

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.02.026

# 米渣蛋白质酶解条件优化及对镉含量的影响

## Optimization on enzymatic hydrolysis conditions of rice dreg and effect on cadmium content

祁文磊 冯燕英 许宙 陈茂龙 程云辉

QI Wen-lei FENG Yan-ying XU Zhou CHEN Mao-long CHENG Yun-hui

(长沙理工大学化学与食品工程学院, 湖南 长沙 410114)

(School of Chemistry and Food Engineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha, Hunan 410114, China)

**摘要:**溶解度低和镉含量高是米渣副产物中蛋白质资源利用的技术瓶颈。本试验以高镉含量米渣为原料,选用 Alcalase 2.4 L 碱性蛋白酶,利用响应面中心组合试验设计对米渣蛋白质酶解条件进行优化。根据单因素试验结果,以酶解时间、pH、加酶量和底物浓度为因素,米渣蛋白质可溶性氮回收率为响应值,使用 Design Expert 8.0 对试验结果分析得到最佳酶解工艺参数为:温度 60 ℃、加酶量 1.25%、pH 8.0、底物浓度 7.5%。此时,米渣蛋白质可溶性氮回收率为 49.68%。不溶性酶解沉淀中镉含量为 7.71 mg/kg,相比米渣蛋白质增加了 54.5%;酶解上清液冻干粉镉含量降低至 1.43 mg/kg,相比米渣蛋白质降低 71.3%,验证了蛋白酶不仅可将大分子米渣蛋白质降解成小分子肽,同时也能将镉从米渣蛋白质大分子中解离出来。

**关键词:**米渣;酶解;碱性蛋白酶;脱镉

**Abstract:** Low solubility and high cadmium content are the technical bottlenecks of protein resource utilization in rice dregs by-products. Rice dregs with high cadmium content were used as raw materials, Alcalase 2.4 L alkaline protease was selected, The factors of enzymatic hydrolysis of rice dregs were studied by response surface center combinational design. According to the results of single-factor experiment, the time of enzymatic hydrolysis, pH, the amount of enzyme added and the concentration of substrate were taken as the influencing factors, and the soluble nitrogen recovery rate of rice dregs protein was taken as the response value. The optimal conditions for enzymatic hydrolysis were obtained by analyzing the experimental results with the as-

sistance software Design Expert 8.0 and were as followed temperature 60 ℃, enzyme content 1.25%, pH 8.0, substrate concentration 7.5%. Under the condition the rice dregs protein soluble nitrogen recovery rate reached 49.68%. Under the condition the cadmium content in insoluble enzymatic precipitation was 7.71 mg/kg, which increased by 54.5% by comparing with rice dregs protein. The cadmium content of soluble enzymatic hydrolysis supernatant was 1.43 mg/kg, 71.3% lower than that of rice dregs protein. It was proved that the protease could not only degrade the rice dregs protein into small peptides but also dissociate cadmium from the rice dregs protein.

**Keywords:** rice dreg; enzymatic hydrolysis; protease; cadmium removal

米渣是以早籼稻或碎米为原料发酵生产味精、淀粉糖、饴糖、麦芽糊精等工业生产过程中的副产物,其中蛋白质质量分数高达 50%~70%<sup>[1]</sup>。近年来,中国南方部分地区如湖南、广西、江西等地的大米镉超标现象较为严重,这是因水稻植株根部吸收镉离子后再经镉结合转运蛋白质运输至籽粒并被蛋白质结合所致。杨居荣等<sup>[2]</sup>研究了水稻籽粒中镉的结合形态,发现大米中 8% 的蛋白质富集了 60% 以上的镉,因米渣中蛋白质含量高达 50%~70%,进而造成镉含量严重超标的现象;同时,因米渣蛋白质是热变性蛋白质,溶解度也较低<sup>[3]</sup>。

目前常用的蛋白质改性方法主要包括物理法、化学法和酶法<sup>[4]</sup>,其中酶法改性因反应条件温和、功能性质改善效果好、对环境污染小而普遍应用于食品行业。Zhao 等<sup>[5]</sup>采用碱性蛋白酶、胰蛋白酶、中性蛋白酶、风味蛋白酶和复合蛋白酶处理米渣蛋白质,研究了酶种类对米渣蛋白质功能性质的影响,结果表明酶解可使米渣蛋白质溶解度达到 80% 以上;崔沙沙等<sup>[6]</sup>采用碱性蛋白酶处理大米蛋白质,促使大米蛋白质内部亲水基团暴露,大米蛋

