

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2021.08.030

小麦醇溶蛋白沸石分离工艺优化及其组分分析

Effects of static deposition method and KOH treatment of zeolite on separation of wheat gliadin

王丹丽¹ 刘璐^{2,3} 张逸凡^{2,3} 连喜军^{2,3}

WANG Dan-li¹ LIU Lu^{2,3} ZHANG Yi-fan^{2,3} LIAN Xi-jun^{2,3}

(1. 天津商业大学理学院, 天津 300134; 2. 天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134; 3. 天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134)

(1. School of Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China; 2. School of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China; 3. Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, Tianjin 300134, China)

摘要:目的:探究谷朊粉中醇溶蛋白的提取分离方法。方法:以醇溶蛋白凝沉率为评价指标,优化谷朊粉醇溶蛋白的静置凝沉工艺。进一步以优化后的静置凝沉工艺制备的醇溶蛋白为原料,研究碱液处理沸石分离醇溶蛋白组分工艺,重点考察碱液质量分数(20%,50%,80%)、加热时间(30,60,120 min)以及加热温度(30,50,70,90 °C)对沸石分离醇溶蛋白组分的影响。结果:谷朊粉中醇溶蛋白提取率为 24%,4,10,20,30 °C 下静置凝沉 40 h 后,醇溶蛋白凝沉率分别为 16.6%,20.6%,24.0%,18.9%。显微图像表明,开始凝沉时醇溶蛋白中大球状蛋白均出现(α -、 β -、 γ -醇溶蛋白),凝沉 10 h 后,在 4,10 °C 下出现虫状醇溶蛋白(ω -醇溶蛋白),凝沉 20 h 后,虫状醇溶蛋白聚集大量出现。沸石处理温度为 50 °C、KOH 质量分数为 20%、处理时间为 120 min 时醇溶蛋白分离量最大,分离量为 10.336 g/kg 沸石。同组空白试验所分离出的醇溶蛋白为 4.730 g/kg 沸石,分离最大量相较于空白试验分离量多出 5.606 g/kg 沸石。根据紫外最大波长分析,醇溶蛋白及其组分的最大紫外吸收波长均在 288.4 nm 附近。柱层析第 1 组分主要成分是低分子量醇溶谷蛋白,第 2 组分主要成分是高低分子量醇溶谷蛋白和 α -、 β -、 γ -、 ω -醇溶蛋白,第 3 组分主要成分为低分子量醇溶谷蛋白。结论:温度对醇溶蛋白凝沉速率影响很大,沸石改性可提高所分离醇溶蛋白量,且分离量与 KOH 溶液质量分数及

改性时间密切相关。

关键词:醇溶蛋白;静置凝沉;氢氧化钾;沸石;柱层析

Abstract: Objective: To study the technology of extracting gliadin from gluten and separating different gliadin components.

Methods: The solution of gluten dissolved in 65% ethanol was settled at 4, 10, 20 and 30 °C for 1, 2, 4, 8, 10, 20 and 40 hours respectively, and the mass of the precipitated gliadin was measured. Further, the gliadin prepared by static deposition at 4 °C for 12 hours was used as raw material to study the separation of gliadin component by modified zeolite with KOH in different conditions. The zeolite was modified in three different mass fractions (20%, 50% and 80%), three different heating time (30, 60 and 120 min) and four different heating temperatures (30, 50, 70 and 90 °C). Then the modified zeolite was put into the gliadin solution for adsorption, after that, the adsorbed zeolite was put into a chromatographic tube and was eluted by ethanol. The eluted components were divided into three equal parts. After refrigeration for a while, the precipitation weight and UV absorption wavelength of each part were measured. **Results:** The maximum output of gliadin was 24%, and the output of gliadin after static deposition at 4, 10, 20 and 30 °C for 40 hours was 16.6%, 20.6%, 24.0% and 18.9%, respectively. Microscopic images showed that both large and small spheres (α -、 β -、 γ -gliadin) appeared in gliadin at the beginning of the deposition, and worm-like gliadin (ω -gliadin) appeared at 4 and 10 °C after 10 hours deposition, and worm-like gliadin aggregates appeared in large quantities after 20 hours deposition. The maximum separation amount of gliadin was 10.336 g per kilogram zeolite when the zeolite was modified at 50 °C for 120 min in the mass fraction of KOH solution of 20%. The gliadin isolated from the blank experiment of the same group was 4.730 g per kilogram zeolite, and

基金项目:天津市科技重大专项与工程(一二三产业融合发展科技示范工程)(编号:18ZXYENC00080);国家自然科学基金项目(编号:31571834,31871811)

作者简介:王丹丽,女,天津商业大学讲师,博士。

通信作者:连喜军(1972—),男,天津商业大学教授,博士。

E-mail: lianliu2002@163.com

收稿日期:2021-01-19

the maximum amount of separation was 5.606 g per kilogram zeolite, more than that of the blank experiment. According to the UV absorption wavelength analysis, the maximum UV absorption wavelength of gliadin was all-around 288.4 nm. The first principal component of column analysis was alcohol-soluble gliadin with low molecular weight; the second principal component was alcohol-soluble glutenin with high/low molecular and α -, β -, γ -, ω -gliadin, the third principal component was alcohol-soluble glutenin with low molecular weight. **Conclusion:** The temperature had a significant influence on the output of gliadin. The separation of gliadin was promoted by zeolite modification, and the amount of separated gliadin was closely related to the mass fraction of KOH solution and modification time.

