0.16
5	45	4.0	4 : 1	87.02 ± 0.11
6	50	4.0	3 : 1	84.92 ± 0.22
7	45	5.0	3 : 1	86.77 ± 0.10
8	45	5.0	3 : 1	86.77 ± 0.10
9	45	5.0	3 : 1	86.77 ± 0.10
10	45	6.0	4 : 1	86.75 ± 0.23
11	40	6.0	3 : 1	84.84 ± 0.25
12	50	6.0	3 : 1	86.02 ± 0.08
13	50	5.0	2 : 1	84.78 ± 0.05
14	45	4.0	2 : 1	86.33 ± 0.10
15	40	4.0	3 : 1	85.73 ± 0.18

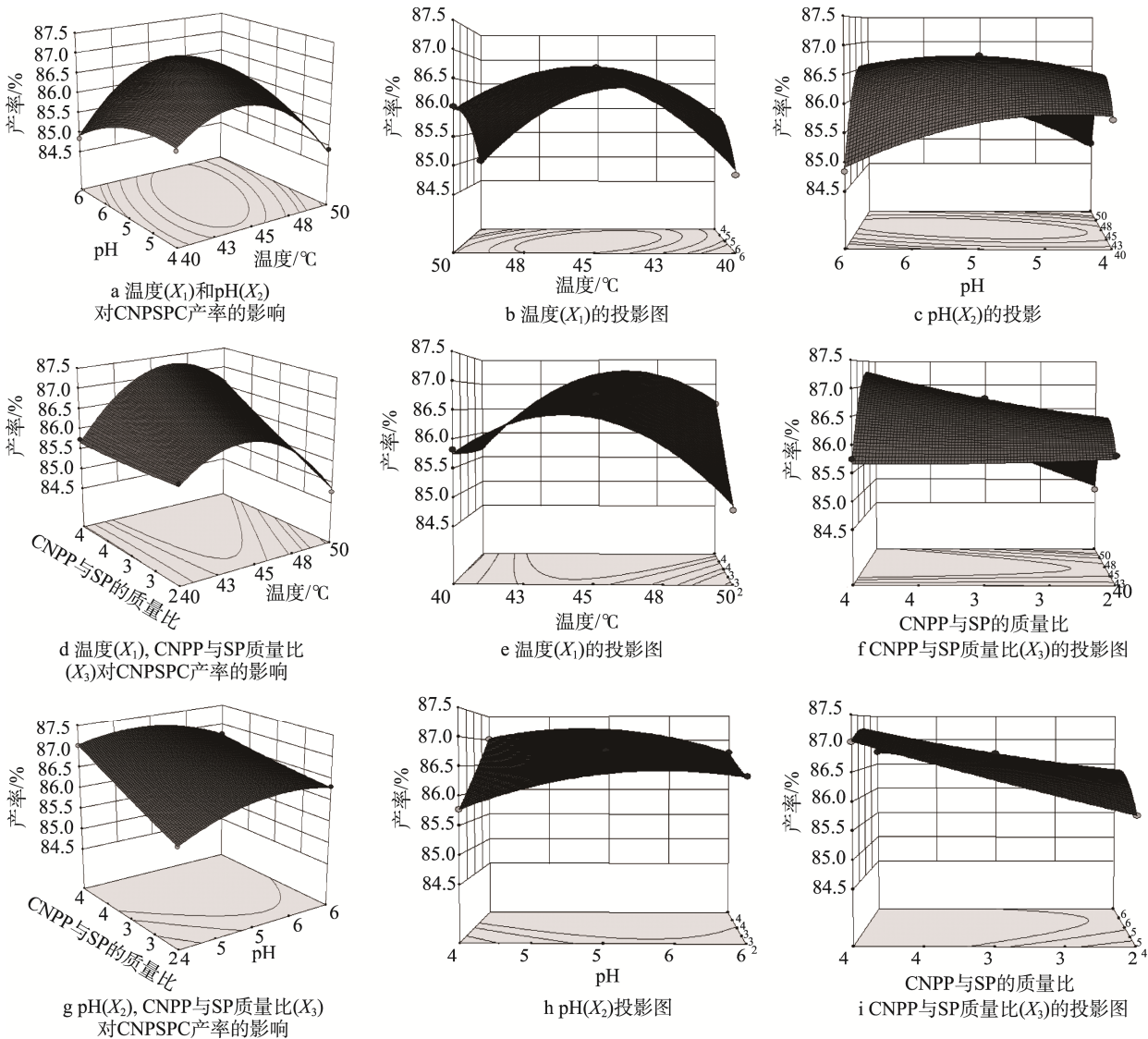


图 3 温度、pH 和 CNPP 与 SP 质量比对 CNPSPC 产率的影响
Fig.3 Effect of temperature, pH, mass ratio of CNPP and SP on CNPSPC yield