**基金项目:**国家自然科学基金(编号:31771901)

**作者简介:**祁文磊,男,长沙理工大学在读硕士研究生。

**通信作者:**程云辉(1964—),女,长沙理工大学教授,博士。

E-mail: Chengyh6488@sina.com

**收稿日期:**2018-12-14

白质的溶解度从 1.28% 提高至 94.65%。蒲利民等<sup>[7]</sup>采用枯草杆菌蛋白酶和胰蛋白酶混合水解马氏珠母贝肉中的含镉蛋白质,可使镉从蛋白质等大分子中解离出来,解离度达到 85.52%。

本试验拟以高镉含量米渣为原料,通过单因素试验确定酶解时间、酶解温度、底物浓度、pH、加酶量等因素的最佳水平值范围,采用响应面中心组合试验设计对相关因素进行综合考察,优化米渣蛋白质酶解的最佳工艺参数;同时研究酶解反应过程对米渣蛋白质中镉含量的影响,以期为后续米渣蛋白质中镉的脱除提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

米渣:湖南汇升生物科技有限公司;

碱性蛋白酶:Alcalase 2.4 L,酶活 2.4 AU/mL,丹麦诺维信;

Folin-酚试剂:合肥博美生物有限公司;

牛血清白蛋白:美国 Sigma 公司;

氢氧化钠、浓盐酸、石油醚(60~90 °C):分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

浓硝酸:优级纯,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

等离子发射光谱仪:5100VDV ICP-OES 型,美国 Agilent Technologies 公司;

数显恒温水浴锅:HH-551S 型,金城实验仪器厂;

数显电动搅拌器:JJ-1 型,常州国宇仪器制造有限公司;

离心机:TDL-36C 型,上海安亭科学仪器厂;

紫外可见分光光度计:UV1800 型,日本岛津公司;

pH 计:FiveEasyPlusTM 型,美国 Mettler Toledo 公司;

冷冻干燥机:LGJ-18C 型,北京四环科学仪器厂。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 米渣预处理及酶解工艺

(1) 米渣预处理工艺流程:米渣,粉碎,过筛(100 目),石油醚浸提,抽滤,浸提循环 3 次,脱脂米渣

(2) 酶解工艺流程:脱脂米渣,加水配制成不同底物浓度,室温水化溶解 0.5 h,水浴加热至不同反应温度,调节 pH,加入不同酶量,酶解(pH-Stat 法保持体系 pH 稳定),灭酶(15 min/90 °C),离心(15 min/3 500 r/min),上清液,测定米渣蛋白质可溶性氮回收率

1.2.2 米渣酶解单因素试验 以水解度和可溶性氮回收率为评价指标,以酶解温度、pH、酶解时间、加酶量、底物浓度为影响因素,确定米渣酶解最佳条件。单因素试验设计方案如下:

(1) 时间对米渣酶解反应的影响:配制底物浓度 5%

米渣酶解液,加热溶液温度 60 °C,1 mol/L NaOH 调节 pH 至 8.0,添加 1% 的 Alcalase 2.4 L 蛋白酶,pH-Stat 法搅拌酶解 1,2,3,4,5,6 h,90 °C 灭酶 15 min,3 500 r/min 离心 15 min,记录消耗 NaOH 体积并测定上清液蛋白含量。

(2) 加酶量对米渣酶解反应的影响:除分别添加 0.5%,0.75%,1%,1.25%,1.5% 的 Alcalase 2.4 L 蛋白酶外,其他条件与(1)相同。

(3) pH 对米渣酶解反应的影响:除调节 pH 分别至 6.5,7.0,7.5,8.0,8.5,9.0 外,其他条件与(1)相同。

(4) 温度对米渣酶解反应的影响:除加热温度分别为 45,50,55,60,65 °C 外,其他条件与(1)相同。

(5) 底物浓度对米渣酶解反应的影响:因底物浓度 > 15% 时,物料黏度的增大可能导致反应流动性、均匀性下降,本试验选取米渣蛋白质浓度变化范围为 5%~15%。分别配制底物浓度 5.0%,7.5%,10.0%,12.5%,15.0% 米渣酶解液,其他条件与(1)相同。

1.2.3 响应面法优化酶解工艺 在单因素研究基础上,确定各因素的水平范围,根据酶解的最佳条件,使用软件 Design Expert 8.0 中 Box Behnken 模型进行优化工艺设计。

1.2.4 水解度的测定 采用 pH-Stat 法,水解度按式(1)计算:

$$DH = B \times Mb \times 1/\alpha \times 1/Mp \times 1/htot, \quad (1)$$

式中:

$B$ ——NaOH 的体积,mL;

$Mb$ ——NaOH 的浓度,mol/L;

$\alpha$ ——氨基酸的平均解离度,对于米渣蛋白质,1/ $\alpha$  取 1.01;

$Mp$ ——蛋白质的质量,g;

