

乌饭树树叶蓝黑色素对大米蛋白理化性质的影响

Effects of the dark blue pigment from *Vaccinium bracteatum* Thunb leaves on the physicochemical properties of rice protein

赵佳佳¹ 王梦² 李言²

ZHAO Jia-jia¹ WANG Meng² LI Yan²

钱海峰² 樊铭聪² 王立²

QIAN Hai-feng² FAN Ming-cong² WANG Li²

(1. 江苏旅游职业学院,江苏 扬州 225000;2. 江南大学食品学院,江苏 无锡 214122)

(1. Jiangsu Institute of Tourism, Yangzhou, Jiangsu 225000, China;

2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

摘要:目的:研究乌饭树树叶蓝黑色素对大米蛋白组分结构性质和乳化性质的改善作用。方法:以乌饭树树叶为原料制备蓝黑色素,以乌米饭中大米蛋白为研究对象,模拟乌米饭染色过程并分析染色前后大米蛋白结构性质和乳化性质的变化。结果:乌饭树树叶蓝黑色素可与大米蛋白形成二元复合物,导致色度 L^* 值和 b^* 值降低,复合物颜色向蓝黑色转变。色素—蛋白复合物溶解度增加,而持油性显著降低。利用圆二色光谱分析大米蛋白二级结构,发现其 α -螺旋与 β -折叠的相对含量下降, β -转角和无规卷曲的相对含量上升。当色素质量分数低于 1.5% 时,起泡稳定性升高,而起泡性、乳化性和乳化稳定性降低。当色素质量分数高于 1.5% 后,起泡稳定性下降,起泡性、乳化性和乳化稳定性升高。结论:乌饭树树叶蓝黑色素通过改变大米蛋白二级结构可改善其乳化性质。

关键词:乌饭树树叶;蓝黑色素;大米蛋白;二级结构;乳化性质

Abstract: Objective: This study was to explore the improvement of structural and emulsifying properties of rice protein by interacting with the dark blue pigment of *Vaccinium bracteatum* Thunb leaves. **Methods:** The dark blue pigment was prepared from VBTL, and the changes of structural and emulsifying properties

基金项目:国家自然基金面上项目(编号:31671890);江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人项目;中国博士后科学基金面上项目(编号:2021M701462)

作者简介:赵佳佳,女,江苏旅游职业学院讲师,硕士。

通信作者:王立(1978—),男,江南大学教授,博士。

E-mail: wl0519@163.com

收稿日期:2022-05-26 **改回日期:**2022-08-25

of rice protein before and after dyeing were analyzed. **Results:** The formation of binary complexes between the dark blue pigment and the rice protein decreased the color values of L^* and b^* , and the hue of the pigment-protein complex changed to dark blue color with the increase of the pigment concentration. The water solubility of the pigment-protein complex increased, and the oil-holding capacity decreased significantly. The analysis circular dichroism spectroscopy showed the changes in the secondary structure of pigment-protein complex with a decreasing in the relative content of α -helices and β -folds and an increasing in the relative content of β -turns and random coil. At the concentration of pigment below 1.5%, foam stability increased, while foaming capacity, emulsifying capacity and emulsion stability decreased. When the concentration of pigment was higher than 1.5%, foam stability decreased, while foaming capacity, emulsifying capacity and emulsion stability increased. **Conclusion:** The dark blue pigment can improve the emulsifying properties of rice protein by changing its secondary structure.

