

油菜籽多肽的制备工艺

冉仁森¹, 陈锦屏^{1,*}, 米瑞芳¹, 杨笑¹, 杨秀玲², 杨亚娟¹, 陈杰¹

(1. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062;

2. 陕西师范大学旅游与环境学院, 陕西 西安 710062)

摘要: 以油菜籽饼粕为原料, 建立碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的优化工艺, 研究透析袋制备油菜籽饼粕粗多肽的工艺。在单因素试验的基础上采用正交试验研究酶解菜籽饼粕蛋白的最优条件, 将水解产物透析不同的时间, 探究透析时间对油菜籽饼粕粗多肽制备工艺的影响。确定碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的最适条件为: 酶解pH8.0、酶解温度50℃、加酶量1200U/g、酶解时间40min; 利用透析袋制备油菜籽饼粕粗多肽条件为: 将菜籽饼粕蛋白酶解液浓缩后, 按体积比1:6与双蒸水混合, 在5℃环境中透析48h, 在该条件下, 油菜籽饼粕粗多肽的肽氮含量为96.78%, 油菜籽饼粕粗多肽占菜籽饼粕蛋白的5.89%。

关键词: 菜籽饼粕; 碱性蛋白酶; 粗多肽

Enzymatic Preparation of Crude Polypeptides from Rapeseed Meal

RAN Ren-sen¹, CHEN Jin-ping^{1,*}, MI Rui-fang¹, YANG Xiao¹, YANG Xiu-ling², YANG Ya-juan¹, CHEN Jie¹

(1. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China;

2. College of Tourism and Environment, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: The current study aimed to develop an optimized procedure for preparing crude polypeptides by the alcalase-catalyzed hydrolysis of rapeseed meal and subsequent dialysis. The results of optimization by orthogonal array design on the basis of one-factor-at-a-time experiments showed that the optimal conditions for enzymatic hydrolysis of rapeseed meal were found to be 40 min of reaction at 50 °C and initial pH 8.0 by the addition of 1200 U/g of alcalase. The hydrolysate was dialyzed against a 6-fold volume of double distilled water at 5 °C for 48 h. After subsequent lyophilization, the lyophilisate contained 96.78% polypeptides.

Key words: rapeseed meal; alcalase; crude polypeptides

中图分类号: TS229

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)23-0245-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201323050

油菜籽饼粕中蛋白质含量高达30%~45%, 却没有很好的开发利用, 80%的油菜籽饼粕被用做肥料^[1]。油菜籽蛋白氨基酸组成平衡, 符合联合国粮食及农业组织的要求, 但是由于油菜籽饼粕中存在抗营养因子, 因此目前油菜籽饼粕主要作为饲料和肥料^[2-4]。油菜籽多肽是油菜籽蛋白经蛋白酶酶解后, 得到的蛋白质水解产物, 具有增强免疫力、抗氧化、降血压、抑制肿瘤生长、抗艾滋病的生理功能^[5]。因此研究油菜籽饼粕粗多肽的制备工艺, 对于油菜籽蛋白资源的开发利用具有积极的现实意义。目前为止, 前人对油菜籽多肽的研究多集中于油菜籽蛋白酶酶解最优工艺、油菜籽多肽功能性质和生物活性、油菜籽多肽分离纯化。黄亮等^[6]以油菜籽蛋白为原

料, 探究不同酶酶解油菜籽蛋白的效果, 最终确定碱性蛋白酶酶解菜籽蛋白, 水解度达32.19%; 李菊芳等^[7]研究了微波辅助风味蛋白酶酶解油菜籽蛋白制备油菜籽多肽的工艺, 最终油菜籽蛋白水解度达25.64%, 水解度偏低; 鞠兴荣等^[8]用两环枯草芽孢杆菌固态发酵法来制备油菜籽肽, 最终获得的油菜籽多肽具有较高的清除DPPH自由基能力; Sari等^[9]详细研究了不同酶解油菜籽蛋白与不同pH值下水解油菜籽蛋白获得不同的油菜籽蛋白水解产物的抗ACE活性和防脂质氧化的活性, 研究结果表明油菜籽蛋白水解产物是一种抗ACE活性的功能性食品资源。油菜籽蛋白酶解液一般先采用盐析、等电点沉淀、超滤和有机溶剂分级等分离方法, 去除大部分杂质或对