Keywords: gliadin; static deposition; KOH; zeolite; column chromatography

小麦醇溶蛋白为单体蛋白,分为 α 、 β 、 γ 、 ω 4种不同类型,是面筋蛋白的重要组分^[1-2]。麦醇溶蛋白缺乏弹性,使面筋黏稠并具有延展性和流通性,因其能促进小麦淀粉回生,因此可作为食品添加剂用于制备高品质的回生淀粉^[3-7]。利用体积分数为65%的乙醇水溶液浸泡谷朊粉提取醇溶蛋白是制备醇溶蛋白的常用方法^[8-9],但关于从提取液中分离出醇溶蛋白固体及将不同性质醇溶蛋白组分分离的研究较少。利用高效液相色谱层析方法可鉴定和分离醇溶蛋白,该方法准确度高、重现性好,但试验成本高,而且分离时间长、产物少^[10-11]。

柱层析法是利用混合物中各组分在固定相和流动相中溶解度的差异,经多次分配将各组分分离而达到纯化的目的^[12]。柱层析试验设备简单,且分离产物纯度比较高^[13]。该法被广泛应用于制药、食品、化工等领域^[14-16]。沸石是天然存在且分布广泛的离子交换材料,具有选择性吸附和筛分能力,可用于柱层析的固定相中^[17-18]。与高效液相色谱层析方法相比,采用改性沸石柱层析制备不同分子量醇溶蛋白组分,不需要昂贵设备,过程简单,可高效分离出不同分子量的醇溶蛋白组分。

试验拟研究碱液处理沸石分离不同性质醇溶蛋白组分工艺,以期乙醇浸提谷朊粉制备醇溶蛋白提供可借鉴的方法。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

谷朊粉:思象粉业有限公司;

无水乙醇、氢氧化钾:分析纯,天津市诺奥科技发展有限公司;

碱性蛋白酶:2 000 U/g,天津市诺奥科技发展有限公司;

天然沸石(黑火山土):市售;

电热恒温鼓风干燥箱:DH-101-3BS型,天津市中环实验电炉有限公司;

低速离心机:L535-1型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

紫外可见分光光度计:Lambda25型,美国PerkinElmer公司;

台式电热恒温培育箱:WP25A型,天津市泰斯特仪器有限公司;

扫描式电子显微镜:KH-8700型,浩视中国有限公司;

旋转蒸发器:RE-52AA型,上海亚荣生化仪器厂;

增力电动搅拌器:JJ-1型,天津市华仪鑫达仪器仪表有限公司;

电子天平:YD202N型,上海精密科学仪器有限公司;

液相色谱仪:安捷伦1260 Infinity II型,安捷伦科技公司;

多角度激光光散射仪:DAWN HELEOS II型,美国怀雅特公司;

动态激光光散射仪:DynaPro NanoStar型,美国怀雅特公司。

1.2 试验方法

1.2.1 醇溶蛋白粗提物制备 将市售谷朊粉200 g按液料比($V_{\text{乙醇}} : m_{\text{谷朊粉}}$)30 : 1 (mL/g)溶于体积分数为65%的乙醇,置于30℃水浴中并搅拌2 h,3次离心(3 500 r/min,3 min),取上清液,用旋转蒸发器蒸出乙醇后,所得浓缩液为醇溶蛋白组分1;将提取的上清液冷藏,分别于4、10、20、30℃下静置凝沉1,2,4,8,10,20,40 h,所得沉淀为醇溶蛋白组分2,该醇溶蛋白干重与谷朊粉干重(每200 g谷朊粉的干重为48 g)的比值为凝沉率;用旋转蒸发器将冷藏后的上清液浓缩冻融后离心,所得上清液为醇溶蛋白组分3,沉淀为醇溶蛋白组分4。测量沉淀的质量并通过光学显微镜观察样品形貌。

1.2.2 沸石碱处理 向玻璃瓶中加入500 g沸石,然后加入KOH溶液(质量分数分别为20%、50%、80%)直至没过沸石1~2 cm。将装有沸石的玻璃瓶放入水浴锅中,分别设定4个不同加热温度(30、50、70、90℃)和3个不同加热时间(30、60、120 min);将KOH溶液处理过后的沸石加蒸馏水洗至中性,自然风干。

1.2.3 沸石吸附醇溶蛋白 将4℃下静置凝沉12 h制备的醇溶蛋白溶解于体积分数为65%的乙醇中,向其中加入经KOH处理并干燥的沸石,沸石量没过溶液即可,吸附3 h后将溶液倒出。

1.2.4 醇溶蛋白组分分离 采用层析法。将乙醇作为柱层析中的流动相,以经碱处理的沸石为固定相,向层析柱中加入已经KOH处理并吸附过醇溶蛋白的沸石,量取适量的无水乙醇倒入层析柱中,乙醇溶液没过沸石1~2 cm