Keywords: *Vaccinium bracteatum* Thunb leaves; dark blue pigment; rice protein; secondary structure; emulsifying property

乌饭树是一种历史悠久的药用植物资源,是天然的植物色素来源。中国乌饭树资源蕴藏量丰富,东部沿海地区居民利用其树叶汁将大米着色蒸煮制成蓝黑色的乌米饭,食用习俗已流传千年^[1]。在乌米饭食用地区调研发现,常食用乌米饭可显著改善 2 型糖尿病患者血糖水平,与精制大米相比,其表面的蓝黑色素对外观特征和营养特性起着重要作用^[2]。

乌饭树树叶中含有多种活性成分,目前已发现超过 200 种化合物,主要成分是类黄酮、酚酸和环烯醚萜类化

合物^[3]。中国有很多学者对乌米饭表面的色素成分进行了相关研究,对乌饭树树叶进行浸提纯化等操作,并将制得的黑色浓缩物统称为“黑色素”。顾文秀等^[4]、胡志杰等^[5]、王立等^[6]分别利用超声波法、复合酶法辅助提高了色素的得率,最高可达到 3.3%。同时,研究者^[7-8]通过分析乌饭树树叶和果实中色素的化学组成,推测其中的色素成分可能是花色苷等黄酮类物质。但是在乌米饭染色过程中,经乌饭树树叶提取物浸泡的米粒表面呈现蓝黑色。课题组^[9]前期针对该蓝黑色物质研究后发现,乌饭树树叶中环烯醚萜苷类物质可以作为前体物质经水解、聚合后生成有色物质,环烯醚萜苷元与蛋白质的—NH₂残基发生共价反应转化为以碳—氮键为主要特征骨架的吡啶类杂环有色化合物。乌米饭表面蓝黑色素的着色稳定性较强,染色完成后色素不易直接提取分离,推测在染色过程中色素与大米组分发生了较强的结合作用。然而,基于该呈色反应机理利用呈色前体物质与游离氨基酸反应制备蓝黑色素的方法可以克服传统染色方法提取难度的缺陷,为蓝黑色素与大米组分相互作用的表征奠定了基础^[10]。因此,研究拟以乌饭树树叶为原料分离呈色前体物并制备蓝黑色素,研究其与大米蛋白组分的结合作用,探讨蓝黑色素对大米蛋白理化性质的影响,以期为促进乌饭树天然色素的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与设备

乌饭树树叶:采自江苏溧阳;

大米蛋白(蛋白含量 80%,以干基计):西安天之露生物科技有限公司;

β -葡萄糖苷酶(EC3.2.1.21):100 U/mg,上海百灵威公司;

无水乙醇、乙酸、氢氧化钠等试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

冷冻干燥机:FreeZone-6 型,美国 Labconco 公司;

手持色差计:CR-410 型,日本柯尼卡美能达公司;

紫外可见分光光度计:T9 双光束型,北京普析通用仪器有限责任公司;

全自动圆二色光谱仪:Chirascan V100 型,英国 Applied Photophysics 公司;

分散乳化机:ULTRA-TURRAX 型,德国 IKA 公司;

荧光分光光度计:日立 F-7000 型,日本 Hitachi 公司;

恒温水浴锅:HWS-24 型,上海一恒科学仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 乌饭树树叶蓝黑色素的制备 按 Fan 等^[11]的方法,将乌饭树树叶洗净后,按料水比 1:5 (g/mL) 破碎匀浆

10 min,纱布过滤出杂质后离心 15 min (4 °C,8 000 r/min),将上清液浓缩后真空冷冻干燥,得到棕黄色的乌饭树树叶水提物粉末,取适量粉末分散于去离子水中至质量浓度 2 mg/mL,添加 β -葡萄糖苷酶使其质量浓度为 8 μ g/mL,在 37 °C 下恒温水解 1~2 h,在水解液中加入 0.1 g/100 mL 甘氨酸^[10],50 °C 恒温水浴 3 h,至溶液颜色呈蓝黑色,过滤沉淀后真空旋转蒸发浓缩后冷冻干燥,初步得到粗制蓝黑色素粉末。采用葡聚糖凝胶 Sephadex G-15 进行柱层析(层析柱长度 25 cm,直径 4.0 cm),以质量浓度为 2 mg/mL 的粗制蓝黑色素溶液上样,利用去离子水洗脱,收集每个洗脱级分(1~2 个柱体积为一个级分)。蓝黑色素的吡啶杂环结构在 585 nm 处有特征吸收峰,因此将在 585 nm 处有吸收峰的洗脱液合并为纯化的蓝黑色素溶液。最后,将溶液在 55 °C 条件下进行真空旋转蒸发浓缩后继续冷冻干燥,得到蓝色絮状色素粉末。