收稿日期: 2013-07-19

基金项目: 陕西师范大学国家级大学生创新性实验计划项目(201210781029);

陕西师范大学校级一般全国大学生创新创业训练项目(CX12182)

作者简介: 冉仁森(1990—), 男, 本科, 研究方向为食品科学与工程。E-mail: sankeshumy@163.com

*通信作者: 陈锦屏(1937—), 女, 教授, 本科, 研究方向为食品科学。E-mail: Chenjp@snnu.edu.cn

溶液进行浓缩,再使用离子交换、凝胶过滤、吸附层析、高效液相色谱等方法进行下一步分离纯化^[10-11]。

对于油菜籽多肽而言,酶解液中的杂质大多为大分子物质,而这些杂质可采用调节蛋白酶解液的pH值,使未水解的蛋白质沉淀,从而除去部分杂质;也可以采用超滤,按膜的截留相对分子质量对物料进行分离,从而使酶解液中油菜籽多肽分离出来。但是鉴于以上方法存在操作复杂的问题,因此有必要找到一种操作简单的制备油菜籽多肽的新方法。本实验在单因素试验的基础上,利用正交试验优化碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的工艺,以期在最优工艺的基础上初步探究利用透析袋截留相对分子质量的差异来制备油菜籽饼粕粗多肽的可能性,为油菜籽饼粕粗多肽的制备提供新的研究方法。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

油菜籽饼粕购自陕西安康恒口镇油菜籽油生产企业,油菜籽品种是秦优7号。

碱性蛋白酶(Alcalase, 10000U/g) 西安市森博生物有限责任公司;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

LGI-18C真空冷冻干燥机 北京四环科学仪器厂;Kjeltec2300全自动凯氏定氮仪 瑞典福斯公司;722型可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司;PHS-3C精密pH计 上海精密科学仪器有限公司;GZX-9146MBE数显鼓风干燥箱 上海博讯实业有限公司医疗设备厂。

1.3 方法

1.3.1 指标测定

蛋白质含量的测定:GB5009.5—2010《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》;水分含量的测定:GB5009.3—2010;硫苷葡萄糖苷的测定,参照氯化钡快速检测法^[12];水解度的测定采用pH-stat法^[13];肽氮含量的测定采用电位滴定法:肽氮=总氮含量-氨基酸态氮,总氮含量的测定:GB5009.5—2010《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》,氨基酸态氮采用甲醛滴定法测定^[14];菜籽饼粕蛋白的提取参照Wu等^[15]的方法;菜籽饼粕蛋白的沉淀采用醇沉法;菜籽饼粕蛋白的纯化参照Chabanon等^[16]的方法。

1.3.2 菜籽饼粕蛋白制备

1.3.2.1 油菜籽饼粕脱脂脱毒工艺

油菜籽饼粕脱脂脱毒工艺参考何国菊^[17]、李菊芳^[18]等的方法,并略作修改。将油菜籽饼粕用万能粉碎机粉碎,过40目筛备用;称取粉碎后的油菜籽饼粕25.00g于1000mL磨口三角烧瓶内,加入氯仿-甲醇提取液300mL,再加入10mL蒸馏水,连接氯仿-甲醇提取装置进行提取,提取结束后抽滤,收集滤渣,80℃干燥约1h,冷却至室

温粉碎过40目筛备用;称取脱脂油菜籽饼粕200g于磁力搅拌器中,按料液比1:6(m/V)加入浸洗液甲(硫酸-甲醇-水体积比4:90:6),于室温下用磁力搅拌器搅拌浸洗30min后,抽滤,留滤渣;再按料液比1:6(m/V)加入浸洗液甲,于室温下用磁力搅拌器搅拌浸洗20min,抽滤,留滤渣;最后按料液比1:6(m/V)加入浸洗液乙(甲醇-水体积比90:10),于室温下用磁力搅拌器搅拌浸洗10min,抽滤,留滤渣并于80℃烘干1h,过40目筛备用。