(约为 300 mL),待沸石吸附 10 min 后,打开开关将层析出的醇溶蛋白溶液放出,每个样品层析出的液体按照顺序平均分为三等份接出,每个组分为 100 mL,分别标记为 A、B、C。

1.2.5 醇溶蛋白紫外最大吸收波长的确定 将每个样品的 3 个组分在 4 °C 下冷藏 12 h 后,取出样品,将上清液收集在一起后用旋转蒸发仪回收乙醇,剩余液体冷藏所得沉淀即为醇溶蛋白,将样品去皮后称其重量,分析碱质量分数、碱处理时间、碱处理温度对沸石分离醇溶蛋白组分的重量的影响。取出若干试管,向其内加入 4~5 mL 的体积分数为 65% 的乙醇,用钩针钩取每个样品的每个组分的沉淀,放入乙醇液中充分溶解后采用紫外分光光度计测定其紫外最大吸收波长。

1.2.6 醇溶蛋白分子量测定 按照文献[19]的测定方法,以沸石柱层析分离所得三组分作为流动相,利用高效凝胶渗透色谱联用多角度激光散射和示差折光仪(HPSEC-MALLS-RID)进行分析,采用 Astra6 软件收集和数据处理。

1.3 统计学处理

每个数据均取自 3 个重复试验的均值,采用 F 检验,利用 SPSS 软件进行差异性分析。

2 结果与分析

2.1 醇溶蛋白凝沉率与静置凝沉温度及时间关系

将谷朊粉醇提溶液分别在 4, 10, 20, 30 °C 下静置凝沉 1, 2, 4, 8, 10, 20, 40 h, 测定凝沉出的醇溶蛋白凝沉率, 结果如图 1 所示。

由图 1 可知,静置凝沉前 1 h, 4, 10 °C 两组样品醇溶蛋白凝沉速率迅速增长且远多于另外两组, 另外两组几乎未凝沉出醇溶蛋白; 1~4 h 时, 20, 30 °C 两组样品凝沉速率开始缓慢增长, 而 4, 10 °C 两组醇溶蛋白增长趋缓; 4~20 h 时, 20, 30 °C 两组样品凝沉速率小幅增长, 20 h 时两温度下沉淀量接近, 4 °C 下的凝沉率比其他各组都快,

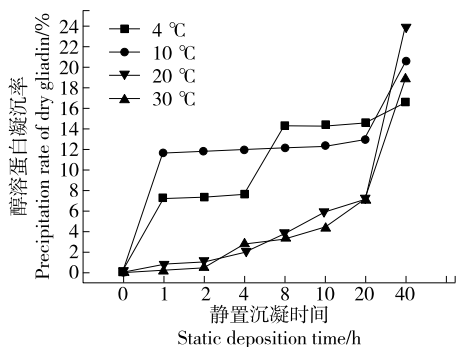


图 1 醇溶蛋白凝沉率与静置凝沉温度及时间的关系

Figure 1 Relationship between precipitation rate of gliadin and static storage temperature as well as time

沉淀量超过了 10 °C 的样品,成为沉淀量最多的组分,而 10 °C 下的样品凝沉较为缓慢。凝沉 20~40 h 时, 20, 30 °C 两组样品凝沉速度加快。静置 40 h 后, 4, 10, 20, 30 °C 下醇溶蛋白的凝沉率分别为 16.6%, 20.6%, 24.0%, 18.9%, 经 40 h 静置凝沉之后, 30 °C 和 10 °C 下最终提取的醇溶蛋白质量相近, 而 20 °C 下的样品提取量最大, 4 °C 下能更快地凝沉出接近最大沉淀量的醇溶蛋白。

2.2 不同温度和时间沉淀出醇溶蛋白光学显微图像特征差异比较

图 2 为不同温度和时间醇溶蛋白提取液及冻融沉淀的光学图像特征差异比较。将第 1 组分和第 3 组分进行对比, 可以看出第 1 组分的醇溶蛋白聚集程度相对较低, 可见通过冻融之后, 醇溶蛋白的聚集程度获得了提升, 说明样品经冻融处理更加容易提取。将第 2 组分和第 4 组分进行对比, 可以看出醇溶蛋白形状上有明显变化, 第 2 组分的醇溶蛋白以小体型聚集为主, 而且形状扁平, 第 4 组分的醇溶蛋白则是体型偏大的聚集为主。说明经过冷冻之后, 样品中醇溶蛋白的聚集性比仅经过冷藏的样品强, 更容易凝聚沉淀。因此, 要想得到更多的醇溶蛋白提取物, 宜将谷朊粉醇提液浓缩后先进行冷藏, 再进行冻融处理。

图 3 为不同温度和时间下, 静置凝沉醇溶蛋白的光学图像特征差异比较。由图 3 可以看出, 在第 1 h 冷藏凝沉醇溶蛋白的图像中, 4 个温度下的醇溶蛋白分布都比较散乱, 大小各不相同且无规律。第 2 h 的与第 1 h 时相似, 但球状醇溶蛋白(α -、 β -、 γ -醇溶蛋白^[20-21])逐渐汇聚。第 4 h 的图像中, 在 4, 10 °C 下静置凝沉的醇溶蛋白都接近圆形, 且聚集程度更高, 而另外两组的醇溶蛋白形状无

