

DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2024.10.022

超声辅助酶法提取玉米胚芽粕水解蛋白及其抗氧化活性

马雪, 张雅娜, 郭丽, 李杨, 马志鹏
(绥化学院 食品与制药工程学院, 黑龙江 绥化 152061)

摘要: 以玉米胚芽粕为原料, 研究超声波辅助碱性蛋白酶提取玉米胚芽粕水解蛋白的工艺条件。通过单因素试验初步确定超声波辅助酶法提取玉米胚芽粕水解蛋白的条件, 在单因素试验基础上进行正交试验设计, 并测定其抗氧化活性。结果表明, 最优提取条件为超声温度 50 °C、超声时间 50 min、超声功率 140 W, 在此条件下, 玉米胚芽粕的水解蛋白提取率为 90.6%。对 DPPH 自由基和羟自由基的 IC₅₀ 分别为 17.56 μg/mL 和 28.41 μg/mL。

关键词: 玉米胚芽粕; 水解蛋白; 酶解; 超声辅助提取; 抗氧化活性

Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction of Maize Germ Meal Hydrolyzed Protein with Antioxidant Activity

MA Xue, ZHANG Yana, GUO Li, LI Yang, MA Zhipeng

(College of Food and Pharmaceutical Engineering, Suihua University, Suihua 152061, Heilongjiang, China)

Abstract: The ultrasound-assisted enzymatic extraction was employed to extract corn germ meal protein. Single factor tests were carried out to preliminarily determine the extraction conditions affecting the protein extraction rate. Furthermore, the orthogonal design was employed to optimize the extraction conditions. Finally, the antioxidant characteristics of the extracted protein were determined. The results showed that the optimal extraction conditions were ultrasound treatment at 50 °C and 140 W for 50 min, under which the protein extraction rate from maize germ meal was 90.6%. The IC₅₀ values of the extracted protein for scavenging the DPPH and hydroxyl free radicals were 17.56 μg/mL and 28.41 μg/mL, respectively.

Key words: maize germ meal; hydrolyzed protein; enzymatic hydrolysis; ultrasound-assisted extraction; antioxidant activity

引文格式:

马雪, 张雅娜, 郭丽, 等. 超声辅助酶法提取玉米胚芽粕水解蛋白及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(10): 165-170.

MA Xue, ZHANG Yana, GUO Li, et al. Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction of Maize Germ Meal Hydrolyzed Protein with Antioxidant Activity[J]. Food Research and Development, 2024, 45(10): 165-170.

玉米胚芽粕是玉米胚芽油生产的主要副产物^[1]。玉米胚芽作为玉米萌发的基础, 含有全面且丰富的营养物质, 玉米中的蛋白质分布主要集中在玉米胚芽, 去除油脂的玉米胚芽粕所含营养物质丰富, 具有极大的开发利用价值。玉米胚芽粕中必需氨基酸赖氨酸和蛋氨酸含量分别是玉米的 3.2 倍和 1.4 倍, 其中赖氨酸是玉米蛋白中易缺乏的限制氨基酸。目前, 玉米胚芽粕在国内主要作为动物饲料使用^[2], 玉米胚芽粕可以提

高畜类的生长性能、胴体品质、肉质及肉风味, 增加禽类的产蛋率等^[3], 但其利用效率相对较低^[4]。玉米胚芽蛋白的功能特性研究主要包括溶解性、吸油性、吸水性、乳化性等^[5], 玉米胚芽中的蛋白质还具有降低血压的作用^[6], 近年关于玉米胚芽蛋白抗氧化活性和护肝作用的研究较多^[7-10]。

目前玉米胚芽内蛋白的提取方法有微生物发酵法^[11]、反胶束法^[12]、醇法^[13]、酶法^[14-15]等。此外还有一些

基金项目: 黑龙江省省属本科高校基本科研业务费项目(YWK10236220244); 绥化学院科研创新团队(SIT05003)

