

茶渣蛋白糖基化改性工艺优化及功能特性研究

Optimization on glucosylation modification process and functional properties of tea residue protein

杨 旭^{1,2} 任 珍¹

YANG Xu^{1,2} REN Zhen¹

(1. 安康学院现代农业与生物科技学院, 陕西 安康 725000;

2. 陕西省富硒食品工程实验室, 陕西 安康 725000)

(1. College of Modern Agriculture and Biotechnology, Ankang University, Ankang, Shaanxi 725000, China;

2. Shanxi Engineering Labs of Se-enriched Food, Ankang, Shaanxi 725000, China)

摘要:采用湿法糖基化对茶渣蛋白进行改性,以接枝度和褐变指数为指标,通过单因素和响应面法优化改性工艺,并分析改性对蛋白功能特性的影响。结果表明,以葡萄糖作为糖基供体,与茶渣蛋白按 1:1 的质量比,在 83.68 °C、pH 10.60 条件下进行糖基化反应,此时接枝度达到 (32.89±0.53)%。该工艺下得到的茶渣蛋白较改性前,溶解性、乳化性及乳化稳定性、起泡性及泡沫稳定性分别增加 35.78%, 0.415, 10.72%, 29.95%, 3.23%。

关键词:茶渣蛋白;糖基化;改性;功能特性

Abstract: Tea residue protein was modified by wet glucosylation. The optimum modification process of tea residue protein was determined by single factor and response surface design with indicators, including the degree of graft and browning index. Effects of modification on functional properties of protein were analyzed. The results indicated that glucose was the optimal glycosyl donor. When glucosylation reaction was carried out with the ratio of 1:1 (protein to glucose) at 83.68 °C and pH 10.60, the degree of graft was (32.89±0.53)%. By this processing, the increases in solubility, emulsifying capacity and stability, foaming capacity and stability of tea residue protein were 35.78%, 0.415, 10.72%, 29.95% and 3.23%, respectively.

Keywords: glucosylation; modification; tea residue protein; functional properties

茶渣是茶叶经冲泡饮用或活性成分提取加工后的副

产物^[1],含有丰富的纤维素、木质素、蛋白、多酚、多糖、皂素等功效成分^[2-3]。茶渣中蛋白约 15%~30%^[4],且以碱性蛋白为主,占蛋白总量的 55.06%^[5]。研究表明,茶渣蛋白具有高的疏水性,溶解度较差^[6]39[7]1-2,因此乳化性、乳化稳定性、表面张力和黏度等功能性质方面不利于在食品中的应用。

为了提升茶渣蛋白的功能特性,目前已报道的改性方法有限制性酶解法和挤压膨化法。王洪新等^[8]利用酶法水解改性后,茶渣蛋白的溶解性、起泡性、乳化性提高,但泡沫稳定性和乳化稳定性均有所降低。黄梦姣等^[9]通过挤压改性法,使绿茶渣的水溶性提高了 7.41%,但挤压膨化中高温高压对产品的色泽、营养价值等的不良影响,使其他改性方法的探究具有发展空间。

糖基化改性是利用蛋白质—糖的接枝反应形成共价复合物,实现对蛋白质的化学改性。此方法已应用于燕麦^[10]、米渣^[11]、玉米^[12]等蛋白的改性,但在茶渣蛋白中的应用还未见报道。本试验拟以湿法糖基化对茶渣蛋白进行改性,探究糖基供体种类、反应物比例、pH、温度和时间对糖基化效果的影响,并分析改性前后茶渣蛋白的溶解性、乳化性和乳化稳定性、起泡性和泡沫稳定性的变化情况。以期对糖基化改性法在茶渣蛋白中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

绿茶:安康市紫阳县向阳茶厂;

葡萄糖、葡聚糖、乳糖、麦芽糊精:分析纯,北京酷尔化学科技有限公司;