$htot$ ——每克原料蛋白质中肽键的毫摩尔数,米渣蛋白质取 7.40 mmol/g。

#### 1.2.5 可溶性氮回收率测定

(1) 上清液蛋白质含量测定:Folin-酚法<sup>[8]</sup>。

(2) 米渣中蛋白质含量测定:参照 GB 5009.5—2016 凯氏定氮法执行。

(3) 可溶性氮回收率按式(2)计算:

$$\text{米渣蛋白质可溶性氮回收率} = \frac{\text{酶解上清液中蛋白质质量}}{\text{米渣蛋白总质量}} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.6 镉含量测定 采用等离子体发射光谱(ICP-OES)法<sup>[9]</sup>测定米渣、最佳酶解工艺条件下酶解上清液与沉淀中的镉含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 米渣蛋白质酶解工艺条件的研究

2.1.1 时间对米渣酶解反应的影响 由图 1 可知,随着

酶解反应时间的延长,碱性蛋白酶与米渣充分接触,米渣蛋白质可溶性氮回收率逐渐提高,4 h 后米渣蛋白质可溶性氮回收率变化趋于平缓;在酶解反应的前 3 h,随着反应时间的延长水解度变化趋势明显,3 h 后水解度增大趋势变缓。说明随着酶解时间的延长,酶解反应速率逐渐下降,为了保证酶解充分,确定酶解时间为 4 h。

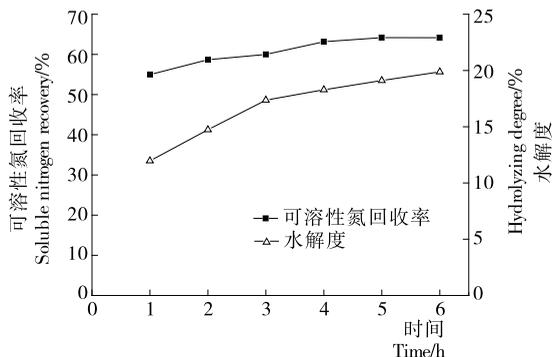


图 1 时间对米渣酶解反应的影响

Figure 1 Effect of time on enzymatic hydrolysis of rice dregs

2.1.2 加酶量对米渣酶解反应的影响 如图 2 所示,随着加酶量的增加,米渣蛋白质可溶性氮回收率逐渐提高,但是提高幅度不大,当加酶量达到 1% 时,米渣蛋白质可溶性氮回收率趋于平缓;由于加酶量增加,酶与米渣蛋白质结合位点增多<sup>[10]</sup>,水解度逐渐增大。当酶与底物作用达到饱和,米渣蛋白质可溶性氮回收率趋于稳定。综合考虑生产成本,初步确定加酶量为 1%。

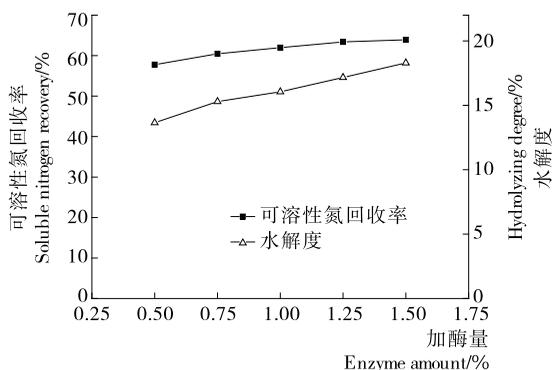


图 2 加酶量对米渣酶解反应的影响

Figure 2 Effect of enzyme amount on enzymatic hydrolysis of rice dregs

2.1.3 pH 对米渣酶解反应的影响 由图 3 可知,随着 pH 由 6.5 增至 8.0,米渣蛋白质可溶性氮回收率逐渐提高,当 pH 由 8.0 增大至 9.0 时,米渣蛋白质可溶性氮回收率变化趋于稳定;当 pH 为 6.5~9.0,随着 pH 增大,水解度增大趋势一直较显著。由于酶解过程采用 pH-Stat 法控制水解度,酶解过程引入的盐分不仅影响最终产品

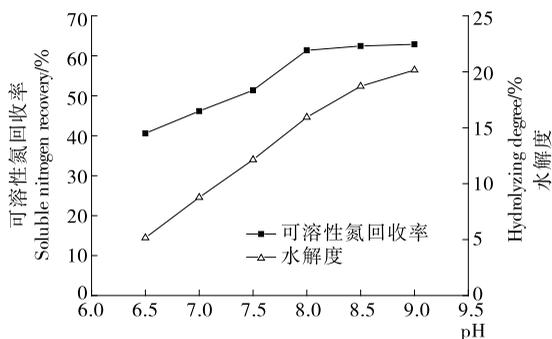


图 3 pH 对米渣酶解反应的影响

Figure 3 Effect of pH on enzymatic hydrolysis of rice dregs

的口味<sup>[11]</sup>,还可能会对米渣蛋白肽功能活性产生影响,综合考虑经济成本确定酶解 pH 为 8.0。

2.1.4 温度对米渣酶解反应的影响 由图 4 可知,温度为 60 °C 时,米渣蛋白质可溶性氮回收率达到最大值;低于 60 °C 时,随着温度的提高,碱性蛋白酶的酶活性提高,酶与底物作用效果增强,米渣蛋白质可溶性氮回收率随之提高;高于 60 °C 时,碱性蛋白酶酶活性下降,米渣蛋白质可溶性氮回收率随之降低,同时过高的温度也使酶活性核心结构被破坏而变性<sup>[12]</sup>,部分或全部失去催化活性,因此确定酶解温度为 60 °C。