1.3.2.2 菜籽饼粕蛋白提取工艺

菜籽饼粕蛋白的提取参照Wu等^[15]的方法,并加以修改。称取50g脱脂脱毒油菜籽饼粕,按料液比1:10(m/V)加入pH8.0、0.05mol/L的磷酸盐缓冲液,再加入0.5mol/L氯化钠,搅拌均匀,室温下振荡提取1h,离心获得上清液。菜籽饼粕蛋白的沉淀采用醇沉法:设置乙醇体积分数:65%、70%、75%、80%、85%,探究最佳醇沉时乙醇的体积浓度。对醇沉菜籽饼粕蛋白的纯化参照Chabanon等^[16]的方法,并作如下修改。截留分子质量为12kD的透析袋剪成20cm长的小段,菜籽饼粕蛋白沉淀物按1:6(m/V)溶于蒸馏水中,混合摇匀,再将混合液注入透析袋中约15cm处,然后将透析袋浸没于透析液(去离子水)中于5℃中透析48h,于12、24h分别更换去离子水。醇沉菜籽饼粕蛋白纯化后真空冷冻干燥得到菜籽饼粕蛋白,于-4℃冰箱中保存,备用。

1.3.3 碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白

1.3.3.1 酶解pH值对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响

称取2g碱性蛋白酶溶于100mL蒸馏水中(现配现用)配制成碱性蛋白酶液,称取20g菜籽饼粕蛋白溶于1000mL蒸馏水中制成菜籽饼粕蛋白溶液。设置酶解pH值梯度:7.0、7.5、8.0、8.5、9.0,在50℃、加酶量为1000U/g的条件下,酶解30min。采用加热灭酶法^[19]:沸水浴10min灭酶,冷却至室温测定菜籽饼粕蛋白水解度。

1.3.3.2 酶解温度对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响

设置酶解温度梯度:30、40、50、60、70℃,在pH8.0、加酶量为1000U/g的条件下,酶解30min,沸水浴10min灭酶,冷却至室温测定菜籽饼粕蛋白水解度。

1.3.3.3 加酶量对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响

设置加酶量为:200、600、1000、1400、1800U/g,在50℃、pH8的条件下,酶解30min,沸水浴10min灭酶,冷却至室温测定菜籽饼粕蛋白水解度。

1.3.3.4 酶解时间对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响

设置酶解时间梯度:10、20、30、40、50min,在pH8.0、加酶量为1000U/g、50℃条件下酶解,沸水浴10min灭酶,冷却至室温后测定菜籽饼粕蛋白水解度。

1.3.3.5 碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的正交试验设计

根据以上结果,选用L₁₆(4⁵)正交表设计试验,对pH值、酶解温度、加酶量、酶解时间4个因素进行优化。

1.3.4 油菜籽饼粕粗多肽制备

按照上述最优酶解条件,添加碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白,在45℃的环境下真空浓缩酶解液到25mL,冷却至室温。将浓缩液与双蒸水按积比1:6混合摇匀,再用截留分子质量为3.5kD的透析袋浸没于透析液(去离子水)中于5℃的冰箱中透析,设置透析时间:12、24、48h,收集透析液,真空冷冻干燥,测定油菜籽饼粕粗多肽的质量和氮含量。

2 结果与分析

2.1 菜籽饼粕蛋白的制备

沉淀菜籽饼粕蛋白的最佳乙醇体积分数为75%,测定菜籽饼粕蛋白等几种组分的含量见表1。菜籽饼粕蛋白含量为85.73%,硫代葡萄糖苷未检出。菜籽饼粕蛋白提取率为76.69%,得率为47.84%,油菜籽饼粕经过脱脂脱毒,大部分的硫代葡萄糖苷、植酸、单宁等抗营养成分可能均被脱除,醇溶性蛋白质和少量的水溶性蛋白质也被脱除。在醇沉过程中,菜籽饼粕蛋白沉淀可能也会伴随着一些糖和纤维素的沉淀以及一些醇溶性蛋白质的溶解,使菜籽饼粕蛋白的蛋白质含量只达到85.73%。透析过程中,理论上小分子物质和无机盐均被脱除,但是也可能因为一些小分子物质与菜籽饼粕蛋白有弱相作用,如氢键、偶极作用等,导致这些小分子物质无法被透析掉,所以制备的菜籽饼粕蛋白呈现出淡黄色。

表1 油菜籽饼粕、脱脂脱毒油菜籽饼粕、菜籽饼粕蛋白的部分成分含量
Table 1 Composition of rapeseed meal, detoxicated and defatted rapeseed meal and rapeseed protein

样品	蛋白质含量/%	水分含量/%	硫代葡萄糖苷含量/(mg/g)
油菜籽饼粕	34.88	13.37	9.8
脱脂脱毒油菜籽饼粕	46.34	10.78	
菜籽饼粕蛋白	85.73		