牛血清白蛋白标准品:纯度≥98%,上海江莱生物科

基金项目:安康市林业局横向项目(编号:2017AYHX020);安康学院培育项目(编号:2016AYPYZX10);大学生创新创业训练计划项目(编号:2016sxjy029)

作者简介:杨旭(1989—),女,安康学院讲师,硕士。

E-mail: yangxuq@hotmail.com

收稿日期:2019-02-06

技术有限公司;

其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

紫外可见分光光度计: TU-1901 型, 北京普析通用仪器有限公司;

低速离心机: LD4-2A 型, 北京医用离心机厂;

恒温振动水浴锅: SHA-C 型, 常州国华电器有限公司;

电热恒温鼓风干燥箱: GZX-GF101-2-BS 型, 上海跃进医疗器械有限公司;

真空冷冻干燥机: SCIENTZ-50N 型, 宁波新芝生物科技股份有限公司;

旋转蒸发仪: RE-52AA 型, 上海亚荣生化仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 原料预处理 绿茶原料以料液比 1:110(g/mL)加水于 85℃下冲泡 30 min, 重复 2 次^[13], 抽滤后剩余的茶渣在 50℃下干燥至恒重, 粉碎过 60 目筛, 备用。

1.2.2 茶渣蛋白的提取 根据预试验所得的优化提取工艺, 茶渣样品用 0.075 mol/L NaOH 溶液以 1:60(g/mL)的料液比在 54.2℃下水浴振荡提取 4 h, 浸提液经添加 4%双氧水在 50℃下脱色, 并于 pH 3.5 下等电点沉淀后, 冷冻干燥。

1.2.3 糖基供体的选择及评价指标测定

(1) 茶渣蛋白—糖的共价复合物制备: 参考王成波^[14]的方法略作修改。以 0.075 mol/L NaOH 溶液复溶茶渣蛋白, 使蛋白质量浓度为 1.2%, 取 20 mL 按 1:1 的质量比加入不同糖基供体, 磁力搅拌 20 min 使其混合均匀。用 0.1 mol/L HCl 溶液或 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 11.0, 磁力搅拌 5 min。将茶渣蛋白—糖混合液置于 90℃下水浴加热反应一定时间, 并在冰浴中冷却 5 min 以终止反应, 所得样品液于 4℃冷藏待用。

(2) 接枝度测定: 采用邻苯二甲醛法^[15]。

(3) 褐变指数测定: 参照 Sun 等^[16]的方法, 以反应体系在 420 nm 下的吸光度值为褐变指数。

(4) 溶解性测定: 根据张蓓等^[10]的方法修改如下, 将共价复合物样品液冷冻干燥后, 配制成 1 mg/mL 复合物溶液, 9 000 r/min 离心 15 min, 采用考马斯亮蓝 G-250 法测定上清液中的蛋白质含量, 并按式(1)计算溶解性。

$$SI = \frac{P_1}{P_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

SI——溶解性, %;

P_1 ——上清液中蛋白质含量, $\mu\text{g/mL}$;

P_0 ——样品中总蛋白质含量, $\mu\text{g/mL}$ 。

(5) 乳化性及乳化稳定性测定: 参照文献^[17], 配制 1 mg/mL 的共价复合物样品液进行测定。

(6) 起泡性及泡沫稳定性测定: 参照文献^[18], 配制 1 mg/mL 的共价复合物样品液进行测定。

1.2.4 茶渣蛋白—糖共价复合物的制备工艺优化

(1) 茶渣蛋白与糖的质量比对糖基化效果的影响: 将茶渣蛋白与选择的糖基供体分别按照 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 的质量比进行混合, 在 90℃、pH 11.0 条件下反应 2 h, 其他步骤按 1.2.3(1)所述制备共价复合物。

(2) 体系 pH 对糖基化效果的影响: 将茶渣蛋白与选择的糖基供体按照 1:1 的质量比进行混合, 分别调节 pH 至 8.0, 9.0, 10.0, 11.0, 12.0, 于 90℃下反应 2 h, 其他步骤按 1.2.3(1)所述制备共价复合物。