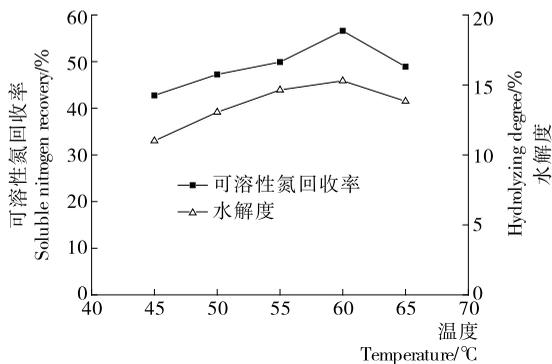


图 4 温度对米渣酶解反应的影响

Figure 4 Effect of temperature on enzymatic hydrolysis of rice dregs

2.1.5 底物浓度对米渣酶解反应的影响 由图 5 可知,随着米渣蛋白质浓度的增大,料液黏度的增大显著影响了酶和底物的流动性,进而降低了酶与蛋白质的相互作用,米渣蛋白质可溶性氮回收率和水解度皆逐渐降低。综合考虑工业化大规模生产的需求,确定底物浓度为 10%。

## 2.2 米渣蛋白质酶解工艺响应面优化

根据单因素试验结果确定酶解时间 4 h,以酶解 pH、底物浓度、加酶量、酶解温度为响应因素,可溶性氮回收

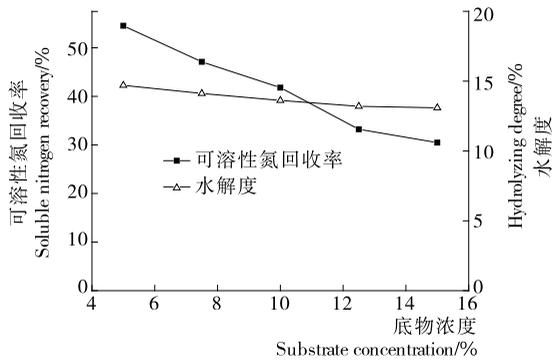


图5 底物浓度对米渣酶解反应的影响

Figure 5 Effect of substrate concentration on enzymatic hydrolysis of rice dregs

率为响应值,设计四因素三水平响应面试验,其因素水平编码如表1所示。

表1 因素水平编码表

Table 1 Table of factors and levels

水平	A 温度/℃	B pH	C 加酶量/%	D 底物浓度/%
-1	55	7.5	0.75	7.5
0	60	8.0	1.00	10.0
1	65	8.5	1.25	12.5

米渣蛋白质酶解的响应面试验设计及结果如表2所示。对表2的试验结果,运用软件 Design-Expert 8.0 进行变异分析,得到可溶性氮回收率(X)与反应温度(A)、pH(B)、加酶量(C)和底物浓度(D)之间的二次多元回归模型为:

$$X = -114.21 + 6.24A - 2.17B - 26.07C - 4.22D + 0.37AB + 0.09AC - 0.11AD + 1.30BC + 0.72BD + 1.37CD - 0.07A^2 - 1.53B^2 + 1.32C^2 + 0.07D^2. \quad (3)$$

试验结果的方差分析如表3所示。由表3可知,失拟项P值为0.0761 > 0.05不显著,响应面模型的P < 0.0001极显著,并且响应面模型的R<sup>2</sup> = 0.9845,表明模型具有较高的拟合度,试验误差较小。F值可以反映出各因素对试验指标的影响程度<sup>[13]</sup>,据表3中各因素F值大小可知,酶解条件对可溶性氮回收率的影响顺序为:D > B > C > A。一次项因素(B、C、D)对可溶性氮回收率影响极显著,二次项(A<sup>2</sup>)和交互项(AB、AD、BD、CD)对可溶性氮回收率影响显著。

响应面分析不仅可预测变量响应值,也可确定变量相互作用的关系,其响应曲面形状可反映变量相互作用关系,等高线形状可反映交互作用的强弱<sup>[14]</sup>。图6是各因素影响酶解米渣蛋白质可溶性氮回收率的3D响应面图和等高线图,从图6可知,底物浓度对可溶性氮回收率