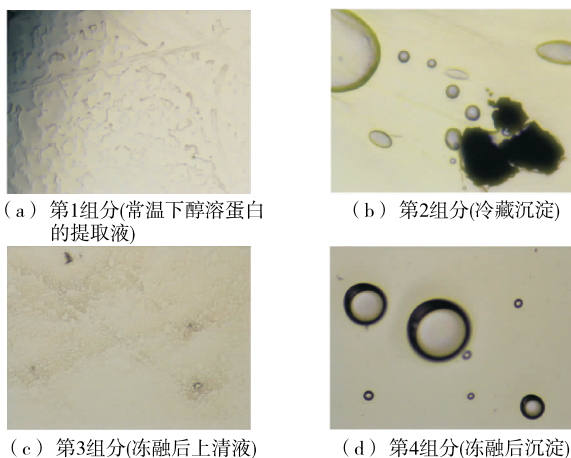


图 2 不同温度和时间醇溶蛋白提取液及沉淀的光学显微图像特征差异比较

Figure 2 Comparison of optical microscope images of gliadin extracts and precipitates at different temperatures and storage time (×400)

规律,且分布较分散。第 10 h 的图像中,4 ℃ 的出现了虫状醇溶蛋白(ω -醇溶蛋白^[22]),10 ℃ 的醇溶蛋白出现了程度较轻的变扁,20 ℃ 的醇溶蛋白呈椭圆状,这 3 个温度下凝沉的醇溶蛋白分布均较为集中,且 4 ℃ 的醇溶蛋白最为集中;40 ℃ 样品显微图像中醇溶蛋白形状依旧无规律且分布较为散乱。在 20 h 时,4,10,20 ℃ 的样品均以虫形 ω -醇溶蛋白为主,夹杂部分椭圆形醇溶蛋白,密集程度都较高,30 ℃ 的样品依旧是以圆形的 α -、 β -、 γ -醇溶蛋白为主,且密集程度则稍微稀疏一些。在 40 h 的样品图像中,不同温度下的醇溶蛋白皆以圆形为主,仅含有少量虫状 ω -醇溶蛋白,可能在此阶段球状 α -、 β -、 γ -醇溶蛋白聚集到虫状 ω -醇溶蛋白表面,相互融合形成了大的球状结构。综上所述,为了高效制备醇溶蛋白,4 ℃ 静置冷藏效果最佳。

2.3 预处理条件对沸石分离醇溶蛋白组分的影响

图 4 和图 5 为经不同工艺预处理沸石对分离醇溶蛋白提取量及其组分紫外吸收光谱的影响。由图 4 可知,在不同处理温度 and 不同处理时间情况下均表现出 KOH 溶液质量分数越低,分离出醇溶蛋白的量越多的规律。即,所分离的醇溶蛋白的量与 KOH 溶液质量分数呈反

比。结合图 5(a)可知,在温度为 30 ℃、处理时间为 30 min 的条件下,KOH 溶液质量分数为 20%,50%,80%时,组分 A 的最大吸收波长分别为 288.4,288.6,288.6 nm,吸光度分别为 0.471,0.291,0.219,KOH 质量分数为 20%时的吸光度最大且峰形窄。因此,质量分数为 20%时分离出醇溶蛋白最纯。

同样,由图 4 可见,沸石处理时间越长,所分离出来的醇溶蛋白量也越多,结合图 5(b)可以得到,沸石处理时间为 30,60,120 min 的最大吸收波长分别为 288.4,288.0,289.6 nm,吸光度分别为 0.351,0.368,0.605,时间为 120 min 时吸光度最大且峰形窄。因此,处理沸石时间为 120 min 时分离出的醇溶蛋白最纯。

由图 4 还可以看出,在沸石改性中,随温度上升,沉淀重量先上升后减少,然后再上升,即大多条件下,温度在 50 ℃ 时所分离出的蛋白量最多,结合图 5(c)可得出,在 50,70,90 ℃ 下,组分 A 的最大吸收波长为 288.0,288.4,289.6 nm,吸光度分别为 0.364,0.308,0.164,温度为 50 ℃ 时的吸光度最大且峰形窄。因此,处理沸石温度为 50 ℃ 时分离出醇溶蛋白最纯。