2.2 碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的单因素试验

2.2.1 酶解pH值对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响

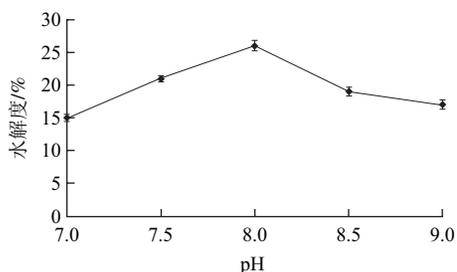


图1 pH值对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响
Fig.1 Effects of initial pH on the alkalase-catalyzed hydrolysis of rapeseed protein

由图1可知, pH值低于8.0时,水解度随着pH值的增加而增加;当pH值高于8.0时,水解度随着pH值的增加而降低。当pH值为8.0时,碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的效果最好,达到26%,所以选择酶解pH值为8.0。

2.2.2 酶解温度对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响

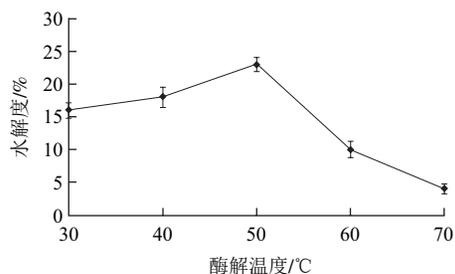


图2 酶解温度对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响
Fig.2 Effect of hydrolysis temperature on the alkalase-catalyzed hydrolysis of rapeseed protein

由图2可知,温度低于50℃时,水解度随着温度的升高而增加;温度高于50℃时,水解度随着温度的升高而急剧下降,这是由于酶解温度超过50℃,导致碱性蛋白酶失活,而加热导致菜籽饼粕蛋白内部化学键断裂发生水解,所以菜籽饼粕蛋白仍有一定程度的水解。当酶解温度为50℃时,菜籽饼粕蛋白的水解度达到最大值23%,所以选择酶解温度为50℃。

2.2.3 加酶量对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响

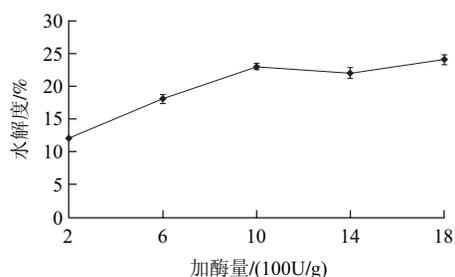


图3 加酶量对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响
Fig.3 Effect of enzyme/substrate ratio on the alkalase-catalyzed hydrolysis of rapeseed protein

由图3可知,加酶量小于1000U/g时,随着酶液体积的增加,水解度也增加;当加酶量大于1000U/g时,随着酶液体积的增加,水解度基本保持不变。当加酶量为1000U/g时,水解度达到最大值23%,所以选择加酶量为1000U/g。

2.2.4 酶解时间对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响

由图4可知,随着时间的延长,水解度呈现提高的趋势,随后水解度提高的速率几乎为0。30min之前,酶解反应还在继续进行,水解度随着时间的延长而提高的;30min之后,酶解反应基本达平衡,故而水解度基本不再变化。当酶解时间30min左右,水解度达到最大值28%,所以选择酶解时间为30min。

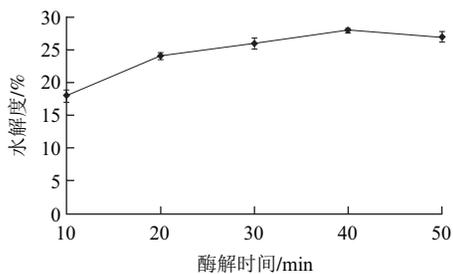


图4 酶解时间对碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的影响

Fig.4 Effects of hydrolysis time on the alkalase-catalyzed hydrolysis of rapeseed protein

2.3 碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的正交试验

表2 碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白 $L_{16}(4^5)$ 正交试验分析Table 2 Orthogonal array design $L_{16}(4^5)$ and results for the alkalase-catalyzed hydrolysis of rapeseed protein