作者简介: 马雪(1983—), 女(汉), 讲师, 硕士, 研究方向: 农产品加工与副产物综合利用。

关于物理方法辅助提取大豆蛋白的研究,但鲜有利用超声波辅助酶法提取玉米胚芽粕蛋白的研究。在众多提取方法中,酶法制备的反应条件温和,而且酶的来源众多,对提取的影响差异较大,酶的专一性特点也保证了产物的专一性,目标产物的安全性也优于其他方法。超声辅助法是将超声波产生的空化、振动、粉碎、搅拌等综合效应应用到天然产物成分提取工艺中,使生物体细胞壁破碎,细胞内容物溢出的过程,过程中可以辅助其他物理、化学生物方法,提高目标产物提取率。利用空穴效应、热效应和机械效应,提高被提取成分的溶出速度,不影响提取物的结构、活性,常用于提取植物内的有效成分^[16-18]。本试验以玉米胚芽粕为原料,研究超声波辅助碱性蛋白酶提取水解蛋白,并对提取水解蛋白的抗氧化活性进行研究,以期玉米胚芽粕在食品、医药等领域的应用提供科学依据,提高其应用价值。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

玉米胚芽粕:黑龙江昊天玉米开发有限公司;碱性蛋白酶(200 000 U/g):郑州万搏化工产品有限公司;牛血清蛋白、考马斯亮蓝、铁氰化钾、三氯乙酸、三氯化铁、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、邻二氮菲(均为分析纯):天津光复科技发展有限公司。

1.2 仪器与设备

电子分析天平(BT 2202S)、数显恒温水浴锅(HH-2):常州越新仪器制造有限公司;台式低速离心机(80-2):常州天璞仪器有限公司;紫外分光光度计(722):上海精密科学仪器有限公司;电热恒温水浴锅(HH-W):上海跃进机械厂;双频数控超声清洗器(KQ-200VDE):昆山市超声仪器有限公司;酸度计(PHS-3C):杭州齐威仪器有限公司;数显鼓风干燥箱(GZX-9240):上海博迅实业有限公司医疗设备厂。

1.3 试验方法

1.3.1 玉米胚芽粕水解蛋白提取工艺流程

玉米胚芽粕→粉碎→过筛(60目,25mm)→脱脂(体积比1:1加入石油醚,1.5h)→烘干(50℃,2h)→加去离子水→碱性蛋白酶酶解^[15]→超声处理→灭酶(80℃,10min)→离心(4 000 r/min,20min)→酶解液→测水解蛋白含量。

1.3.2 水解蛋白含量测定及标准曲线的绘制

采用考马斯亮蓝染料比色法测定水解蛋白含量,以吸光度为横坐标,水解蛋白含量为纵坐标,得到标准曲线回归方程为 $y=0.418x+0.0127$, R^2 为0.988。

1.3.3 超声波辅助碱性蛋白酶提取单因素试验

各因素参考条件设为酶解pH9.5、碱性蛋白酶添加量3%、酶解时间40min、酶解温度40℃。分别称

取2.0g已脱脂玉米胚芽粕5份放入烧杯中,按料液比1:20(g/mL)各加入40mL蒸馏水,同时置于40℃水浴,低速振荡1.5h,调节pH值至9.5,按1%、2%、3%、4%、5%加入碱性蛋白酶,烧杯口用保鲜膜密封,以防液体损失。放入超声仪器中,进行碱性蛋白酶添加量单因素试验。用相同方法分别以超声温度、超声时间、超声功率为单因素进行酶解试验,设置不同超声温度(30、40、50、60、70℃)、超声时间(20、30、40、50、60min)、超声功率(80、100、120、140、160W)为单因素条件。酶解后升温至80℃灭酶10min,酶解液4 000 r/min离心20min,取上清液5mL,以蒸馏水定容至100mL,备用,测定水解蛋白提取率。