从图 3a, b, c 可以看出, 当 CNPP 与 SP 质量比 (X_3) 固定在 0 水平上时, 温度 (X_1) 和 pH (X_2) 交互作用形成的曲面图是抛物曲面, 较高的 CNPSPC 产率出现的区域是温度 (X_1) 和 pH (X_2) 取值适中。产率随着温度 (X_1) 和 pH (X_2) 的增加呈现先增大再减小的趋势, 即只有温度 (X_1) 和 pH (X_2) 达到一定条件时才能获得最大的 CNPSPC 产率。图 3b, e 表明了产率随着温度的升高呈现先增加再减小的趋势。其原因为分子热运动随着温度上升而加快, 产率增加, 当温度过高, 会导致酶活力减弱, 因此产率下降。根据图 3d, e, f 温度 (X_1) 和 CNPP 与 SP 质量比 (X_3) 交互作用形成的曲面图可以看出, 随着 CNPP 与 SP 质量比 (X_3) 的增大, CNPSPC 产率变化很大, 温度的变化对产率影响较小, 而 CNPP 与 SP 质量比 (X_3) 对 CNPSPC 产率起到了很大的作用。根据图 3g, h, i, 当 pH 值 (X_2) 为 4.0 和 6.0 时, CNPSPC 产率较低; 当 pH 值 (X_2) 在 5.0 附近时, CNPSPC 的产率较高与温度对 CNPSPC 产率的影响相比, pH 值 (X_2) 对 CNPSPC 产率的影响较为明显, 但与 CNPP 与 SP 质量比 (X_3) 对 CNPSPC 产率的影响相比较弱。

以上分析可知, pH 值 (X_2) 对 CNPSPC 产率的

影响最大, CNPP 与 SP 质量比 (X_3) 次之, 温度 (X_1) 影响最小。在寻求最佳合成反应工艺参数时, 要综合考虑各因素的影响。

2.2.4 人工神经网络反应条件优化

基于 X_1, X_2 和 X_3 等 3 个因素对 CNPSPC 产率的影响变化, 利用 JMP10.0 软件进行反应条件的优化, 预测指标为 Y 值, 其值越大越好, 结果见图 4。

由图 4 可知, 在期望值 (意愿) 达到 0.989 时, 即在底物 CNPP 和 SP 质量比为 4:1, 反应温度为 46.17 °C, 反应 pH 为 4.97 时, CNPSPC 产率的预测值可达 87.28%。为方便实际操作并考虑水浴锅的温度控制, 将最优参数调整为: 底物 CNPP 与 SP 质量比为 4:1, 反应温度为 46.2 °C, 反应 pH 为 4.97。对此条件进行稳定性试验发现产率可达 (87.0±0.10)%。与预测提取率误差为 0.16%, 偏差不大, 因此, 在此条件进行类蛋白反应可以实现较高的 CNPSPC 产率。