序号	因素					粗多肽氮含量/%
	A酶解pH	B酶解温度/℃	C加酶量/(U/g)	D酶解时间/min	E空列	
1	1(7.5)	1(46)	1(600)	1(25)	1	74.23
2	1	2(48)	2(800)	2(30)	2	78.71
3	1	3(50)	3(1000)	3(35)	3	76.17
4	1	4(52)	4(1200)	4(40)	4	79.43
5	2(8.0)	1	2	3	4	87.34
6	2	2	1	4	3	85.56
7	2	3	4	1	2	89.62
8	2	4	3	2	1	78.89
9	3(8.5)	1	3	4	2	87.89
10	3	2	4	3	1	85.13
11	3	3	1	2	4	81.92
12	3	4	2	1	3	82.45
13	4(9.0)	1	4	2	3	79.61
14	4	2	3	1	4	76.73
15	4	3	2	4	1	82.63
16	4	4	1	3	2	70.78
K_1	77.135	82.2675	78.1225	80.7575	80.22	
K_2	85.3525	81.5325	82.7825	79.7825	81.75	
K_3	84.3475	82.585	79.92	79.855	80.9475	
K_4	77.4375	77.8875	83.4475	83.8775	81.355	
R	8.2175	4.6975	5.325	4.095	3.6855	
较优组合	A ₂ B ₃ C ₄ D ₄					
因素主次	A>C>B>D					

表3 碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白实验因素方差分析表

Table 3 Analysis of variance for the alkalase-catalyzed hydrolysis of rapeseed protein

因素	自由度	偏差平方和	F比	$F_{0.05(3,3)}$	显著性
酶解pH值	3	231.04432	45.08649	9.280	*
酶解温度	3	56.28572	10.98372	9.280	*
加酶量	3	74.38162	14.51499	9.280	*
酶解时间	3	44.45432	8.67491	9.280	
误差	3	5.1245			

注: *. 差异显著 ($P < 0.05$)。

由表2可知,影响油菜籽饼粕粗多肽的氮含量的4个因素的主次顺序依次为A>C>B>D,工艺组合为A₂、

B₃、C₄、D₄,即酶解pH值为8.0、酶解温度50℃、加酶量1200U/g、酶解时间40min。由表3可知,酶解pH值、酶解温度和加酶量对菜籽饼粕蛋白的酶解效果影响显著,与正交试验的直观分析结果一致。较优组合未出现在正交试验中,对较优组合A₂、B₃、C₄、D₄进行3次重复验证,得到油菜籽饼粕粗多肽的肽氮含量为90.05%,此时水解度为9.95%。酶解菜籽饼粕蛋白的水解度与由油菜籽饼粕粗多肽的肽氮含量计算出来的水解度有些误差,可能是由于在油菜籽饼粕粗多肽的肽氮含量的测定过程中,没有完全除去蛋白态氮的缘故。但是,油菜籽饼粕粗多肽的肽氮含量仍能够作为碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的实验指标,反映酶解效果。

2.4 油菜籽饼粕粗多肽制备工艺

透析时间不足48h时,所获得的油菜籽饼粕粗多肽色泽较差质量也小,所以选择透析时间为48h。按照优化后的工艺进行试验,得到油菜籽饼粕粗多肽的肽氮含量达96.78%,色泽较好,为淡乳白色,油菜籽饼粕粗多肽的肽氮占菜籽饼粕蛋白总氮含量5.89%,肽氮含量较高,油菜籽饼粕粗多肽获得量较低,虽然此种方法具有简单易行的特点,但是还需要进一步探究完善。易起达等^[20]也利用碱性蛋白酶制备油菜籽蛋白肽,水解度为14.71%,油菜籽肽得率为73.02%,但其没有测定油菜籽肽的纯度,与本研究有所不同。

3 结论

碱性蛋白酶酶解菜籽饼粕蛋白的最佳工艺条件为:酶解pH8.0、酶解温度50℃、加酶量1200U/g、酶解时间40min。在该酶解工艺条件下,得到油菜籽饼粕粗多肽肽氮含量为90.05%、水解度为9.95%的酶解液。

油菜籽饼粕粗多肽制备工艺为:将酶解液浓缩后,按体积比1:6与双蒸水混合摇匀后,用截留分子质量为3500D的透析袋在5℃环境中透析48h后,将透析液进行冷冻干燥。在该工艺下,获得油菜籽饼粕粗多肽,其多肽氮含量为96.78%,油菜籽饼粕粗多肽占油菜籽蛋白的5.89%。