1.3.4 水解蛋白提取率计算

水解蛋白提取率(X ,%)计算公式如下。

$$X = \frac{m_1}{m} \times 100$$

式中: m_1 为酶解液中水解蛋白含量,%; m 为原料液中蛋白质含量,%。

1.3.5 正交试验

以超声辅助碱性蛋白酶酶解过程的超声时间、超声温度、超声功率为正交试验因素,采用 $L_9(3^3)$ 的正交试验方法优化水解蛋白的提取工艺,正交因素水平见表1。

表1 $L_9(3^3)$ 正交试验因素水平

Table 1 Factors and levels of $L_9(3^3)$ orthogonal design

水平	A 超声温度/℃	B 超声时间/min	C 超声功率/W
1	40	40	120
2	50	50	140
3	60	60	160

1.3.6 玉米胚芽粕水解蛋白抗氧化活性测定

与相同浓度的抗坏血酸(V_C)作比对,研究玉米胚芽粕水解蛋白的抗氧化活性。

1.3.6.1 DPPH 自由基的清除作用测定

样品组:取2mL消化后的样品于干净烧杯中,加入等体积的DPPH溶液,充分混合。空白组:取消化后的2mL样品放入干净的烧杯中,与等体积的无水乙醇溶液充分混合。对照组:用2mL蒸馏水代替2mL消化后的样品,在干净烧杯中加入等体积的DPPH溶液,充分混合。将各混合溶液置于暗处30min后,采用紫外分光光度计测定其在517nm处的吸光度^[19-20],分别记为 A_i 、 A_j 、 A_c 。DPPH自由基清除率(I ,%)计算公式如下。

$$I = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_c} \right) \times 100$$

1.3.6.2 羟自由基的清除作用测定

参考库咏峰^[21]的方法测定羟自由基清除率。对照组:取2mL 0.2 mol/L pH7.4的磷酸缓冲液,加入1mL

蒸馏水、1 mL FeSO₄(0.75mol/L)和1 mL H₂O₂(0.01%),持续振荡1 min,再加入1 mL 邻菲罗啉。空白组:取2 ml 0.2mol/L pH7.4的磷酸缓冲液,加入1 mL 蒸馏水持续振荡1 min,再加入1 mL 邻菲罗啉。样品组:取2 mL 0.2 mol/L pH7.4的磷酸缓冲液,加入1 mL 样品、1 mL FeSO₄(0.75 mol/L)和1 mL H₂O₂(0.01%),持续振荡1 min,再加入1 mL 邻菲罗啉。采用紫外分光光度计在波长536 nm下测定其吸光度,分别记为A_p、A_b、A_s。羟自由基清除率(d,%)计算公式如下。

$$d = \frac{A_s - A_p}{A_b - A_p} \times 100$$

1.3.6.3 还原力的测定

铁离子还原能力(ferric ion reducing antioxidant power, FRAP)测定^[22]:准备醋酸-醋酸钠缓冲液(0.3 mol/L、pH3.6)、盐酸(40 mmol/L)配制的2,4,6-三(2-吡啶基)-1,3,5-三嗪[2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine, TPTZ](10 ml/L)及超纯水配制的FeCl₃(20 mmol/L)溶液,按照体积比10:1:1混合后制得所需FRAP溶液。0.1 mL 消化溶液加入1.8 mL FRAP,再加入3.1 mL 去离子水,在20 °C下反应8 min,于593 nm下测定其吸光度。还原力(A)计算公式如下。

$$A = A_1 - A_2$$

式中:A₁为消化样品的吸光度;A₂为空白组的吸光度。

1.4 数据处理

所有试验重复测定3次,数据以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 碱性蛋白酶添加量的确定

碱性蛋白酶添加量对玉米胚芽粕水解蛋白提取率的影响如图1所示。

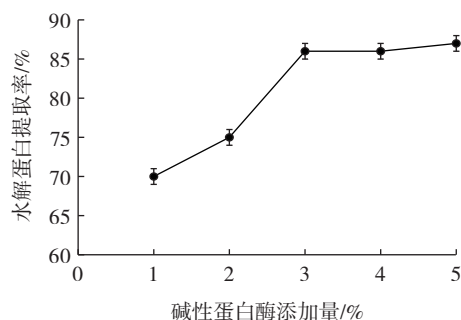


图1 碱性蛋白酶添加量对玉米胚芽粕水解蛋白提取率的影响
Fig.1 Effect of enzyme addition amount on the extraction rate of maize germ meal protein

由图1可知,碱性蛋白酶添加量由1%增加到5%的过程中,玉米胚芽粕水解蛋白提取率逐渐增大,3%为增长拐点,随后玉米胚芽粕水解蛋白提取率增加趋

势变小,与胡博等^[23]研究的趋势基本一致,可能是碱性蛋白酶添加量较大时,底物不足,产物积累对酶产生竞争性抑制,酶解速率降低。从生产成本角度考虑,选取3%为最佳提取条件。