表2 响应面设计方案及结果

Table 2 Box-Behnken design with independent variables and response values

试验号	A	B	C	D	X 可溶性氮回收率/%
1	0	0	0	0	41.22
2	1	0	1	0	41.71
3	1	0	0	-1	48.02
4	0	0	0	0	41.85
5	0	0	1	1	39.38
6	0	1	0	-1	48.86
7	0	1	-1	0	42.17
8	0	0	-1	1	33.01
9	1	0	-1	0	39.58
10	-1	0	0	1	36.10
11	0	0	0	0	42.15
12	-1	0	1	0	40.58
13	-1	-1	0	0	37.92
14	0	0	0	0	42.01
15	0	-1	0	1	33.07
16	1	0	0	1	33.88
17	-1	1	0	0	39.29
18	0	-1	-1	0	38.17
19	0	0	1	-1	49.21
20	-1	0	0	-1	44.76
21	0	0	0	0	41.41
22	0	0	-1	-1	46.27
23	0	-1	0	-1	45.68
24	1	1	0	0	42.68
25	-1	0	-1	0	38.92
26	0	1	1	0	45.43
27	1	-1	0	0	37.60
28	0	-1	1	0	40.78
29	0	1	0	1	39.85

影响较大,随着底物浓度的增大,可溶性氮回收率降低显著;随着pH的增大,可溶性氮的回收率逐渐提高,当pH由8.0增大至9.0时,米渣蛋白质可溶性氮回收率变化趋于稳定;底物浓度、pH和加酶量都对米渣蛋白酶解可溶性氮回收率的影响显著。这也与表3的方差分析结果相符,底物浓度、pH、加酶量和温度的F值分别为667.54, 91.98, 52.71, 5.10,底物浓度对可溶性氮回收率的影响最大,温度对可溶性氮回收率的影响相对最小。

综上所述,通过辅助软件 Design-Expert 8.0 对回归方程拟合得到的最优工艺条件为:温度 60 ℃、加酶量 1.25%、pH 8.0、底物浓度 7.5%,此时响应面预测最优值

表 3 回归模型方差分析及显著性检验<sup>†</sup>

Table 3 Analysis of variance for the regression model

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	505.61	14	36.12	63.48	<0.000 1	* *
A	2.90	1	2.90	5.10	0.040 4	*
B	52.33	1	52.33	91.98	<0.000 1	* *
C	29.99	1	29.99	52.71	<0.000 1	* *
D	379.80	1	379.80	667.54	<0.000 1	* *
AB	3.44	1	3.44	6.05	0.027 5	*
AC	0.06	1	0.06	0.10	0.760 0	—
AD	7.51	1	7.51	13.20	0.002 7	* *
BC	0.11	1	0.11	0.19	0.673 1	—
BD	3.24	1	3.24	5.69	0.031 7	*
CD	2.94	1	2.94	5.17	0.039 3	*
A <sup>2</sup>	18.50	1	18.50	32.52	<0.000 1	* *
B <sup>2</sup>	0.94	1	0.94	1.66	0.218 6	—
C <sup>2</sup>	0.04	1	0.04	0.08	0.785 3	—
D <sup>2</sup>	1.27	1	1.27	2.23	0.157 6	—
残差	7.97	14	0.57			
失拟项	7.33	10	0.73	4.64	0.076 1	—
纯误差	0.63	4	0.16			
总离差	513.58	28				

<sup>†</sup> \* 表示显著(P<0.05); \*\* 表示极显著(P<0.01); — 表示不显著(P>0.05)。

为 49.68%。根据最优酶解工艺进行验证实验,3 次平行试验得到回收率为(49.21±0.12)%,在回归模型推算的极值允许范围内,说明该数学模型与实际相符,具有实际指导意义。

### 2.3 米渣蛋白质酶解对镉含量的影响

酶解前脱脂米渣中镉含量高达 4.99 mg/kg,是 GB 2762—2017《食品中污染物限量》规定稻谷类产品中镉限量标准(0.2 mg/kg)的 24 倍以上。镉是一种环境重金属污染物,可通过农作物进入食物链,危害人体健康。水稻是一种易于富集镉的粮食作物,研究<sup>[15]</sup>表明镉在稻米中主要以配合物的形式存在,并与蛋白质呈配合物结构,而稻谷加工的副产物米渣中因蛋白质得到进一步富集而使得米渣中镉含量严重超标。

为了解米渣蛋白质酶解对其镉含量的影响,本试验测定了最佳酶解工艺条件下酶解上清液与沉淀中的镉含量,结果如图 7 所示。从图 7 可知,米渣蛋白质经碱性蛋白酶酶解后,不溶性的酶解沉淀(Enzymatic hydrolysis precipitation,EHP)中镉含量达到 7.71 mg/kg,相比米渣蛋白质增加了 54.5%;酶解上清液(Enzymatic hydrolysis supernatant,EHS)冻干粉中镉含量降低至 1.43 mg/kg,相比米渣蛋白质降低了 71.3%。米渣蛋白质酶解后,EHP、EHS 中镉含量的测定结果可为后续研究降镉技术