由单因素结果可知,沸石处理温度为 50 ℃、KOH 溶

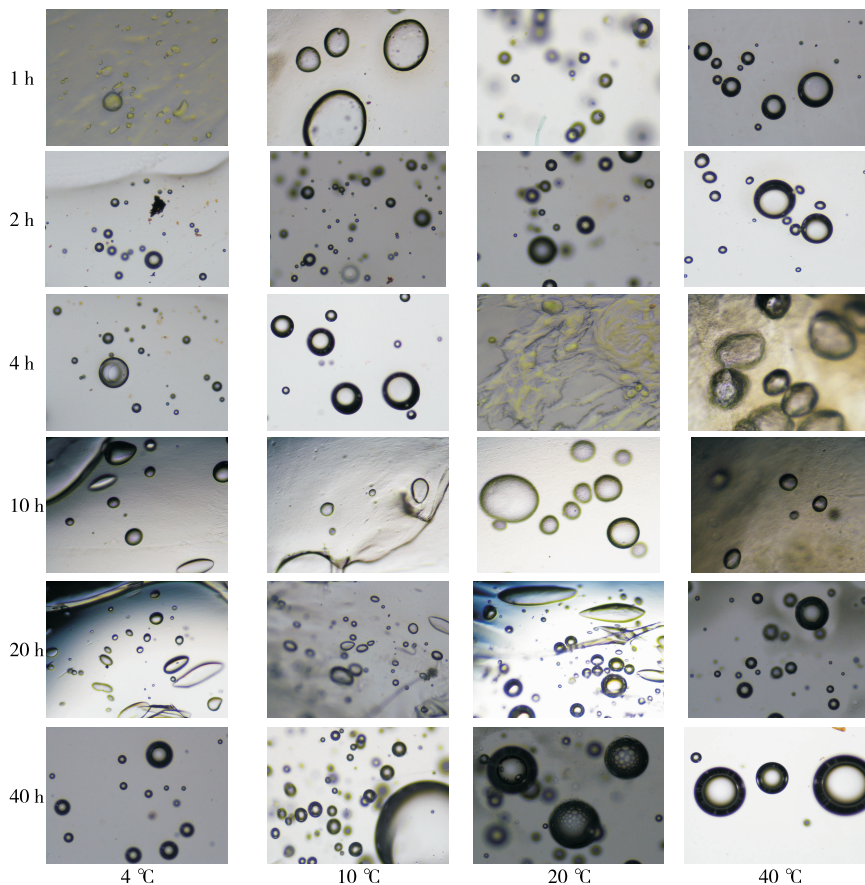


图 3 不同温度和时间沉淀出醇溶蛋白光学显微图像特征差异比较

Figure 3 Comparison of images of gliadin precipitated at different temperatures and time ($\times 400$)

液质量分数为 20%、处理时间为 120 min 时醇溶蛋白分离量最大。按照最佳工艺参数醇溶蛋白最大分离量为 10.336 g/kg 沸石,同组未经碱液处理沸石所分离出的醇溶蛋白为 4.730 g/kg 沸石,分离最大量相较于空白试验分离量多出 5.606 g/kg 沸石。进而观察同一组样品分离出的 3 个组分的蛋白是否一样。由图 5(d)可知,分离出的醇溶蛋白不同组分的最大吸收波长基本相同,通过紫外最大吸收波长无法判断醇溶蛋白中 α -、 β -、 γ -、 ω -醇溶蛋白各组分比例。

2.4 沸石分离醇溶蛋白组分中醇溶蛋白各组分比例

表 1 为沸石柱层析分离所得三组分中醇溶蛋白组分分子量及含量。由表 1 可知,柱层析 A 组分主要成分是高分子量醇溶谷蛋白,B 组分主要成分是中低分子量醇溶谷蛋白,C 组分主要成分是高分子量醇溶谷蛋白。

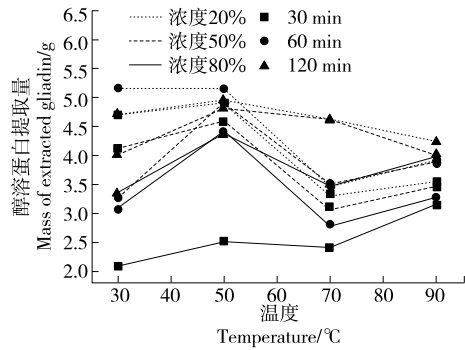


图 4 不同工艺预处理沸石对分离醇溶蛋白提取量的影响

Figure 4 The effect of different treatments to zeolite on separation of gliadin components