2.2 超声辅助碱性蛋白酶酶解最适超声温度的确定

超声温度对玉米胚芽粕水解蛋白提取率的影响见图2。

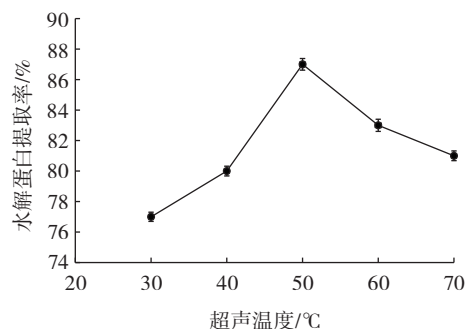


图2 超声温度对玉米胚芽粕水解蛋白提取率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic temperature on the extraction rate of maize germ meal protein

从图2可以看出,随着超声温度的升高,玉米胚芽粕水解蛋白提取率呈现增加趋势,而且增幅较大,超声温度为50 °C时,水解蛋白的提取率达到最大87.5%;当超声温度大于50 °C时,水解蛋白的提取率开始降低。与何爽等^[24]的研究趋势基本一致。经过分析可知,超声波在破坏细胞壁释放内容物时,细胞中释放的水解蛋白增多,温度适度升高可使水解蛋白溶解度变大,但超声温度升高也促使水解蛋白分子运动加剧,大量极性分子碰撞导致水解蛋白分子聚集沉降。所以,当超声温度大于50 °C时,反而降低了水解蛋白的溶解度,温度过高也会使部分水解蛋白变性,造成损失。因此,选取超声波辅助酶法提取玉米胚芽粕中水解蛋白的超声温度为50 °C。

2.3 超声辅助碱性蛋白酶酶解最适超声时间的确定

超声时间对玉米胚芽粕水解蛋白提取率的影响见图3。

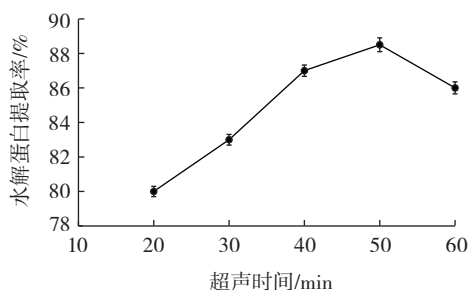


图3 超声时间对玉米胚芽粕水解蛋白提取率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic time on the extraction rate of maize germ meal protein

从图3可以看出,超声时间从20 min 延长到

50 min, 蛋白质的提取率逐渐增大, 当超声时间为 50 min 时, 超声波辅助碱性蛋白酶酶解的水解蛋白提取率达到最大 88.5%; 而超声时间从 50 min 延长到 60 min 时, 水解蛋白提取率逐渐下降。与薛颖等^[25]研究的趋势相似。提取率上升是因为超声波能加速释放细胞内物质, 利于其扩散与溶解。造成下降趋势的原因可能是随着超声波作用时间延长, 提取的水解蛋白易受到微生物的污染而变性, 或者溶液温度逐渐升高导致水解蛋白变性。玉米胚芽粕的松散程度逐渐接近极限, 不再继续提高玉米胚芽粕水解蛋白渗出速度。超声波的两种作用相互影响, 可能造成了玉米胚芽粕水解蛋白提取率的波动。当水解蛋白变性达到一定程度时, 提取率不再上升。因此, 初步确定最佳超声时间为 50 min。

2.4 超声辅助碱性蛋白酶酶解最适超声功率的确定
超声功率对玉米胚芽粕水解蛋白提取率的影响见图 4。

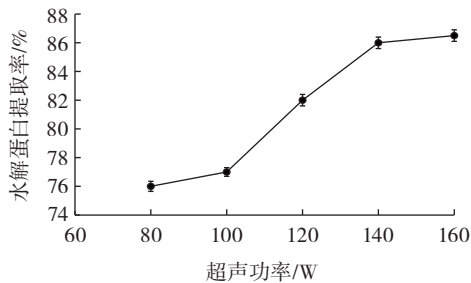


图 4 超声功率对玉米胚芽粕水解蛋白提取率的影响

Fig.4 Effect of ultrasonic power on the extraction rate of maize germ meal protein