制备的油菜籽饼粕粗多肽仍然含有其他的小分子物质,因而油菜籽饼粕粗多肽的肽氮含量为96.78%。油菜籽饼粕粗多肽的肽氮占菜籽饼粕蛋白总氮含量5.89%,可能有两个原因:1)碱性蛋白酶作用于油菜籽蛋白时,酶解片段过大,只有少量的油菜籽饼粕多肽进入到透析液中;2)透析袋及透析的条件对于透析过程有很大的影响。所获得的油菜籽饼粕粗多肽,分子质量都应小于3.5kD,与利用离子交换、凝胶过滤、吸附层析、高效液相色谱等方法分离纯化所得的油菜籽饼粕粗多肽略显不足。关于油菜籽饼粕粗多肽的制备研究,虽有较多的研

究报道,但是大多在于酶解菜籽饼粕蛋白的研究和酶解产物的功能特性及生物活性的研究。本实验提供了一种制备油菜籽饼粕粗多肽的可行方法,但油菜籽饼粕粗多肽组分的探究以及油菜籽饼粕粗多肽的功能特性及生物活性等问题,有待于进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 赵妍嫣,胡林林,赵宏伟,等. 酶解冷榨菜籽蛋白制备肉味香精的工艺研究[J]. 中国调味品, 2011, 36(1): 93-96.
- [2] 黄明亮,王雪莹,孙颖,等. 菜籽蛋白功能性质及抗氧化的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(12): 405-413.
- [3] PASTUSZEWSKA B, JABLECKI G, SWIECH E, et al. Nutritional value of rapeseed meal containing lecithin gums precipitated with citric acid[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2000, 86(1/2): 117-123.
- [4] 鞠兴荣,王丹丹,严梅荣. Na_2SO_3 对蛋白酶水解菜籽粕的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 45-49.
- [5] 朱国富,朱党花,陈剑兵,等. 菜籽生物活性肽的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(28): 13547-13549.
- [6] 黄亮,冯菲,郑菲. 油菜籽饼粕中蛋白和肽的制取[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(9): 119-122.
- [7] 李菊芳,魏芳,董绪燕,等. 微波辅助菜籽蛋白水解产物的高效制备及其部分功能特性研究[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(11): 83-88.
- [8] 鞠兴荣,何海艳,何荣,等. 固态发酵菜籽肽功能特性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 45-49.
- [9] MÄKINEN S, TESSA JOHANNSON, GERD E V, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory and antioxidant properties of rapeseed hydrolysates[J]. *Journal of Functional Foods*, 2012, 4(3): 575-583.
- [10] 章绍兵,石云,王璋,等. 离子交换色谱和凝胶过滤分离纯化菜籽抗氧化肽[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(5): 154-159.
- [11] SOMMERER N, SALLERS C, PROME D, et al. Isolation of oligopeptides from the water-soluble extract of goat cheese and their identification by mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49: 402-408.
- [12] 刘绚霞,杨莉. 分光光度法测定油菜籽中的硫代葡萄糖甙[J]. 陕西农林科学, 2002(6): 5-7.
- [13] ADLER NISEN J. *Enzymatic hydrolysis of food proteins*[M]. London and New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1986: 122-123.
- [14] 李理,张静. 蛋白水解产物中多肽得率的测定方法研究[J]. 现代食品科技, 2010, 26(8): 884-888.
- [15] WU J, MUIR A D. Comparative structural, emulsifying, and biological properties of 2 major canola proteins, ruciferin and napin[J]. *Food Chemistry*, 2008, 37(3): 210-216.
- [16] CHABANON G I, CHEVALOT X, FRAMBOISIER, et al. Hydrolysis of rapeseed protein isolates: kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates[J]. *Process Biochemistry*, 2007, 42: 1419-1428.
- [17] 于洋,王承明. 微波化学方法脱除油菜籽饼粕中硫苷的研究[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(3): 47-51.
- [18] 何国菊,李学刚. 菜籽饼粕淋洗脱毒工艺探讨[J]. 食品工业科技, 2008, 29(7): 165-167.
- [19] 李菊芳,魏芳,董绪燕,等. 微波辅助分步酶解菜籽粕制备菜籽多肽的研究[J]. 中国油脂, 2010, 35(3): 18-22.
- [20] 易起达,王茜茜,王立峰,等. 酶解制备菜籽蛋白肽条件的优化[J]. 食品科学, 2013, 34(1): 166-170.