1.2.2 色素—大米蛋白复合物的制作 称取 5 g 大米蛋白溶解于 50 mL 去离子水中,分别制备不同乌饭树树叶蓝黑色素添加量的蛋白溶液,分别加入 0,75,150,250,350,450 mg 的蓝黑色素后在 60 °C 下搅拌 30 min,在 50 °C 条件下进行真空旋转蒸发浓缩后继续冷冻干燥,得到蓝黑色素添加量分别为 0.0,1.5,3.0,5.0,7.0,9.0 g/100 g 的蛋白样品,4 °C 下保存备用。

1.2.3 色度 利用柯尼卡美能达(CR-410)手持色差计对染色前后大米蛋白的色度进行测定,数据结果用 L^* 、 a^* 和 b^* 表示。其中白色 L^* 值的大小代表颜色由黑到白的程度(L^* 值 = 100 为白色, L^* 值 = 0 为黑色),红绿色度 a^* 值代表颜色由绿到红的程度(正值为红,负值为绿),黄蓝色度 b^* 的大小代表颜色由黄到蓝的程度(正值为黄,负值为蓝)。

1.2.4 溶解性 取 100 mg 大米蛋白样品溶于 10 mL 去离子水中,用 0.1 mol/L 的氢氧化钠或盐酸溶液调节 pH 至 2.0~12.0,室温下磁力搅拌 1 h 后,5 000 r/min 离心 20 min,取上清液测定其中蛋白质含量,按式(1)计算蛋白样品的溶解性。

$$C = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

C——溶解率,%;

m_1 ——上清液中蛋白含量,g;

m_2 ——原料中总蛋白含量,g。

1.2.5 吸水性 取 1 g 大米蛋白样品溶于 10 mL 去离子水中,振荡摇匀 2 min 以保证蛋白样品充分分散,在室温下静置 30 min 左右,5 000 r/min 离心 20 min,弃去上清液,将沉淀称重,按式(2)计算蛋白样品的吸水性。

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_2} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

W —吸水性, %;

m_1 —沉淀物质量, g;

m_2 —蛋白质质量, g。

1.2.6 持油性 取 1.0 g 蛋白与 10 mL 大豆油均匀混合, 室温下静置 30 min, 5 000 r/min 离心 20 min, 将上层大豆油移入干燥的 10 mL 量筒中, 记录体积, 按式(3)计算蛋白样品的持油性。

$$O = \frac{10 - v}{m} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

O —持油性, %;

v —最终体积, mL;

m —蛋白质质量, g。

1.2.7 二级结构相对含量 利用圆二色光谱(CD)测定染色前后大米蛋白的二级结构^[12]。配制质量浓度为 0.4 mg/mL 的大米蛋白溶液, 用 Chirascan V100 圆二色光谱仪在室温下检测圆二色谱, 石英比色皿的光路路径长度为 0.1 cm, 扫描范围 190~260 nm, 光谱带宽 1.0 nm, 扫描速度为 100 nm/min, 以去离子水的圆二色光谱图作为基线校正, 每组样品平行扫描 3 次得到 CD 谱图, 然后将光谱数据导入 CD-Pro 软件计算出每组蛋白样品中二级结构(α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲)的相对含量。

1.2.8 起泡性和起泡稳定性 取 0.5 g 蛋白溶于 50 mL 去离子水中, 磁力搅拌 30 min 后均质 2 min, 转入 100 mL 量筒分别测量均质后 0 min 和 30 min 泡沫体积, 分别按式(4)和式(5)计算蛋白样品的起泡性和起泡稳定性。

$$F = \frac{v_0}{50} \times 100\%, \quad (4)$$

$$F_s = \frac{v_{30}}{v_0} \times 100\%, \quad (5)$$

式中:

F —起泡性, %;

v_0 —0 min 时的泡沫体积, mL;

F_s —起泡稳定性, %;

v_{30} —30 min 时的泡沫体积, mL。

1.2.9 乳化性和乳化稳定性 取 8 mL 的大豆油与 24 mL 0.1% 的蛋白溶液混合, 10 000 r/min 均质 1 min, 形成均匀乳液。在试管中加入 5 mL 浓度为 0.1% 的 SDS 溶液, 分别移取 50 μ L 均质后 0 min 和 10 min 的乳液, 测定其在 500 nm 处的吸光度, 分别按式(6)和式(7)计算蛋白样品的乳化性和乳化稳定性。

$$E = \frac{2 \times t \times A_0 \times r}{c \times v \times 10 000}, \quad (6)$$

$$E_s = \frac{A_0 \times 10}{A_0 - A_{10}}, \quad (7)$$

式中:

E —乳化性, m^2/g ;

t —时间, min;

A_0 —0 min 时的吸光度;

r —稀释倍数;

c —质量浓度, mg/mL;

v —油相体积, mL;

E_s —乳化稳定性, min;

A_{10} —10 min 时的吸光度。

1.3 数据分析

使用 SPSS 22.0(美国 SPSS 公司)的单因素方差分析(ANOVA)进行分析, 以 $P < 0.05$ 来表示样品平均值之间的显著性差异。数据以平均数±标准差的形式表示。

2 结果与分析

2.1 蓝黑色素对大米蛋白色度的影响

由表 1 可知, 大米蛋白呈淡黄色, 随着色素质量分数的升高, 色素—蛋白复合物的 L^* 和 b^* 值显著降低, 平均值分别从 87.11, 22.70 下降到 70.03, 7.85 ($P < 0.05$), a^* 值略微降低, 由正值变为负值。色度值的变化表明在染色过程中色素—蛋白复合物样品的白度降低, 并由偏黄转为偏蓝, 二元复合体系的亮度变暗, 色调向蓝黑色转变。

2.2 蓝黑色素对大米蛋白结构性质的影响

2.2.1 溶解度 从图 1 可以看出, 随着色素质量分数升高, 色素—蛋白复合体系的溶解度先下降后缓慢上升。这可能是蓝黑色素的主要成分是偏酸性的环烯醚萜类衍生物, 而大米蛋白的等电点在 pH 4.0 左右, 且蛋白质在等电点处的溶解度最低, 越偏离等电点溶解度越高^[13]。因此, 加入色素后的色素—蛋白复合物的分散液 pH 较纯大米蛋白分散液更接近等电点, 导致蓝黑色素染色后的大米蛋白溶解度降低。在继续升高蓝黑色素的质量分数

表 1 乌饭树树叶蓝黑色素质量分数对大米蛋白色泽的影响[†]

Table 1 Effects of concentration of VBLT dark blue pigment on color of rice protein ($n=3$)

| 蓝黑色素质量分数/% | L^* | a^* | b^* |
|------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 0.0 | 87.11 ± 0.72^a | 1.72 ± 0.11^a | 22.70 ± 0.27^a |
| 1.5 | 81.57 ± 1.13^b | 0.06 ± 0.04^b | 14.81 ± 0.26^b |
| 3.0 | 78.14 ± 0.84^c | -0.35 ± 0.01^c | 11.25 ± 0.35^c |
| 5.0 | 73.16 ± 1.15^d | -0.47 ± 0.03^d | 10.31 ± 0.38^d |
| 7.0 | 74.75 ± 0.67^d | -0.49 ± 0.04^e | 9.26 ± 0.45^d |
| 9.0 | 70.03 ± 1.23^e | -0.51 ± 0.02^f | 7.85 ± 0.51^e |