从图 4 可以看出, 当超声功率从 80 W 增加到 100 W 时, 提取率增幅较小, 当继续增加到 120 W 时, 超声波辅助碱性蛋白酶酶解阶段的水解蛋白提取率缓慢增加由 77% 增加到 82%, 这可能是由于在此阶段超声功率与最适超声功率数值相差太多, 使得细胞不能达到很好的破碎效果, 不能使细胞中的内容物充分释放; 当超声功率继续升高达到 140 W 时, 水解蛋白的提取率达到 87%, 继续增加超声功率, 水解蛋白提取率增幅变缓, 可能是因为 140 W 已经最大程度破坏了细胞结构, 内部蛋白已经基本释放完全, 继续增加功率意义不大, 从经济、能耗角度考虑, 选择 140 W 作为最适超声功率。

2.5 正交试验设计及结果分析

以超声酶解过程的超声时间、超声温度、超声功率为影响因素, 水解蛋白提取率为考察指标, 进行正交试验设计, 结果见表 2。方差分析见表 3。

由表 2 可知, 各因素对水解蛋白的提取率影响主次为 B>C>A, 即超声时间对其影响最大, 其次为超声功率和超声温度。由表 3 可以看出, 超声时间对蛋白提取率的影响最大, 超声温度对蛋白提取率的影响最

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal test results

试验号	A 超声温度/°C	B 超声时间/min	C 超声功率/W	提取率/%
1	1(40)	1(40)	1(120)	83.5
2	1	2(50)	2(140)	89.5
3	1	3(60)	3(160)	86.3
4	2(50)	1	2	86.7
5	2	2	3	90.4
6	2	3	1	84.7
7	3(60)	1	3	85.6
8	3	2	1	87.7
9	3	3	2	88.1
k ₁	86.433	85.267	85.300	
k ₂	87.267	89.200	88.100	
k ₃	87.133	86.367	87.433	
R	0.834	3.933	2.800	
最优水平	A ₂	B ₂	C ₂	
最优组合	A ₂ B ₂ C ₂			

表 3 水解蛋白提取率方差分析

Table 3 Analysis of variance of the extraction rate of protein

因素	偏差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	1.03	2	0.51	1.26	0.44
B	25.05	2	12.53	30.72	0.03
C	12.66	2	6.33	15.52	0.06
误差	0.82	2	0.41		

注: $P < 0.05$ 表示影响显著。

小, 根据 F 值的大小, 得到的各因素对水解蛋白的提取率影响主次为超声时间>超声功率>超声温度, 这与极差分析所得结果一致。

结果表明, 水解蛋白提取最优组合为 A₂B₂C₂, 即超声温度 50 °C、超声时间 50 min、超声功率 140 W。在 A₂B₂C₂ 条件下进行超声辅助酶解, 最终得到的玉米蛋白提取率为 90.6%, 高于正交试验任一组。因此, A₂B₂C₂ 为提取玉米蛋白的最佳条件。

2.6 抗氧化活性测定结果

2.6.1 DPPH 自由基清除能力

超声波辅助碱性蛋白酶酶解提取液 DPPH 自由基清除能力如图 5 所示。

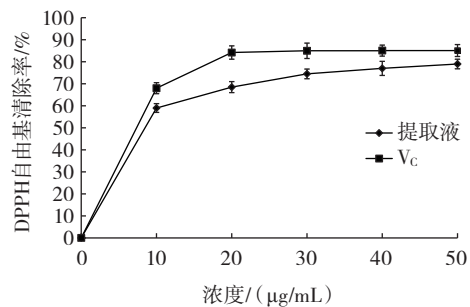


图 5 玉米胚芽粕水解蛋白 DPPH 自由基清除能力

Fig.5 Scavenging effect of maize germ meal protein on DPPH free radicals

由图5可知,与常用的食品抗氧化剂 V_C 作比较,在相同浓度下,超声波辅助碱性蛋白酶提取液对DPPH自由基的清除能力略低于 V_C ,且二者清除率变化趋势相似。浓度为 $10\ \mu\text{g/mL}$ 时,两者均具有较好的清除率,均高于55%,随着提取液浓度的增加,DPPH自由基的清除率增加并趋于平缓。提取液中含有可以提供电子的产物,这些消化产物可与DPPH自由基进行反应,结合转化成为为稳定产物,终止自由基的连锁反应。当提取液浓度达到 $50\ \mu\text{g/mL}$ 时,提取液对DPPH自由基的清除率与 V_C 曲线相差最小。经SPSS软件做线性回归后得半抑制浓度 IC_{50} 值为 $17.56\ \mu\text{g/mL}$ 。