(3) 温度对糖基化效果的影响: 将茶渣蛋白与选择的糖基供体按照 1:1 的质量比进行混合, 调节 pH 至 11.0, 分别于 60, 70, 80, 90, 100℃下反应 2 h, 其他步骤按 1.2.3(1)所述制备共价复合物。

(4) 响应面试验设计: 根据单因素试验结果, 以质量比、pH 和反应温度为自变量, 接枝度为响应值, 进行三因素三水平的 Box-Behnken 响应面试验。

1.2.5 数据分析 所有数据以(均值±标准差)表示, 每次样品的测定均重复 3 次。采用 SPSS 19.0 进行方差分析和差异显著性分析($P < 0.05$ 即为差异显著)。其中, 响应面设计试验数据以均值表示, 采用 Design Expert 8 对数据进行二次多项式回归拟合分析。

2 结果与分析

2.1 糖基供体的确定

2.1.1 不同糖基供体的糖基化效果分析 图 1 为茶渣蛋白分别与葡萄糖、葡聚糖、乳糖、麦芽糊精在 0~4 h 反应过程中接枝度的变化曲线。随着反应时间的延长, 接枝度均呈先增加后降低的趋势。4 种糖基供体中, 乳糖的接枝度最高, 反应 1 h 即为(35.38±0.79)%, 其次为葡萄糖, 反应 2 h 后达到最高接枝度(31.58±0.83)%, 而葡聚糖和麦芽糊精在受试时间内的接枝度均未超过 15%。葡萄

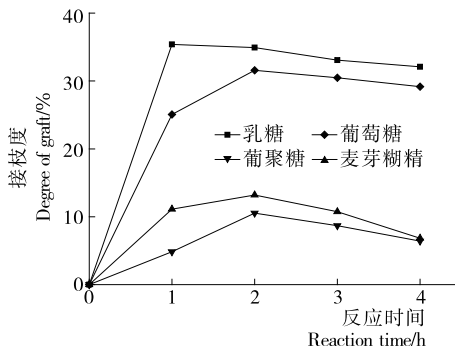


图 1 反应时间对不同茶渣蛋白—糖复合物接枝度的影响
Figure 1 Effect of reaction time on the graft degree of the different tea residue protein-saccharide complexes

糖、乳糖含有较多的还原性羰基,更容易与茶渣蛋白发生接枝反应,而葡聚糖、麦芽糊精的相对分子质量较大,支链的空间位阻效应则限制了反应的进行^[10]。

茶渣蛋白与葡萄糖、葡聚糖、乳糖、麦芽糊精进行糖基化反应的时间对产物褐变指数的影响如图 2 所示。4 种糖基供体产物褐变指数的变化趋势一致,在 0~4 h 反应时间内不断增大,且表现为:葡萄糖>乳糖>麦芽糊精>葡聚糖。结果表明,葡萄糖和乳糖与茶渣蛋白的反应更为剧烈,能够较快进入美拉德反应的高级阶段,从而形成褐变物质^[19]。

2.1.2 不同糖基供体的产物功能特性分析 表 1 为不同糖基供体与茶渣蛋白形成共价复合物的功能特性测定结果。从表 1 中数据可知,茶渣蛋白—葡萄糖复合物的溶解性、乳化性和起泡性明显高于其他 3 种糖基供体,而乳

化稳定性与泡沫稳定性则是葡聚糖最高,葡萄糖次之。

表 1 不同茶渣蛋白—糖复合物的功能特性[†]

Table 1 The functional properties of the different tea residue protein-saccharide complexes