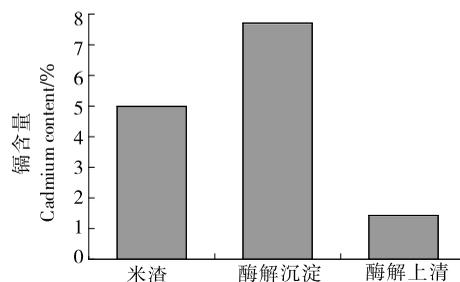


图 7 米渣蛋白质酶解各组分镉含量

Figure 7 Cadmium content of each component in enzymatic hydrolysis of rice dregs

的选用提供依据。

酶解上清液 EHS 中镉含量的降低,不仅是因为碱性蛋白酶将大分子米渣蛋白质降解成小分子肽而使部分结合态镉游离出来;同时,在米渣蛋白质中含量较高的巯基也被破坏,而巯基通常易与金属离子发生配位反应<sup>[16]</sup>,巯基的破坏也使镉从米渣蛋白质中解离出来,进入溶液中而成为游离态。此时,悬浮在溶液中的未被酶解的不溶性米渣蛋白质反而富集了更多的镉,FENG 等<sup>[17]</sup>发现在水溶液中米渣蛋白质对镉的最大结合量可达 12.08 mg/g,其研究结果还表明米渣蛋白质对镉不仅是简单的物理吸附,米渣蛋白质中巯基和羧基对镉的结合具有重要作用<sup>[18]</sup>,因此,酶解过程中解离出的游离态镉可能又再次与