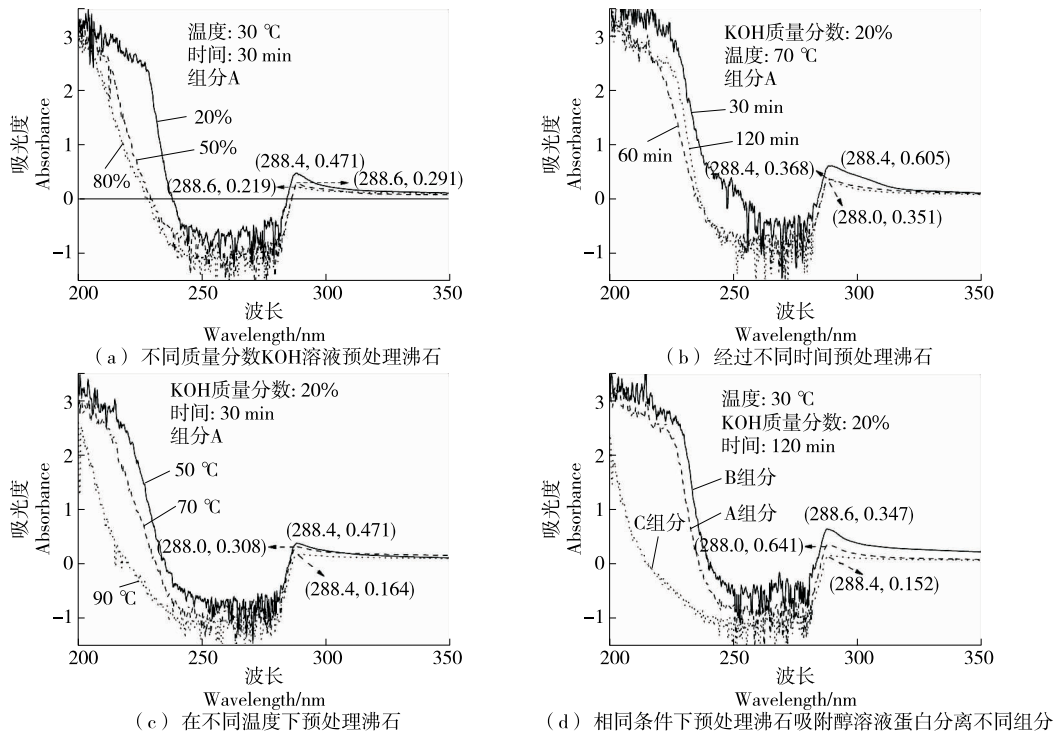


图 5 不同方式预处理沸石后所分离醇溶蛋白组分的紫外吸收光谱图

Figure 5 UV spectra of different components of gliadin separated by zeolite with different treatments

表 1 沸石柱层析分离所得三组分中醇溶蛋白组分分子量及含量[†]

Table 1 The Molar mass and contents of different components of gliadin obtained by column chromatography

组分	数均分子量 M_n / ($g \cdot mol^{-1}$)	重均分子量 M_w / ($g \cdot mol^{-1}$)	分散度 (M_w/M_n)	不同成分所占百分比/%			
				0~20 000	20 000~35 000	35 000~70 000	>70 000
A	101 225	176 723	1.745	49.448	2.657	14.082	33.813
B	107 761	163 292	1.515	34.485	14.910	15.854	34.751
C	198 676	282 839	1.423	61.071	5.235	0.360	33.334

[†] 0~20 000 为低分子量醇溶谷蛋白;20 000~35 000 为 α -、 β -、 γ -醇溶蛋白;35 000~70 000 为 ω -醇溶蛋白;>70 000 为高分子量醇溶谷蛋白。

蛋白和 α -、 β -、 γ -、 ω -醇溶蛋白,C组分主要成分为低分子量醇溶谷蛋白。但C组分中的高分子量醇溶谷蛋白分子量比A、B组分中的大很多,进而使该组分的平均分子量远远大于A、B组分。高分子量醇溶谷蛋白对于面筋延展性具有重要作用,因而制备该类蛋白添加剂用于面条等食品中可大大减小面条煮熟过程的断条率。

3 结论

通过对不同条件下的醇溶蛋白的提取情况以及其提取物的显微图像进行分析,探究醇溶蛋白的最佳提取条件,并以最佳条件下制备的醇溶蛋白为原料,通过对分离情况及紫外波长、蛋白组分分子量等分析研究碱液处理沸石分离醇溶蛋白组分工艺。结果表明,温度对醇溶蛋白凝沉速率影响很大,贮存在4℃环境下谷朊粉中提取醇溶蛋白的效果最好,提取率可达24%;KOH改性沸石后所分离醇溶蛋白量与KOH溶液质量分数呈反比,与改性时间呈正比,温度为50℃、KOH溶液质量分数为20%、处理时间为120 min时预处理沸石醇溶蛋白分离量最大,分离量为10.336 g/kg沸石,相较于空白试验分离量多出5.606 g/kg沸石。根据紫外波长分析,醇溶蛋白及其组分的最大紫外吸收波长在288.4 nm附近。静置凝沉过程中醇溶蛋白中 α -、 β -、 γ -醇溶蛋白组分先沉淀析出, ω -醇溶蛋白组分最后凝沉析出。高分子量醇溶谷蛋白对于面筋延展性具有重要作用,因此对于分子量范围分布更窄的高分子量醇溶谷蛋白组分分离及应用是未来的研究和发展方向。

参考文献

[1] 马永强,韩春然,石志忠.小麦醇溶蛋白的研究进展[J].食品科学,2006,27(12):813-817.
MA Yong-qiang, HAN Chun-ran, SHI Zhong-zhi. Advance on the study of wheat gliadins[J]. Food Science, 2006, 27(12): 813-817.

[2] ANG S, KOGULANATHAN J, MORRIS G A, et al. Structure and heterogeneity of gliadin: A hydrodynamic evaluation[J]. European Biophysics Journal, 2010, 39(2): 255-261.

[3] 杨学举,卢少源,张荣芝.小麦籽粒蛋白质组分与面包烘焙品质性状关系的研究[J].中国粮油学报,1999,14(1):1-5.
YANG Xue-ju, LU Shao-yuan, ZHANG Rong-zhi. Relations between protein groups and bread-baking quality characters of wheat[J]. Journal of the Chinese cereals and oils association, 1999, 14(1): 1-5.

[4] 徐小青,郭祚祥,郭嘉.麦醇溶蛋白与麦谷蛋白比值对面团特性的影响[J].河南工业大学学报(自然科学版),2020,41(2):27-33.
XU Xiao-qing, GUO Zhen-xiang, GUO Jia. Effect of the ratio of gliadin to glutenin on dough characteristics[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2020, 41(2): 27-33.