糖基供体种类	溶解性/%	乳化性	乳化稳定性/%	起泡性/%	泡沫稳定性/%
葡萄糖	88.18±1.59 ^a	0.604±0.015 ^a	33.19±0.94 ^b	141.76±2.50 ^a	61.81±1.57 ^b
乳糖	76.84±1.19 ^c	0.327±0.009 ^d	31.05±0.78 ^c	133.89±1.97 ^b	58.17±2.06 ^c
葡聚糖	81.35±1.78 ^b	0.384±0.012 ^c	38.21±1.03 ^a	126.01±2.12 ^c	69.08±1.84 ^a
麦芽糊精	65.27±1.38 ^d	0.470±0.014 ^b	27.61±0.85 ^d	110.26±1.55 ^d	59.26±1.36 ^{bc}

[†] 同列字母不同表示差异显著(P<0.05)。

因此,综合接枝度、褐变指数、功能特性各项指标,最终选择葡萄糖作为茶渣蛋白糖基化改性的最适糖基供体。

2.2 茶渣蛋白—糖共价复合物制备的工艺优化

2.2.1 单因素试验

(1) 茶渣蛋白与糖的质量比对糖基化效果的影响:由图 3 可知,开始时,随着葡萄糖的添加比例增大,反应底物间的接触增多,加速了美拉德反应的进程,接枝度在茶渣蛋白与糖的质量比为 1:1 时达到最大值,为(31.15±0.51)%。而后此作用效果减弱,加之体系黏度随葡萄糖

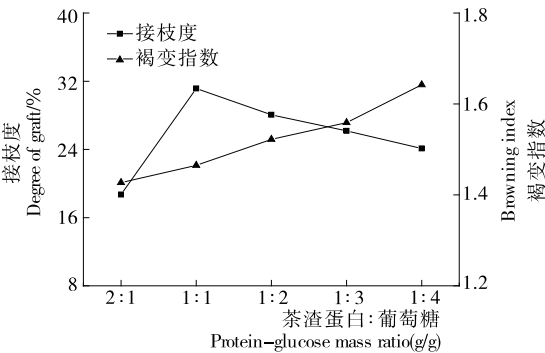


图 3 茶渣蛋白与葡萄糖的质量比对糖基化效果的影响
Figure 3 Effect of tea residue protein-glucose mass ratio on the reaction results

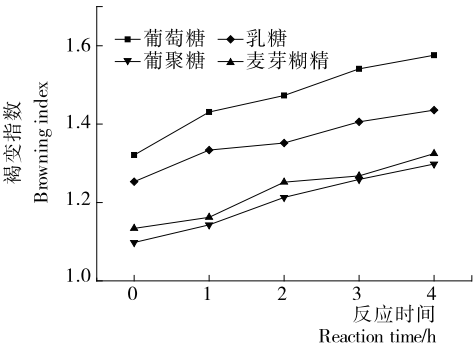


图 2 反应时间对不同茶渣蛋白—糖复合物褐变指数的影响
Figure 2 Effect of reaction time on the browning index of the different tea residue protein-saccharide complexes

的添加比例增大而提高,导致底物间的接触反而受到限制。褐变指数却随质量比的增大而呈现不断上升的趋势,且在质量比超过 1:3 时上升幅度增大,可能与副反应(如焦糖化)的发生有关^[11]。因此,确定茶渣蛋白与葡萄糖的适宜质量比为 1:1~1:3。

(2) 体系 pH 对糖基化效果的影响:由图 4 可知,随着体系 pH 的不断增大,接枝度呈先增加后降低的趋势,而褐变指数则持续上升。当 pH 为 11.0 时,接枝度达到最大值,为(31.86±0.81)%。由于提取得到的茶渣蛋白为碱性, pH 值的提升促使蛋白质的溶解性增加,有利于反应的进行。随后,极端 pH 值使氨基的反应性降低,