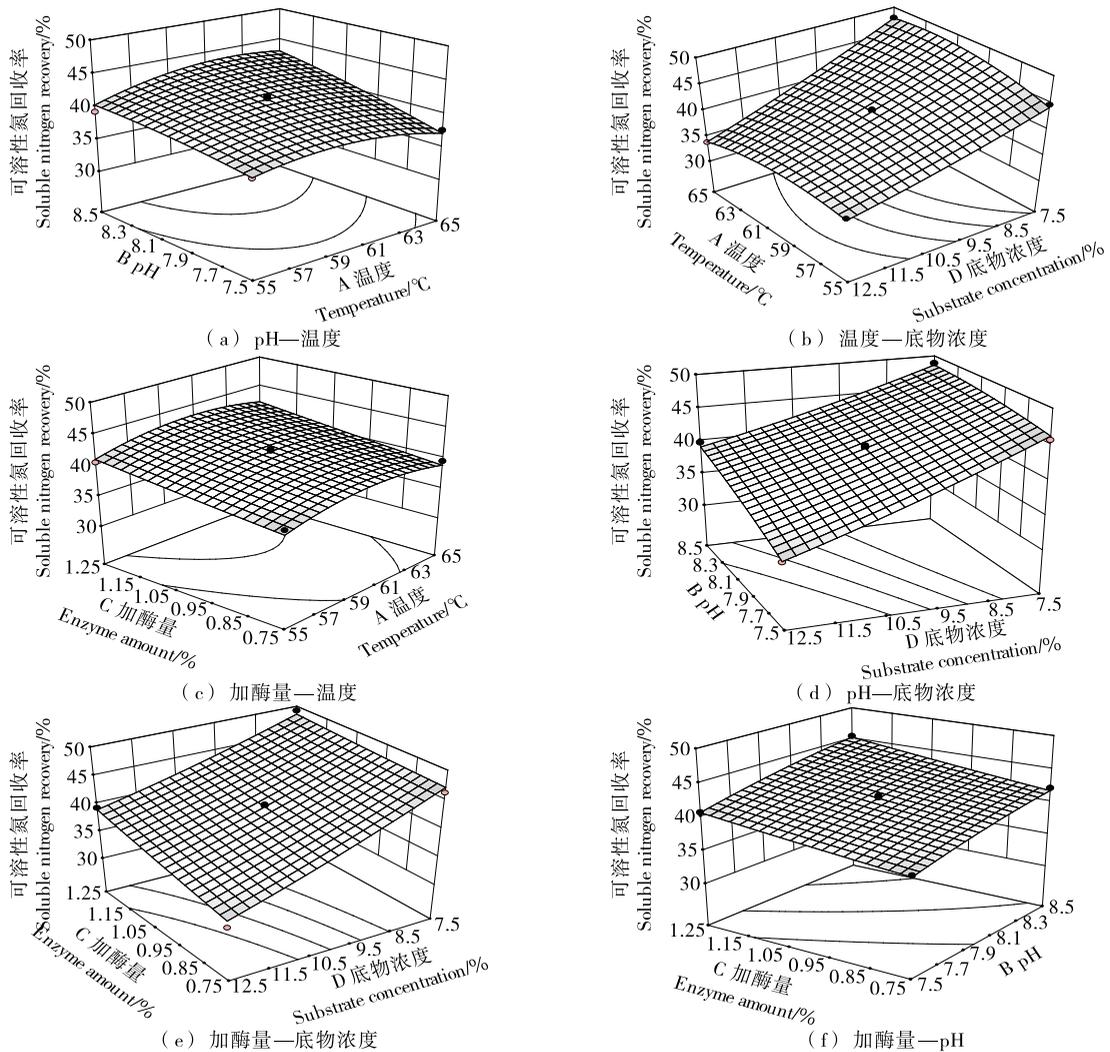


图6 pH—温度、温度—底物浓度、加酶量—温度、pH—底物浓度、加酶量—底物浓度、加酶量—pH交互影响响应面图

Figure 6 Response surface chart of reciprocal effect

不溶性的米渣蛋白质结合,导致未被酶解的不溶性米渣蛋白质中镉含量反而增高。

### 3 结论

本试验确定的酶解米渣蛋白质的最佳工艺条件为:温度 60 °C、加酶量 1.25%、pH 8.0、底物浓度 7.5%,米渣蛋白质可溶性氮回收率为 49.68%。米渣蛋白质经过碱性蛋白酶酶解后,酶解上清液冻干粉中镉含量降低至1.43 mg/kg,相比米渣蛋白质降低了 71.3%,验证了蛋白酶不仅可将大分子米渣蛋白质降解成小分子肽,同时也能将镉从米渣蛋白质大分子中解离出来<sup>[7]</sup>,但关于蛋白酶解米渣蛋白质中镉的相关机理,还需进一步深入研究。

#### 参考文献

[1] ZHAO Qiang, CORDELIA Selomulya, XIONG Hua, et al. Rice Dreg Protein as an Alternative to Soy Protein Isolate;

Comparison of Nutritional Properties [J]. International Journal of Food Properties, 2014, 17(8): 1 791-1 804.  
 [2] 杨居荣, 何孟常, 查燕, 等. 稻、麦籽实中 Cd 的结合形态[J]. 中国环境科学, 2000, 20(5): 404-408.  
 [3] 田蔚, 林亲录, 刘一洋. 米渣蛋白的提取及应用研究[J]. 粮食加工, 2009, 34(2): 31-33.  
 [4] 银波. 大米蛋白酶解—接枝共聚综合改性技术的研究[D]. 长沙: 长沙理工大学, 2011: 15-16.  
 [5] ZHAO Qiang, XIONG Hua, CORDELIA Selomulya, et al. Enzymatic hydrolysis of rice dreg protein; Effects of enzyme type on the functional properties and antioxidant activities of recovered proteins [J]. Food Chemistry, 2012, 134 (3): 1 360-1 367.  
 [6] 崔沙沙, 钟俊桢, 方冲, 等. 不同低水解度的大米蛋白溶解性与结构变化的关系[J]. 食品工业科技, 2016(7): 86-91.

(下转第 236 页)

- [45] LERER-METZGER M, RIZKALLA S W, LUO J, et al. Effects of long-term low-glycaemic index starchy food on plasma glucose and lipid concentrations and adipose tissue cellularity in normal and diabetic rats[J]. *British Journal of Nutrition*, 1996, 75(5): 723-732.
- [46] YAO Yang, ZHU Ying-ying, REN Gui-xing. Immunoregulatory activities of polysaccharides from mung bean[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 139: 61-66.
- [47] BRAND-MILLER J, HAYNE S, PETOCZ P, et al. Low-glycemic index diets in the management of diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(8): 2 261-2 267.
- [48] RANDHIR R, SHETTY K. Mung beans processed by solid-state bioconversion improves phenolic content and functionality relevant for diabetes and ulcer management[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2007, 8(2): 197-204.
- [49] MOTHANAB R AA, AL-REHAILY A J, THABET T M, et al. Anti-inflammatory, antinociceptive, antipyretic and antioxidant activities and phenolic constituents from *Loranthus regularis* Steud. ex Sprague[J]. *Food Chemistry*, 2012, 130(2): 344-349.
- [50] MEJIA E D, LUMEN B O D. Soybean bioactive peptides: A new horizon in preventing chronic diseases[J]. *Sexuality Reproduction & Menopause*, 2006, 4(2): 91-95.
- [51] WATANABE N, ENDO Y, FUJIMOTO K, et al. Tempeh-like fermented soybean (GABA-tempeh) has an effective influence on lipid metabolism in rats[J]. *Journal of Oil Chemists Society Japan*, 2006, 55(8): 391-396.
- [52] ROOHINEJAD S, OMIDZADEH A, MIRHOSSEINI H, et al. Effect of hypocholesterolemic properties of brown rice varieties containing different gamma aminobutyric acid (GABA) levels on Sprague-Dawley male rats[J]. *Journal of Food Agriculture & Environment*, 2009, 7(3): 197-203.