[5] 王喜庆,刘颖,刘东琦,等.醇溶蛋白和谷蛋白配比对面粉及速冻水饺品质的影响[J].食品与机械,2019,35(10):6-10.
WANG Xi-qing, LIU Ying, LIU Dong-qi, et al. Effects on the quality of flour and deep-frozen dumpling from the proportion of

prolamin to glutelin[J]. Food & Machinery, 2019, 35(10): 6-10.

[6] CALLEJO M J, VARGAS-KOSTIUK M E, RIBEIRO M, et al. Triticum aestivum ssp. vulgare and ssp. spelta cultivars: 2. Bread-making optimisation[J]. European Food Research and Technology, 2019, 245(7): 1399-1408.

[7] 李芳,张影全,李明,等.小麦面筋形成及其理化特性影响因素研究进展[J].中国食品学报,2019,19(11):278-285.
LI Fang, ZHANG Ying-quan, LI Ming, et al. Research progress on affecting factors of wheat gluten formation and physicochemical properties[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(11): 278-285.

[8] 郭嘉,卞科.基于响应面分析的小麦谷朊粉醇溶蛋白分离方法研究[J].农业机械,2011(8):101-104.
GUO Jia, BIAN Ke. Fractionation and isolation of gliadin from vital wheat gluten based on response surface methodology[J]. Farm Machinery, 2011(8): 101-104.

[9] 司学芝,李建伟,王金水,等.麦醇溶蛋白和麦谷蛋白提取条件的研究[J].郑州工程学院学报,2004,25(3):33-35.
SI Xue-zhi, LI Jian-wei, WANG Jin-shui, et al. Extraction of glutenin and gliadin from vital wheat gluten [J]. Journal of Zhengzhou Institute of Technology, 2004, 25(3): 33-35.

[10] BIETZ J A, BURNOUF BIETZ T, BURNOUF J A. Chromosomal control of wheat gliadin: analysis by reversed-phase high-performance liquid chromatography[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1985, 70(6): 599-609.

[11] 唐玲玲,夏明.高效液相色谱法在蛋白质分离检测中的应用[J].农产品加工·学刊,2009(1):89-92.
TANG Ling-ling, XIA Ming. The application of HPLC in protein's separation and analysis[J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2009(1): 89-92.

[12] ROTHSTEIN F. A column design for reverse-flow sephadex gel permeation chromatography[J]. Journal of Chromatography, 1965, 18(1): 36-41.

[13] WELTON J L, WEBBER J P, BOTOS L A, et al. Ready-made chromatography columns for extracellular vesicle isolation from plasma[J]. Journal of Extracellular Vesicles, 2015, 4(1): 1-9.

[14] 武康,汪家权,赵冰冰,等.柱层析法纯化藻胆蛋白的紫外—可见光谱特征研究与机理分析[J].光谱学与光谱分析,2020,40(4):1107-1112.
WU Kang, WANG Jia-quan, ZHAO Bing-bing, et al. Ultraviolet-visible spectral characteristics and mechanism analysis of purification of phycobiliprotein by column chromatography[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2020, 40(4): 1107-1112.

[15] BERGER T A. Reduced plate height of 1.65 on a 20×3 mm column packed with 1.8 μm particles in supercritical fluid chromatography (SFC)[J]. Chromatographia, 2019, 82(6): 971-974.

[16] WILLIAMS T I, WEIL H. The origin of column chromatography[J]. Experientia, 1952, 8(12): 476-476.

[17] MACKO T, PASCH H, DENAYER J F. Adsorption of polypropylene from dilute solutions on a zeolite column packing[J]. Journal of Separation Science, 2005, 28(1): 59-64.

(下转第192页)

- [21] 景永帅, 张丹参, 张瑞娟, 等. 北沙参多糖复合酶提取工艺及理化性质研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(11): 191-197.
JING Yong-shuai, ZHANG Dan-shen, ZHANG Rui-juan, et al. Study on the compound enzyme extraction process of *Glehnia Radix* and its physicochemical properties[J]. Food Science, 2019, 35(11): 191-197.
- [22] 白生文, 汤超, 田惊, 等. 沙棘果渣总黄酮提取工艺及抗氧化活性分析[J]. 食品科学, 2015, 36(10): 59-64.
BAI Sheng-wen, TANG Chao, TIAN Jing, et al. Extraction and antioxidant activity of total flavonoids from sea buckthorn pomace[J]. Food Science, 2015, 36(10): 59-64.
- [23] 顾浩峰. 酶法辅助提取猴头菇中硒多糖工艺中复合酶用量的优化[J]. 食品与发酵科技, 2017, 53(4): 39-44.
GU Hao-feng. The optimization of dosage of complex enzymes in enzyme-assisted hericium se-polysaccharides extraction[J]. Food and Fermentation Sciences & Technology, 2017, 53(4): 39-44.
- [24] 齐睿婷, 黄菊青, 高汪磊, 等. 竹茹多糖提取工艺优化及其理化性质分析[J]. 食品工业科技, 2015, 36(16): 299-303.
QI Rui-ting, HUANG Ju-qing, GAO Wang-lei, et al. Extraction and physicochemical properties of the polysaccharides from bamboo shavings[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(16): 299-303.
- [25] 王莹, 陈圆, 聂倩倩, 等. 复合酶法辅助提取柚子皮多糖的工艺优化[J]. 湖南农业科学, 2018(5): 86-88, 91.
WANG Ying, CHEN Yuan, NIE Qian-qian, et al. Optimization of polysaccharides extraction from pomelo peel by compound enzymes method[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2018(5): 86-88, 91.
- [26] 杨蓉生, 陈炼红, 唐俊妮, 等. 复合酶法提取红雪茶粗多糖工艺优化研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(12): 285-288.
YANG Rong-sheng, CHEN Lian-hong, TANG Jun-ni, et al. Optimization of polysaccharide extraction from *Lethariella Cladonioides* by compound enzymes method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(12): 285-288.
- [27] 陈艳, 姚密, 李美凤, 等. 超声波辅助复合酶法提取松茸多糖的工艺研究[J]. 中国酿造, 2017, 36(10): 139-143.
CHEN Yan, YAO Mi, LI Mei-feng, et al. Ultrasound-assisted compound enzyme extraction technology of polysaccharide from *Tricholoma matsutake*[J]. China Brewing, 2017, 36(10): 139-143.