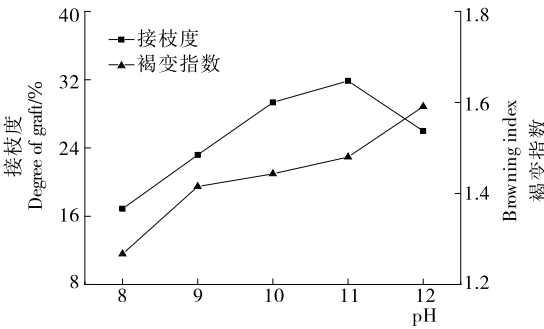


图 4 体系 pH 对糖基化效果的影响
Figure 4 Effect of pH on the reaction results

接枝度有所下降,但茶渣中的多酚与蛋白质等物质在碱性、湿热作用下的氧化反应会加剧褐变程度。因此,确定反应体系的适宜 pH 为 10~12。

(3) 温度对糖基化效果的影响:由图 5 可知,接枝度和褐变指数先随反应温度的升高而逐渐增加,当温度为 80 ℃时,两个指标分别达到 $(31.88 \pm 0.54)\%$ 和 (1.441 ± 0.017) 。此阶段反应温度的升高使蛋白质受热展开,与葡萄糖的反应位点增加,反应加快。当蛋白分子上共价结合的糖链增长,位阻效应的存在使反应受到限制,同时过高的温度也会使茶渣蛋白的营养价值降低,但高温却促使了焦糖聚合物的形成^[20],使褐变指数继续升高。因此,确定适宜的反应温度为 70~90 ℃。

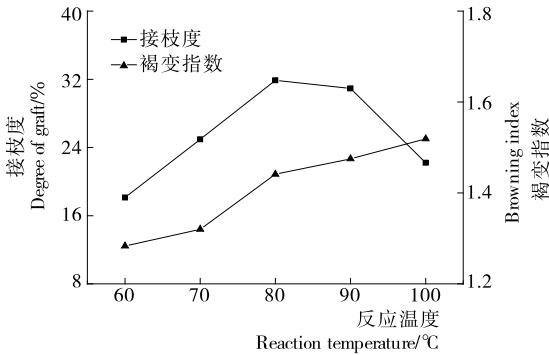


图 5 温度对糖基化效果的影响

Figure 5 Effect of temperature on the reaction results

2.2.2 响应面试验 根据单因素试验的结果,糖基化效果的两个衡量指标中,褐变指数是美拉德反应高级阶段的重要表征,但褐变程度过大对产品的色泽会造成不利影响;接枝度则反映了共价复合物主链上葡萄糖的接枝程度,其越大越有利于接枝反应^[21]。因此,以接枝度为响应值,进行三因素三水平的响应面试验设计(表 2),具体试验方案及结果见表 3。

采用 Design Expert 8 软件对试验数据进行二次多项式回归拟合,得到的回归方程如下:

$$Y = 31.42 - 1.12A - 1.49B + 1.82C + 0.11AB - 1.08AC - 0.30BC - 1.34A^2 - 2.06B^2 - 3.49C^2. \quad (2)$$

表 4 为回归模型的方差分析结果。从表中可知, F 值为 19.86, P 值 0.000 3,说明建立的回归模型极显著,加

表 2 Box-Behnken 试验设计因素水平表

Table 2 Factors and levels of Box-Behnken experiment design

水平	A 茶渣蛋白:葡萄糖(g/g)	B 反应 pH	C 反应温度/℃
-1	1:1	10.0	70
0	1:2	11.0	80
1	1:3	12.0	90

表 3 Box-Behnken 试验结果

Table 3 Results of Box-Behnken experiment design

试验号	A	B	C	接枝度 Y/%
1	0	0	0	32.19
2	0	0	0	30.86
3	-1	-1	0	30.21
4	0	1	1	25.91
5	-1	1	0	26.64
6	-1	0	-1	25.32
7	0	-1	1	29.11
8	1	0	1	25.68
9	1	1	0	26.04
10	1	0	-1	23.84
11	0	0	0	31.44
12	1	-1	0	29.17
13	0	0	0	31.03
14	0	0	0	31.58
15	0	1	-1	23.23
16	-1	0	1	31.49
17	0	-1	-1	25.22