2.2.5 人工神经网络模型的验证

随机选择 4 组实验数据对神经网络模型进行验证试验, 结果见表 3。

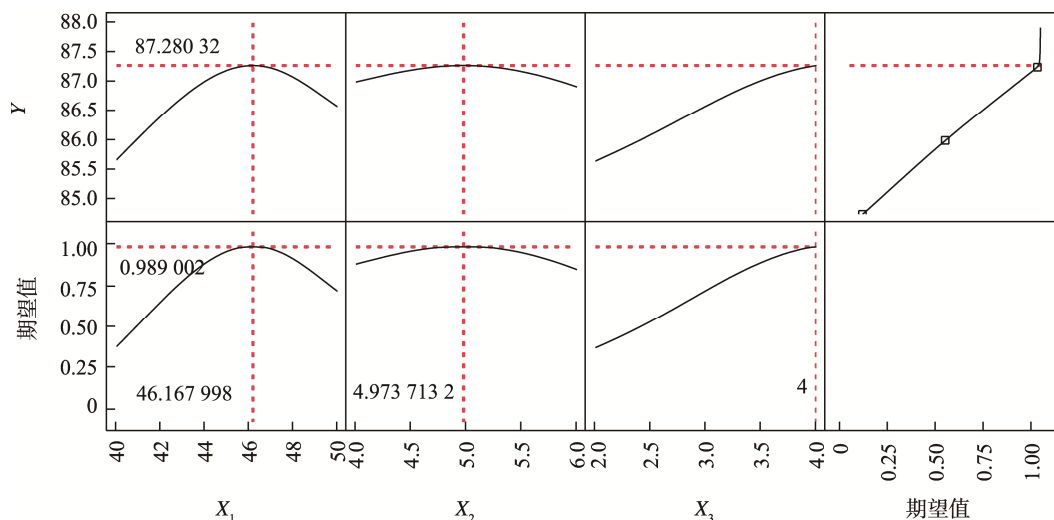


图 4 对温度(X_1), pH(X_2), CNPP 与 SP 质量比(X_3)的预测刻画图
Fig 4 Prediction plot of temperature (X_1), pH (X_2), mas ratio of CNPP and SP (X_3)

表 3 神经网络模型的验证试验

Tab.3 Verification test of neural network model

试验号	类蛋白反应工艺参数			产率/%				
	X_1	X_2	X_3	$Y_{\text{试验1}}$	$Y_{\text{试验2}}$	$Y_{\text{试验平均值}}$	$Y_{\text{预测}}$	相对误差/%
1	45	5	3:1	86.46	86.78	86.62	86.78	0.09
2	45	6	4:1	86.77	86.33	86.55	86.75	0.12
3	50	5	4:1	85.78	86.38	86.08	86.59	0.29
4	40	5	2:1	85.90	84.98	85.44	85.82	0.22

注: 相对误差 = $\frac{|\text{试验值} - \text{平均值}|}{\text{平均值}} \times 100\%$, 平均值 = $\frac{\text{试验值} + \text{预测值}}{2}$

从表3可知,预测值和试验值的相对误差很小,能较为准确地预测 CNPSPC 产率,因此可以利用该神经网络对整个合成类蛋白过程进行预测分析。

3 结语

以“K 折叠”交叉验证的方式建立人工神经网络的模型,得到合成类蛋白反应的最优工艺条件:在底物 CNPP 和 SP 质量比为 4:1,温度为 46.2 °C,反应 pH 为 4.97,反应时间为 20 h 时, CNPSPC 的产率最大可达到 (87.0±0.10) %。该预测模型很好地优化了大豆蛋白-酪蛋白类蛋白反应的工艺,并为人工神经网络在优化类蛋白反应条件方面的应用奠定了理论基础,通过优化制备出的 CNPSPC 具有良好的性质,可以在生物膜领域进行推广和应用。

参考文献:

- [1] 张微,霍贵成.合成类蛋白的研究进展[J].食品工业科技,2007(6):243—245.
ZHANG Wei, HUO Gui-cheng. Research Progress of Synthetic Plastein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2007(6): 243—245.
- [2] 龙国徽.大豆蛋白的结构特征与营养价值的关系[D].长春:吉林农业大学,2015.
LONG Guo-hui. The Relationship between Structural Characteristics and Nutritional Value of Soybean Protein[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2015.
- [3] 曲玲玲,郭长慧,刘丽洁,等.基于灰色关联分析法的大豆蛋白酶解工艺优化[J].食品与机械,2015(5):217—221.
QU Ling-ling, GUO Chang-hui, LIU Li-jie, et al. Optimization on Enzymatic Hydrolysis Process of Soybean Protein by Grey Correlation Analysis[J]. Food & Machinery, 2015(5): 217—221.
- [4] ZHANG Na, GUO Qing-qi, SHI Yan-guo, et al. Preparation of Casein Non-phosphopeptide-soybean Polypeptide Complex. Its Structure and Emulsifying Properties' Evaluation[J]. European Food Research and Technology, 2019, 245(2): 355—363.
- [5] 黄文秀,郭庆启,石彦国,等.酪蛋白非磷酸肽对大豆多肽的修饰及重组体的乳化性表征[J].食品科学,2014,35(9):157—161.
HUANG Wen-xiu, GUO Qing-qi, SHI Yan-guo, et al. Soybean Polypeptide Modification by Casein Non-phosphopeptides(CNPPs) and Emulsification Properties of the Resulting Complexes[J]. Food Science, 2014, 35(9): 157—161.
- [6] 张雅丽,王凤翼,宋世廉,等.蛋白质酶法修饰的初步探讨-大豆蛋白和芝麻蛋白的合成类蛋白质研究[J].食品与发酵工业,1994(2):8—13.
ZHANG Ya-li, WANG Feng-yi, SONG Shi-lian, et al. Preliminary Discussion Enzymatic Modification of Protein-study on Synthetic Proteins of Soybean Protein and Sesame Protein[J]. Food and Fermentation Industries, 1994(2): 8—13.
- [7] LEE K T, PARK S M, LEE S H, et al. High Temperature Cooking of Fish Protein Extracts for Plastein Reaction[J]. Preventive Nutrition & Food Science, 1997, 2(4): 321—327.
- [8] TSAI S J, YAMASHITA M, ARAI S, et al. Effect of Substrate Concentration on Plastein Productivity and Some Rheological Properties of the Products[J]. Agricultural & Biological Chemistry, 1972, 36: 1045—1049.
- [9] MONTI J C, JOST R. Papain-catalyzed Synthesis of Methionine-enriched Soy Plasteins[J]. Average Chain Length of the Plastein Peptides[J]. J Agric Food Chem, 1979, 27(6): 1281—1285.
- [10] WILLIAMS R J H, BROWNSSELL V L, ANDREWS A T. Application of the Plastein Reaction to Mycoprotein: I. Plastein Synthesis[J]. Food Chemistry, 2001, 72(3): 329—335.
- [11] 姚玉静,崔春,邱礼平,等.类蛋白反应条件及其机理探讨[J].中国调味品,2009,34(2):45—48.
YAO Yu-jing, CUI Chun, QIU Li-ping, et al. Review on the Conditions and Mechanism of Plastein Reaction[J]. China Condiment, 2009, 34(2): 45—48.
- [12] SUKAN G, ANDREWS A T. Application of the Plastein Reaction to Caseins and to Skim-milk Powder: Protein Hydrolysis and Plastein Formation[J]. Journal of Dairy Research, 1982, 49(2): 265—278.
- [13] 崔铁军.鱼蛋白水解物的类蛋白反应[J].大连水产学院学报,1990(1):9—15.
CUI Tie-jun. The Plastein Reactions of Fish Protein Hydrolysates[J]. Journal of Dalian Fisheries College, 1990(1): 9—15.
- [14] 岳楠,赵新淮.苯丙氨酸添加下酪蛋白类蛋白反应修饰物的抗氧化性质[J].食品工业科技,2011(10):99—102.
YUE Nan, ZHAO Xin-huai. In Vitro Antioxidant Activity of the Casein Hydrolysates Modified by Plastein Reaction in the Presence of Phenylalanine[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011(10): 99—102.
- [15] 刘振春,冯建国,刘春萌,等.合成类蛋白工艺优化及产物氨基酸分析[J].食品科学,2013,34(12):76—81.
LIU Zhen-chun, FENG Jian-guo, LIU Chun-meng, et

- al. Optimization of Plastein Synthesis and Amino Acid Analysis of Products[J]. Food Science, 2013, 34(12): 76—81.
- [16] YAMASHITA M, ARAI S, FUJIMAKI M. Plastein Reaction for Food Protein Improvement[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1976, 170(24): 9.
- [17] ZHONG F, WANG Z, XU S, et al. Functional Properties of Proteolytic Enzyme Modified Soy Protein Isolate[J]. Food Chemistry, 2007, 100(3): 1371—1375.
- [18] 冯建国. 大豆蛋白和燕麦蛋白合成类蛋白的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2013.
- FENG Jian-guo. Study on the Synthesis of Plastein from Soybean Protein and Oat Protein[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2013.
- [19] 朱晓杰. 海地瓜蛋白酶解物 Plastein 反应修饰及其 ACE 抑制活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- ZHU Xiao-jie. Research on Modification of Acaudina Molpadioidea Protein Hydrolysates by Plastein Reaction and Its Effects on ACE Activity[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [20] 张良, 刘书成, 章超桦, 等. 神经网络优化牡蛎的高密度 CO₂ 杀菌工艺[J]. 农业工程学报, 2011, 27(12): 369—373.
- ZHANG Liang, LIU Shu-cheng, ZHANG Chao-hua, et al. Optimization of Oyster-associated Bacteria Inactivation by Dense Phase Carbon Dioxide Based on Neural Network[J]. Transactions of the CSAE, 2011, 27(12): 369—373.