[†] 同列字母不同表示有显著性差异($P < 0.05$)。

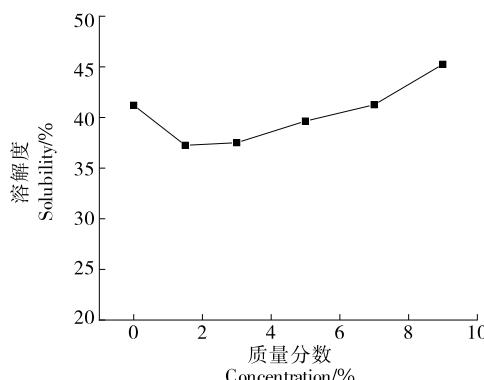


图 1 乌饭树树叶蓝黑色素对大米蛋白溶解度的影响
Figure 1 Effects of concentration of VBLT dark blue pigment on solubility of rice protein

后,二元复合体系的溶解度又有所上升。这是因为在低 pH 值下,环烯醚萜类物质的亲水基团能与水分子之间形成氢键,使得二元体系溶解度升高^[14]。

2.2.2 吸水性 图 2 为大米蛋白的持水性随色素质量分数的变化趋势。由图 2 可知,随着色素质量分数升高,色素—蛋白复合体系的持水性先上升后下降。推测原因是:加入蓝黑色素使二元复合体系内亲水基团含量升高,导致色素—蛋白复合物持水性升高。而随着色素质量分数持续增大,由于环烯醚萜类衍生物偏酸性,使色素—蛋白复合体系的 pH 偏离等电点时,蛋白所带电荷减少,与水分子间作用力较弱,持水性降低^[15]。与此同时,色素—蛋白复合体系的溶解度升高,导致持水性降低^[16]。

2.2.3 持油性 图 3 为大米蛋白的持油性随色素质量分数的变化趋势。由图 3 可知,随着色素质量分数升高,色素—蛋白复合体系的持油性持续下降。推测原因可能是:蓝黑色素中的疏水键与大米蛋白表面的疏水键通过非共价作用结合,使得大米蛋白结构中原有的疏水键减少,降低了大米蛋白的持油性,同时加入色素使二元复合体系的亲水基团数量增加,进一步降低了色素—蛋白复合物的持油性^[17]。

2.2.4 二级结构 表 2 为不同质量分数乌饭树树叶蓝黑

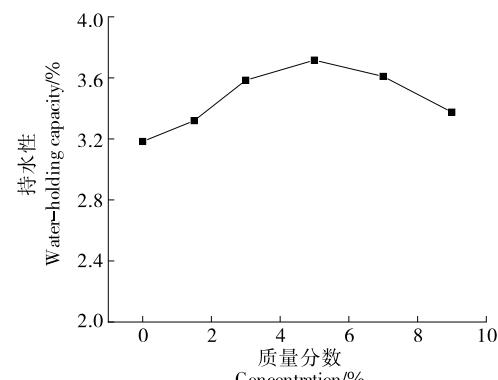


图 2 乌饭树树叶蓝黑色素对大米蛋白持水性的影响
Figure 2 Effects of concentration of VBLT dark blue pigment on water-holding capacity of rice protein

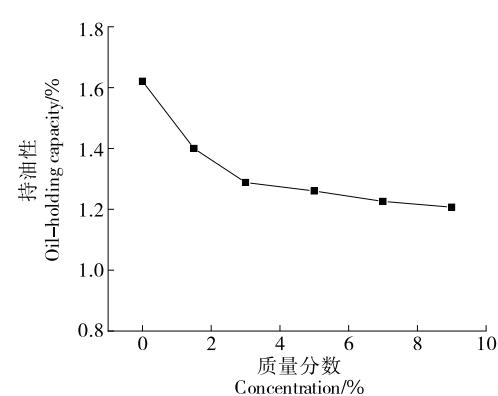


图 3 乌饭树树叶蓝黑色素对大米蛋白持油性的影响
Figure 3 Effects of concentration of VBLT dark blue pigment on oil-holding capacity of rice protein