之失拟项不显著, $R^2 = 0.962\ 3$, $R^2_{Adj} = 0.913\ 9$,表明模型与试验的拟合良好,具有统计学意义。各因素中,体系 pH、反应温度的二次项,茶渣蛋白与糖的质量比、体系 pH、反应温度的一次项对接枝度影响极显著,茶渣蛋白与糖质量比的二次项和茶渣蛋白与糖质量比、反应温度的交互项则对接枝度影响显著。

表 4 回归模型的方差分析结果[†]

Table 4 Results of variance analysis for regression model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	143.51	9	15.95	19.86	0.000 3	**
A	9.97	1	9.97	12.42	0.009 7	**
B	17.67	1	17.67	22.01	0.002 2	**
C	26.57	1	26.57	33.10	0.000 7	**
AB	0.05	1	0.05	0.06	0.813 1	
AC	4.69	1	4.69	5.84	0.046 3	*
BC	0.37	1	0.37	0.46	0.521 2	
A ²	7.62	1	7.62	9.49	0.017 8	*
B ²	17.87	1	17.87	22.26	0.002 2	**
C ²	51.36	1	51.36	63.98	<0.000 1	**
残差	5.62	7	0.80			
失拟项	4.53	3	1.51	5.57	0.065 2	
纯误差	1.08	4	0.27			
总离差	149.13	16				

[†] * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$ 。

图 6 为各因素交互作用对接枝度影响的响应面图。通过该组图的曲线走势和等高线形状,可反映出 3 个考察因素中任意两个因素交互作用的强弱,其中茶渣蛋白与糖的质量比、反应温度的交互作用对接枝度影响显著,与方差分析结果一致。根据拟合的多元回归方程,最终计算得到的最优组合为茶渣蛋白与糖的质量比 1:1.42、体系 pH 10.60、反应温度 83.68 ℃,此时接枝度的理论值达到 32.38%。为确定所得到的优化工艺对茶渣蛋白的改性效果,进行验证实验。此反应条件下,测得产物的接枝度为 $(32.89 \pm 0.53)\%$,与理论最佳值基本一致,说明此改性方案合理可行。

2.2.3 改性前后茶渣蛋白的功能特性测定 在优化的改性工艺基础上,制备得到茶渣蛋白—葡萄糖共价复合物,分别测定改性前后蛋白质的功能特性,结果见表 5。改性前,茶渣蛋白的溶解性仅为 $(55.31 \pm 1.41)\%$,与其较高的疏水性氨基酸含量有关;乳化性和对乳状液的稳定能力分别为 $(0.205 \pm 0.007)\%$ 和 $(25.16 \pm 0.69)\%$,与夏秀芳等^[17]报道的大豆分离蛋白的乳化性 (0.160%) 和乳化稳定性 (25.75%) 相当;起泡性较差,与其溶解性较差有关,而维持泡沫的稳定能力为 $(57.45 \pm 2.57)\%$ 。