2.6.2 羟自由基清除能力

超声波辅助碱性蛋白酶酶解提取液羟自由基清除能力如图6所示。

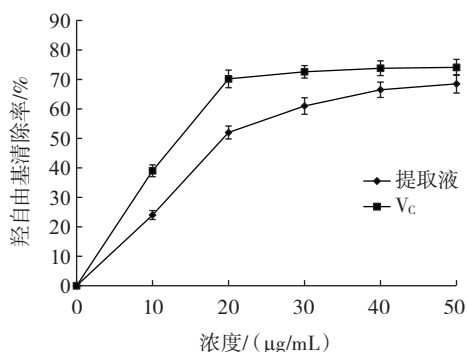


图6 玉米胚芽粕水解蛋白羟自由基清除能力

Fig.6 Scavenging effect of maize germ meal protein on hydroxyl free radicals

由图6可知,在相同浓度下,提取液的羟自由基清除率变化趋势与 V_C 相似,羟自由基清除率随着浓度增大而增加。可以推测,同DPPH自由基清除率一样,提取液中含有可以提供电子的产物,这些消化产物可与羟自由基进行反应,结合转化成为为稳定产物,终止自由基的连锁反应。当提取液浓度达到 $50\ \mu\text{g/mL}$ 时,提取液的羟自由基清除率与 V_C 标准曲线相差最小,可知在此浓度时,羟自由基清除能力较好。经SPSS软件做线性回归后得半抑制浓度 IC_{50} 值为 $28.41\ \mu\text{g/mL}$ 。

2.6.3 还原力

超声波辅助碱性蛋白酶酶解提取液还原力如图7所示。

由图7可知,在相同浓度下,提取液还原力变化趋势与 V_C 相似,吸光度随浓度增加而增大,测得吸光度越大,说明还原力越强。当提取液浓度为 $50\ \mu\text{g/mL}$ 时,其吸光度与 V_C 标准曲线相差较小,还原力与 V_C 相似。可能是由于提取蛋白液中氨基酸侧链羧基数量引起螯合能力的变化,玉米胚芽粕水解蛋白氨基酸侧链中活性部位暴露,导致水解物的 Fe^{2+} 螯合能力增强。

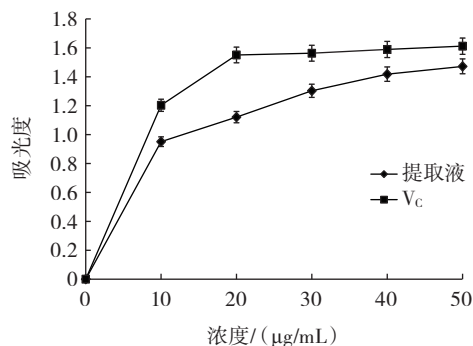


图7 玉米胚芽粕水解蛋白还原力

Fig.7 Reducing power of maize germ meal protein

3 结论

以玉米胚芽粕为原料,采用超声波辅助酶解的方法提取玉米胚芽粕中的水解蛋白。通过单因素试验确定最佳的试验条件,再通过正交试验优化了超声辅助酶法从玉米胚芽粕中提取蛋白的提取工艺,结果表明,最优提取工艺为超声温度 $50\ ^\circ\text{C}$ 、超声时间 $50\ \text{min}$ 、超声功率 $140\ \text{W}$,从玉米胚芽粕中提取水解蛋白的提取率可达到 90.6% 。在最优条件下超声波辅助碱性蛋白酶酶解后的提取液对DPPH自由基和羟自由基 IC_{50} 分别为 $17.56\ \mu\text{g/mL}$ 和 $28.41\ \mu\text{g/mL}$ 。