(上接第 162 页)

- [14] 刘英, 周晓林, 胡忠康, 等. 基于优化卷积神经网络的木材缺陷检测[J]. 林业工程学报, 2019, 4(1): 115-120.
LIU Ying, ZHOU Xiao-lin, HU Zhong-kang, et al. Wood defect detection based on optimized convolutional neural network[J]. Journal of Forestry Engineering, 2019, 4(1): 115-120.
- [15] 王泽霞, 陈革, 陈振中. 基于改进卷积神经网络的化纤丝饼表面缺陷识别[J]. 纺织学报, 2020, 41(4): 115-120.
WANG Ze-xia, CHEN Ge, CHEN Zhen-zhong. Surface defect recognition of chemical fiber cake based on improved convolutional neural network[J]. Journal of Textile Research, 2020, 41(4): 115-120.
- [16] 王志中. 基于改进蚁群算法的移动机器人路径规划研究[J]. 机械设计与制造, 2018, 12(1): 242-244.
WANG Zhi-zhong. Research on mobile robot path planning based on improved ant colony algorithm[J]. Mechanical Design and Manufacturing, 2018, 12(1): 242-244.
- [20] CAETANO C E F, LIMA A B, PAULINO J O S, et al. A conductor arrangement that overcomes the effective length issue in transmission line grounding[J]. Electric Power Systems Research, 2018, 46(5): 159-162.
- [21] JIA Zhi-wei, WANG Li-Jun, ZHANG Jin-chuan, et al. High efficiency, low power-consumption DFB quantum cascade lasers without lateral regrowth[J]. Nanoscale Research Letters, 2017, 12(1): 88-95.
- [22] 杨志锐, 郑宏, 郭中原, 等. 基于网中网卷积神经网络的红枣缺陷检测[J]. 食品与机械, 2020, 36(2): 140-145, 181.
YANG Zhi-rui, ZHENG Hong, GUO Zhong-yuan, et al. Defect detection of jujube based on convolutional neural network of net in net[J]. Food & Machinery, 2020, 36(2): 140-145, 181.
- [23] 张昱, 陈光黎. 基于最小二乘支持向量机的机器视觉识别方法[J]. 测控技术, 2011, 30(7): 97-100.
ZHANG Yu, CHEN Guang-li. Machine vision recognition method based on least squares support vector machine[J]. Measurement and Control Technology, 2011, 30(7): 97-100.

(上接第 179 页)

- [18] 史鸿乐, 汪诗翔, 刘义青, 等. 亚铁改性沸石活化过氧乙酸降解水中双氯芬酸的研究[J]. 中国环境科学, 2020, 40(5): 2 116-2 123.
SHI Hong-le, WANG Shi-xiang, LIU Yi-qing, et al. Enhanced degradation of diclofenac by catalytic peracetic acid using Fe²⁺ modified zeolite[J]. China Environmental Science, 2020, 40(5): 2 116-2 123.
- [19] 胡卫珍, 齐振宇, 陈晓芳, 等. 凝胶渗透色谱联用多角度激光散射测定铁皮石斛多糖分子量及其分布[J]. 浙江农业科学, 2020, 61(6): 1 166-1 167, 1 175.
HU Wei-zhen, QI Zhen-yu, CHEN Xiao-fang, et al. Determination of molecular weight and distribution of polysaccharides in *Dendrobium officinale* by size exclusion chromatography-multi angle laser light scattering[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2020, 61(6): 1 166-1 167, 1 175.
- [20] PINIER M, VERDU E F, NASSER-EDDINE M, et al. Polymeric binders suppress gliadin-induced toxicity in the intestinal epithelium[J]. Gastroenterology, 2009, 136(1): 288-298.
- [21] HU Y Q, YIN S W, ZHU J H, et al. Fabrication and characterization of novel Pickering emulsions and Pickering high internal emulsions stabilized by gliadin colloidal particles[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61(1): 300-310.
- [22] PAANANEN A, TAPPURA K, TATHAM A S, et al. Nanomechanical force measurements of gliadin protein interactions[J]. Biopolymers: Original Research on Biomolecules, 2006, 83(6): 658-667.