色素染色前后色素—蛋白复合物的二级结构变化。由表 2 可知,随着乌饭树树叶色素质量分数的升高,二元复合体系中 α -螺旋和 β -折叠的含量显著下降, β -转角和无规则卷曲的含量有所上升,其中 α -螺旋下降了 14.1%, β -折叠下降了 9.5%,而 β -转角和无规则卷曲的含量则分别增加了 10.5% 和 13.3% ($P < 0.05$)。推测出现这种情况的原因在于色素中含有大量的环烯醚萜类衍生物,

表 2 大米蛋白与乌饭树树叶蓝黑色素复合物二级结构的变化情况[†]

Table 2 Changes on secondary structures of rice protein complex with different concentrations of VBLT dark blue pigment ($n=3$)

| 色素质量 分数 | α -螺旋 | | β -折叠 | | β -转角 | 无规则卷曲 | % |
|------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---|
| | 同向螺旋 | 反向螺旋 | 同向螺旋 | 反向螺旋 | | | |
| 0.0 | 15.9±0.31 ^a | 13.7±0.21 ^a | 17.9±0.37 ^a | 12.1±0.23 ^a | 20.2±0.07 ^a | 20.3±0.23 ^a | |
| 1.5 | 13.8±0.34 ^b | 12.1±0.13 ^b | 16.3±0.08 ^b | 11.3±0.15 ^b | 22.6±0.44 ^b | 24.2±0.19 ^b | |
| 3.0 | 12.6±0.16 ^c | 11.1±0.28 ^c | 15.6±0.17 ^c | 10.6±0.28 ^c | 24.4±0.25 ^c | 26.1±0.31 ^c | |
| 5.0 | 10.5±0.02 ^d | 10.7±0.26 ^d | 13.5±0.34 ^d | 10.2±0.06 ^c | 27.1±0.32 ^d | 28.4±0.47 ^d | |
| 7.0 | 8.8±0.25 ^e | 9.5±0.11 ^e | 12.2±0.20 ^e | 9.9±0.14 ^d | 28.6±0.29 ^e | 31.2±0.08 ^e | |
| 9.0 | 6.9±0.09 ^f | 8.6±0.33 ^f | 10.9±0.19 ^f | 9.6±0.21 ^d | 30.7±0.03 ^f | 33.6±0.16 ^f | |

[†] 同列字母不同表示有显著性差异($P < 0.05$)。

这些化合物有较多的极性基团^[18]。而大米蛋白内部 α -螺旋、 β -折叠中存在大量氢键,与色素结合后大米蛋白内部的极性基团与色素中极性基团结合并形成氢键,对维持大米蛋白中 α -螺旋和 β -折叠结构的氢键造成破坏,致使其转变成无规则卷曲的结构^[19]。

2.3 蓝黑色素对大米蛋白乳化性质的影响

2.3.1 起泡性和起泡稳定性 由图4可知,随着蓝黑色素质量分数升高,大米蛋白起泡性先下降再上升。而大米蛋白的起泡稳定性的趋势相反,随着色素质量分数升高,起泡稳定性先上升后下降。在加入蓝黑色素后,色素—蛋白复合体系的pH先偏向蛋白质等电点,蛋白质的溶解度降低,不利于界面上蛋白质分子之间的相互作用和形成黏稠的膜,导致了色素—蛋白复合物起泡性的降低。而随着色素质量分数升高,二元复合体系中亲水基团的含量升高,色素—蛋白复合物的溶解度上升,溶液的表面张力减少,对泡沫的形成比较有利。且色素—蛋白复合物的极性更强,更易与水分子相互作用形成氢键,促使了蛋白质扩散到空气—水界面并展开,有助于产生更多的气泡^[20]。