参考文献:

- 程传民, 李云, 王宇萍, 等. 玉米胚芽粕质量安全现状与应用[J]. 中国饲料, 2021(5): 78-83.
CHENG Chuanmin, LI Yun, WANG Yuping, et al. Quality and application of corn germ meal[J]. China Feed, 2021(5): 78-83.
- 李永霞. 日粮中添加玉米胚芽粕对藏羔羊生长性能及瘤胃细菌菌落的影响[J]. 饲料研究, 2022, 45(15): 23-26.
LI Yongxia. Effect of supplementing corn germ meal in diets on growth performance and rumen bacterial colonies of Tibetan lamb [J]. Feed Research, 2022, 45(15): 23-26.
- URBANO S A, DE ANDRADE FERREIRA M, MADRUGA M S, et al. Corn germ meal as substitute for corn in the diet of confined Santa Inês sheep: Chemical and lipid meat composition[J]. Ciência Agrotecnologia, 2014, 38(6): 581-588.
- 任秀艳, 王孟云, 曹戈, 等. 玉米胚芽粕蛋白功能特性研究[J]. 食品科技, 2014, 39(6): 187-192.
REN Xiuyan, WANG Mengyun, CAO Ge, et al. Functional properties of corn germ meal protein[J]. Food Science and Technology, 2014, 39(6): 187-192.
- WANG X, JIN S P, GOU C C, et al. Extraction optimization and functional properties of corn germ meal albumin protein as a potential source of novel food ingredients[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2022, 46(2): e16218.
- 魏涵伟, 王成忠, 任振峰. 玉米胚芽多肽的研究进展[J]. 中国调味品, 2019, 44(5): 184-188.
WEI Hanwei, WANG Chengzhong, REN Zhenfeng. Research progress of corn germ peptides[J]. China Condiment, 2019, 44(5): 184-188.
- MUSA A, GASMALLA M A A, MA H L, et al. Effect of a multi-frequency counter-current S-type ultrasound pretreatment on the de-