(上接第 139 页)

- [7] 蒲利民, 吴晓萍, 王涛, 等. 蛋白酶水解马氏珠母贝肉对镉解离效果的研究[J]. *食品与机械*, 2013, 29(1): 66-71.
- [8] 贺建华, 鹿麟, 邵纯君, 等. 福林酚法与考马斯亮蓝法测定甘露聚糖肽口服液中蛋白质含量的比较[J]. *中国药师*, 2017(10): 1 861-1 863.
- [9] 胡小玲, 陈剑刚, 张艳, 等. ICP-OES 测定大米中镉的方法研究[J]. *实用预防医学*, 2015, 22(8): 930-932.
- [10] 王素芳. 米渣蛋白复合酶法改性工艺研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2015: 20-21.
- [11] 程云辉, 王璋, 许时婴. 大孔吸附树脂对麦胚肽的吸附特性研究[J]. *食品与机械*, 2005, 21(6): 7-12.
- [12] LI Xiang, XIONG Hua, YANG Kai-wu, et al. Optimization of the biological processing of rice dregs into nutritional peptides with the aid of trypsin[J]. *Journal of Food Science and Technology (Mysore)*, 2012, 49(5): 537-546.
- [13] 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(1): 156-161.
- [14] 李圆圆, 王洪新, 殷飞, 等. 响应面优化酶法提取茶渣蛋白的工艺研究[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(7): 247-251.
- [15] 刘也嘉, 林亲录, 肖冬梅, 等. 大米乳酸菌发酵降镉工艺优化[J]. *农业工程学报*, 2016, 32(7): 276-282.
- [16] 马晓川, 费浩. 金属配位在多肽与蛋白质研究中的应用[J]. *化学进展*, 2016, 28(2): 184-192.
- [17] FENG Wei, DONG Tian-tian, LI Ke-qiang, et al. Characterization of binding behaviors of Cd<sup>2+</sup> to rice proteins [J]. *Food Chemistry*, 2019, 275: 186-192.
- [18] LIU Da-gang, LI Ze-hui, LI Wei, et al. Adsorption Behavior of Heavy Metal Ions from Aqueous Solution by Soy Protein Hollow Microspheres[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2013, 52(32): 11 036-11 044.

(上接第 189 页)

- [62] 邓洁, 罗文奇, 王玉佳, 等. 槟榔碱对胎鼠外周血细胞 DNA 的影响[J]. *长沙医学院学报*, 2013(2): 14-16.
- [63] 李习雄, 胡冠英, 张三印. 槟榔毒性机制的研究进展[J]. *中国实验方剂学*, 2015(19): 212-216.
- [64] 古桂花, 胡虹, 曾薇, 等. 槟榔的细胞毒理研究进展[J]. *中国药房*, 2013(19): 1 814-1 818.
- [65] 高文平, 杨大坚, 胡四琴, 等. 槟榔碱对人体外精子运动能力的影响[J]. *中国药房*, 2010(11): 967-969.
- [66] MOLINENGO L, FUNDARO AM, CASSONE MC. Action of a chronic arecoline administration on mouse motility and on acetylcholine concentrations in the CNS[J]. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 1988, 40(11): 821-822.
- [67] SHIH Y T, CHEN PS, WU C H, et al. Arecoline, a major alkaloid of the areca nut, causes neurotoxicity through enhancement of oxidative stress and suppression of the antioxidant protective system[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2010, 49(10): 1 471-1 479.
- [68] 张春阳, 卫涛涛, 马辉, 等. 活性氧参与一氧化氮诱导的神经细胞凋亡[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2001, 28(1): 81-85.
- [69] 刘云松, 邓旭斌, 苏磊. 活性氧在热打击诱导神经元细胞凋亡中的作用[J]. *中华急诊医学*, 2014(6): 647-651.
- [70] GILANI A H, GHAYUR M N, SAIFY Z S, et al. Presence of cholinomimetic and acetylcholinesterase inhibitory constituents in betel nut[J]. *Life Sciences*, 2004, 75(20): 2 377-2 389.
- [71] 徐远芳, 邓钢桥, 邹朝晖, 等. 食用槟榔纤维对口腔的危害及其软化技术研究进展[J]. *湖南农业科学*, 2012(13): 102-104.
- [72] 萧福元, 赵炜哲, 王非, 等. 食用槟榔对口腔黏膜健康影响的现况研究[J]. *实用预防医学*, 2014, 21(2): 155-159.