而随着色素质量分数升高,大米蛋白的起泡稳定性先上升后下降。这是因为加入乌饭树树叶蓝黑色素后,色素—蛋白复合体系的pH首先偏向等电点,蛋白所带电荷减少,界面与蛋白质分子之间的排斥力减少,有助于维持泡沫的稳定。但是继续加入色素会提高蛋白质的溶解度,促进蛋白质分子与水分子相互作用,同时产生更多的气泡,导致蛋白质膜强度和溶液黏度降低,最终影响色素—蛋白复合体系的起泡稳定性^[21]。

2.3.2 乳化性及乳化稳定性 从图5可以看出,随着色素质量分数升高,色素—蛋白复合体的乳化性和乳化稳定性均呈先下降再上升的趋势。结合前面2.3.1的分析

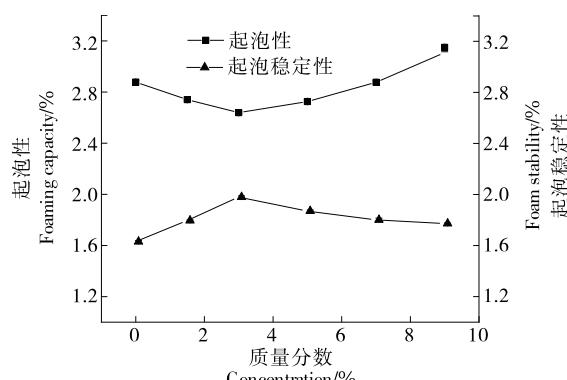


图4 乌饭树树叶蓝黑色素对大米蛋白起泡性和起泡稳定性的影响

Figure 4 Effects of concentration of VBLT dark blue pigment on foaming capacity and foam stability of rice protein

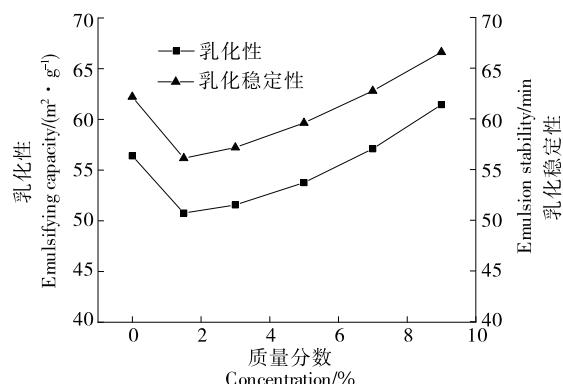


图5 乌饭树树叶蓝黑色素对大米蛋白乳化性和乳化稳定性的影响

Figure 5 Effects of concentration of VBLT dark blue pigment on emulsifying capacity and emulsion stability of rice protein

结果推测:加入蓝黑色素后,色素—蛋白复合体系的pH偏向等电点,蛋白所带电荷减少,分子之间的静电斥力减小,因此乳化性下降。而随着色素质量分数继续增大,大米蛋白的溶解度提高,此时界面排斥力减小,有利于蛋白质分子扩散并吸附在油/水界面上,并最终使色素—蛋白二元体系的乳化性上升。

色素—蛋白二元复合体系的乳化稳定性与乳化性相似,加入蓝黑色素后,色素—蛋白复合体系的乳化稳定性有所上升。蛋白质分子在乳化体系中的稳定性取决于界面膜的稳定性,而蛋白的溶解度能显著影响界面膜的形成^[22]。加入色素后的二元复合体系的亲水性增强,溶解度增大,有助于界面膜流变性质的改善,从而改善了乳化稳定性。

3 结论

通过研究乌饭树树叶蓝黑色素对大米蛋白色度、结构特性和乳化特性的影响,发现乌米饭染色过程中蓝黑色素与大米蛋白会发生非共价结合,造成二级结构中的 α -螺旋和 β -折叠含量降低、 β -转角和无规卷曲含量增加,使大米蛋白结构发生伸展、变性,内部氢键遭到破坏迫使其实现无规卷曲变化,因此,色素—蛋白二元复合体系的乳化性质得到改善。随着色素质量分数的增加,色素—蛋白二元复合体系的持水性、起泡稳定性随色素质量分数升高呈先升高后下降趋势,起泡性、乳化性和乳化稳定性随色素质量分数升高呈先下降后升高趋势。后续将继续探讨蓝黑色素在染色过程中与大米蛋白的结合规律及其在加工食用过程中的变化规律。

参考文献

- [1] 王立, 练伟佳, 李言, 等. 乌饭树资源开发利用研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(17): 4 197-4 204.