经过糖基化改性后,测定的功能特性均有不同程度的提高。溶解性增加了 35.78%,较溶解性增加 24%的限

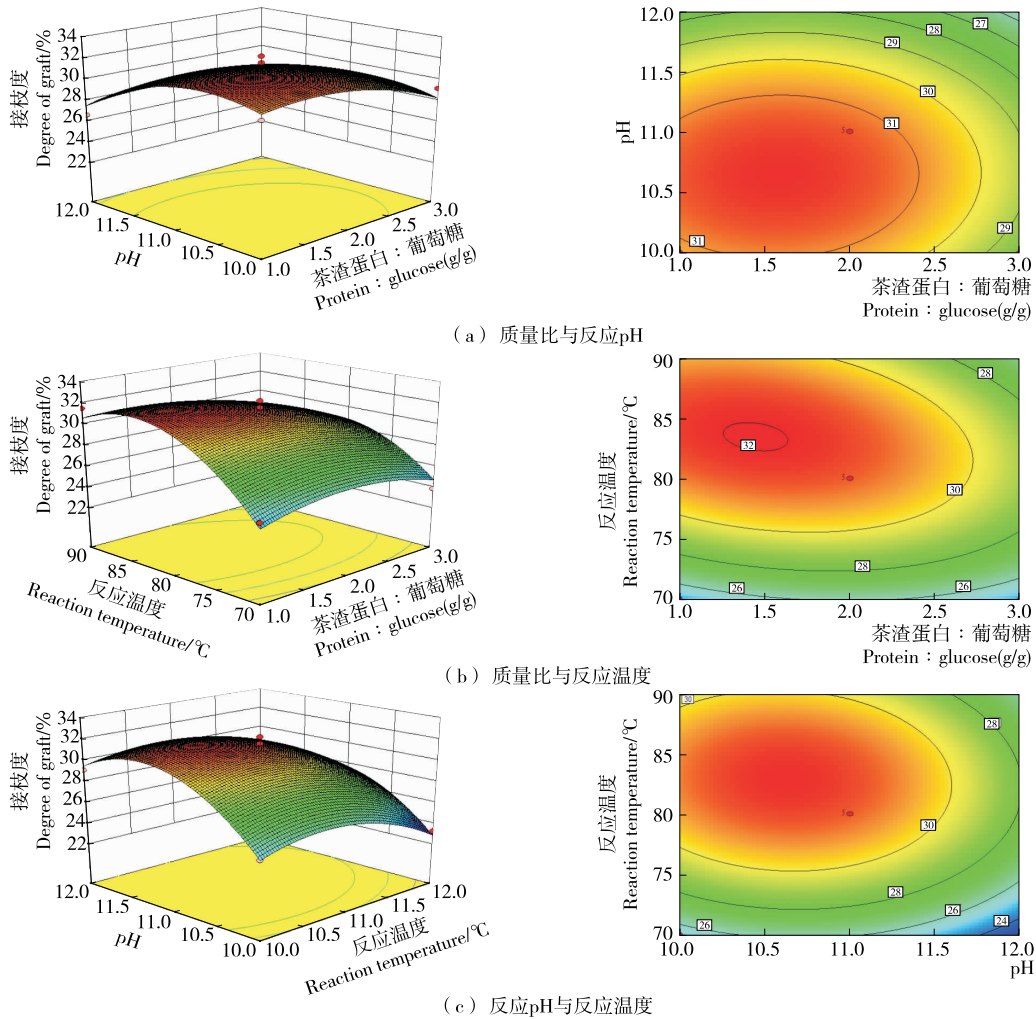


图 6 因素交互作用对接枝度的影响

Figure 6 Effect of factor interaction on the graft degree

表 5 改性前后茶渣蛋白的功能特性

Table 5 Functional properties of tea residue protein before and after modification

茶渣蛋白	溶解性/%	乳化性	乳化稳定性/%	起泡性/%	泡沫稳定性/%
改性前	55.31 ± 1.41	0.205 ± 0.007	25.16 ± 0.69	117.56 ± 1.90	57.45 ± 2.57
改性后	91.09 ± 1.85	0.620 ± 0.011	35.88 ± 1.14	147.51 ± 2.55	60.68 ± 1.84

制性水解法^{[7]40-41}和7.41%的挤压改性法^[9],效果更为理想。改性后茶渣蛋白的乳化性是改性前的3.02倍,乳化稳定性增加了10.72%,优于限制性水解改性后茶渣蛋白乳化性7%的提高和乳化稳定性的降低^{[6]34-35}。起泡性增加了29.95%,不及酶法水解改性后起泡性的改善效果(增加79%),泡沫稳定性虽较其他功能特性的提升不明显,但优于酶法水解改性^[8]。