- fatted corn germ protein: Enzymatic hydrolysis, ACE inhibitory activity and structural characterization[J]. *Food & Function*, 2019, 10(9): 6020-6029.
- [8] YU Y L, GUAN S Y, FENG M M, et al. Hepatoprotective effect of albumin peptide fractions from corn germ meal against alcohol-induced acute liver injury in mice[J]. *Foods*, 2023, 12(6): 1183.
- [9] 王立军. 玉米胚芽粕清蛋白醒酒护肝活性肽的制备及活性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- WANG Lijun. The research on preparation and activity of sober and hepatoprotective peptides from corn germ meal albumin[D]. Changchun: Jilin University, 2017.
- [10] 高泽汝, 宁梦茹, 刘昆仑, 等. 酶法制备玉米胚芽 ACE 抑制肽的研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2020, 41(5): 44-49.
- GAO Zeru, NING Mengru, LIU Kunlun, et al. Preparation of ACE inhibitory peptides from maize germ by enzymatic hydrolysis[J]. *Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition)*, 2020, 41(5): 44-49.
- [11] CHEN L, QU Z H, YU W, et al. Comparative genomic and transcriptome analysis of *Bacillus velezensis* CL-4 fermented corn germ meal[J]. *AMB Express*, 2023, 13(1): 10.
- [12] 任婷婷, 吕双双, 李书国. 反胶束法萃取玉米胚芽蛋白及其功能性研究[J]. *粮油食品科技*, 2014, 22(2): 80-84.
- REN Tingting, LYU Shuangshuang, LI Shuguo. Extraction of protein from corn germ by reverse micelle and its functionality[J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2014, 22(2): 80-84.
- [13] 韩忠杰, 熊柳, 孙庆杰, 等. 醇法制取玉米胚芽蛋白的工艺[J]. *中国粮油学报*, 2013, 28(3): 40-44, 98.
- HAN Zhongjie, XIONG Liu, SUN Qingjie, et al. Preparation technique of corn germ protein by alcohol leaching[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2013, 28(3): 40-44, 98.
- [14] 任健, 张明站. 碱性蛋白酶水解脱脂玉米胚芽粕工艺的研究[J]. *中国油脂*, 2013, 38(7): 27-29.
- REN Jian, ZHANG Mingzhan. Hydrolysis of defatted corn germ meal by Alcalase[J]. *China Oils and Fats*, 2013, 38(7): 27-29.
- [15] 马雪, 关海宁, 郭丽, 等. 双酶法提取玉米胚芽粕水解蛋白及抗氧化活性[J]. *食品工业*, 2019, 40(7): 85-90.
- MA Xue, GUAN Haining, GUO Li, et al. Double enzymatic modification and antioxidant characteristics on the protein extraction from corn germ meal[J]. *The Food Industry*, 2019, 40(7): 85-90.
- [16] 袁莉婷, 刘玉德, 石文天, 等. 响应面优化超声波辅助碱法提取海带蛋白工艺[J]. *中国食品添加剂*, 2021, 32(4): 23-33.
- YUAN Liting, LIU Yude, SHI Wentian, et al. Optimization of ultrasonic-assisted alkaline extraction of kelp protein by response surface method[J]. *China Food Additives*, 2021, 32(4): 23-33.
- [17] 师聪, 解春芝, 官号, 等. 响应面法优化超声辅助提取覆盆子水溶性蛋白工艺及抗氧化研究[J]. *中国食品添加剂*, 2022, 33(1): 83-89.
- SHI Cong, XIE Chunzhi, GONG Hao, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of raspberry water-soluble proteins by response surface methodology and its antioxidant activity[J]. *China Food Additives*, 2022, 33(1): 83-89.
- [18] 冯拓, 李超, 单培, 等. 超声波辅助碱提香菇柄中水溶性蛋白的工艺[J]. *食品工业*, 2019, 40(7): 16-20.
- FENG Tuo, LI Chao, SHAN Pei, et al. Ultrasonic-assisted alkali extraction of water soluble protein from *letinous edodes stem*[J]. *The Food Industry*, 2019, 40(7): 16-20.
- [19] 王静, 韩莹, 孙玉利, 等. 体外模拟胃肠消化对西瓜和苹果抗氧化活性的影响[J]. *陕西科技大学学报*, 2020, 38(3): 41-46.
- WANG Jing, HAN Ying, SUN Yuli, et al. The effect of simulated digestion *in vitro* on antioxidant activity of watermelon and apple[J]. *Journal of Shaanxi University of Science & Technology*, 2020, 38(3): 41-46.
- [20] YAN J K, DING Z C, GAO X L, et al. Comparative study of physicochemical properties and bioactivity of *Hericium erinaceus* polysaccharides at different solvent extractions[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 193: 373-382.
- [21] 库咏峰. 肉桂总黄酮提取分离分析及抗氧化活性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2012.
- KU Yongfeng. Study on extraction and separation Analysis&Antioxidant activity of total flavonoids from cinnamon[D]. Nanning: Guangxi University, 2012.
- [22] 孙英. 茶籽饼粕多肽的制备、纯化及抗氧化活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- SUN Ying. Study on the extraction, purification and antioxidant activity of peptide from *Camellia seeds meal*[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013.
- [23] 胡博, 高盼, 毛燕妮, 等. 酶法辅助提取、纯化米糠蛋白工艺优化[J]. *中国油脂*, 2023, 48(8): 115-120, 136.
- HU Bo, GAO Pan, MAO Yanni, et al. Optimization of enzyme assisted extraction and purification of rice bran protein[J]. *China Oils and Fats*, 2023, 48(8): 115-120, 136.
- [24] 何爽, 敬思群. 同步加酶超声提取核桃油和核桃蛋白肽[J]. *食品工业*, 2015, 36(5): 1-5.
- HE Shuang, JING Siqun. Walnut oil and walnut peptides synchrotron enzyme supplementation ultrasonic extraction process optimization[J]. *The Food Industry*, 2015, 36(5): 1-5.
- [25] 薛颖, 王联结, 党艳妮, 等. 超声波辅助碱法提取玉米胚芽粕蛋白质工艺研究[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(2): 248-252.
- XUE Ying, WANG Lianjie, DANG Yanni, et al. Study on ultrasonic-assisted alkali extraction techniques of protein from corn germ meal[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015, 36(2): 248-252.

责任编辑:冯娜
收稿日期:2022-04-27