3 结论

本研究从糖基化反应的接枝度、褐变指数和蛋白功能特性3方面考察,选定葡萄糖为最适的糖基供体。以接枝度为响应值,茶渣蛋白与葡萄糖的质量比、体系pH和反应温度为因子,通过响应面设计建立二次多项回归模型,确定茶渣蛋白的优化改性工艺为茶渣蛋白与葡萄糖的质量比1:1、体系pH 10.60、反应温度83.68℃。此改性条件下,茶渣蛋白的溶解性、乳化性及乳化稳定性、起泡性及泡沫稳定性较改性前均有提升,说明糖基化改性法可用于茶渣蛋白的功能特性改善。后续可对改性茶渣蛋白在具体食品模型中的应用进行研究,以利于茶渣资源的合理开发。

参考文献

- [1] LIU Zhi-jun, LI Dan-xin, DAI Hong-jie, et al. Preparation and characterization of papain embedded in magnetic cellulose hydrogels prepared from tea residue[J]. Journal of Molecular Liquids, 2017, 232: 449-456.
- [2] 谢枫, 金莉莉, 涂娟, 等. 茶废弃物综合利用研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 31(1): 140-145.
- [3] TSUBAKI S, AZUMA J. Total fractionation of green tea residue by microwave-assisted alkaline pretreatment and enzymatic hydrolysis[J]. Bioresource technology, 2013, 131: 485-491.
- [4] 王琨, 董文宾, 杨芙莲, 等. 富硒茶中硒蛋白冻融法辅助提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 211-215.
- [5] 焦自明, 杨建雄, 张小飞, 等. 紫阳富硒茶中茶多糖、碱溶性茶蛋白结构形貌及硒赋存形态[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2012, 40(1): 72-76.
- [6] 李圆圆. 茶渣蛋白的酶法提取及功能性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
- [7] 陆晨. 茶渣中蛋白质的提取、脱色及改性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
- [8] 王洪新, 胡昌云. 茶叶蛋白质的改性及其功能性质研究[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 135-140.
- [9] 黄梦姣, 刘宁, 孙玉姣, 等. 三种茶渣挤压改性及水合特性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(8): 24-33.
- [10] 张蓓, 郭晓娜, 朱科学, 等. 燕麦蛋白糖基化改性研究[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(6): 41-46.
- [11] 孟祥勇, 张慧恩, 宋腾, 等. 响应面法优化微波辅助米渣蛋白糖基化改性工艺[J]. 食品工业科技, 2018, 39(1): 156-161, 166.
- [12] 刘祥, 郑喜群, 刘晓兰. 美拉德糖基化对玉米蛋白粉双酶水解产物抗氧化活性的影响[J]. 食品与机械, 2018, 34(9): 147-151.
- [13] 赵宁, 何梦飞, 张清安. 紫阳富硒茶冲泡过程中部分成分的溶出研究[J]. 农产品加工: 学刊, 2014(10): 45-51.
- [14] 王成波. 玉米谷蛋白的糖基化改性研究[J]. 黑龙江农业科学, 2012(7): 110-115.
- [15] SORAGENTINI D A, WAGNER J R. Comparative study of structural characteristics and thermal behavior of whey and isolate soybean proteins[J]. Journal of Food Biochemistry, 1999, 23(5): 489-507.
- [16] SUN Wei-wei, YU Shu-juan, ZENG Xin-an, et al. Properties of whey protein isolate-dextran conjugate prepared using pulsed electric field[J]. Food Research International, 2011, 44(4): 1 052-1 058.
- [17] 夏秀芳, 洪岩, 郑环宇, 等. 湿法糖基化改性对大豆分离蛋白溶解性和乳化能力的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(1): 167-172.
- [18] 王希希, 许美玉, 林超, 等. 湿法糖基化改善卵白蛋白的起泡性[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2017, 46(5): 595-600.
- [19] 何晓叶, 郇克东, 高彦祥, 等. 美拉德反应制备蛋白质-多糖共价复合物的研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(6): 377-382.
- [20] 刘振春, 牛秋云, 苏彤. 响应面法优化超声波辅助绿豆蛋白-葡萄糖接枝条件[J]. 食品科学, 2013, 34(16): 82-88.
- [21] 刘娟, 卢蓉蓉. 酪蛋白湿法糖基化改性研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(10): 49-52.