- WANG L, LIAN W J, LI Y, et al. Study progress of exploitation and utilization of *Vaccinium bracteatum* resources [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2018, 49(17): 4 197-4 204.
- [2] WANG L, ZHANG X T, ZHANG H Y, et al. Effect of *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves extract on blood glucose and plasma lipid levels in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2010, 130(3): 465-469.
- [3] 屈晶, 陈霞, 牛长山, 等. 南烛化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(4): 684-688.
- QU J, CHEN X, NIU C S, et al. Chemical constituents from *Vaccinium bracteatum*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2014, 39(4): 684-688.
- [4] 顾文秀, 谢为明, 夏文水, 等. 超声波提取乌饭树叶色素及其稳定性研究[J]. 林产化学与工业, 2005, 25(4): 74-78.
- GU W X, XIE W M, XIA W S, et al. Ultrasonic extraction of pigment from leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2005, 25(4): 74-78.
- [5] 胡志杰, 蔡智慧. 微波辐射提取乌饭树叶黑色素工艺的研究[J]. 中国野生植物资源, 2007, 26(6): 52-54, 57.
- HU Z J, CAI Z H. Study on extraction technology of black pigment from *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaf under microwave radiation[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2007, 26(6): 52-54, 57.
- [6] 王立, 蒋甜燕, 张晖, 等. 酶法提取乌饭树叶黑色素及其稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2008(10): 224-226.
- WANG L, JIANG T Y, ZHANG H, et al. Study on extraction of black pigment from *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves by enzyme and its stability[J]. Science and Technology of Food Industry, 2008 (10): 224-226.
- [7] 周兆祥, 郭维华, 王伯钱. 乌饭树色素的研究[J]. 食品与发酵工业, 1989(6): 54-59.
- ZHOU Z X, GUO W H, WANG B Q. Study on the pigment of *Vaccinium bracteatum*[J]. Food and Fermentation Industries, 1989(6): 54-59.
- [8] 余清. 乌饭树叶中黄酮等有效成分分析及抗肿瘤作用研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2008: 2-9.
- YU Q. Studies on flavonoids effective components in *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves and function of anti-tumor[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2008: 2-9.
- [9] FAN M C, FAN Y H, HUANG W P, et al. Tentative characterization of precursor compounds and co-factors of pigment formation in production of 'Wu mi' from *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves[J]. Food Chemistry, 2018, 262: 199-205.
- [10] LIAN W J, FAN M C, LI T T, et al. A novel green synthesis approach for natural bluish-violet pigments derived from water extracts of *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves[J]. Industrial Crops and Products, 2019, 142: 111862.
- [11] FAN M C, LIAN W J, LI T T, et al. Characterization of promising natural blue pigment from *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves: Insights of the stability and the inhibition of α -amylase[J]. Food Chemistry, 2020, 326: 126962.
- [12] HU Z Y, QIU L, SUN Y, et al. Improvement of the solubility and emulsifying properties of rice bran protein by phosphorylation with sodium trimetaphosphate[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 96: 288-299.
- [13] AMAGLIANI L, O'REGAN J, KELLY A L, et al. The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 64: 1-12.
- [14] SEGURA-CARRETERO A, IVANOVI M, ARRÁEZ-ROMÁN D, et al. Enhanced and green extraction of bioactive compounds from *Lippia citriodora* by tailor-made natural deep eutectic solvents[J]. Food Research International, 2018, 111: 67-76.
- [15] 刘媚琪, 邱紫莹, 王冬萍, 等. 女贞子中 5 种环烯醚萜苷类成分的降解动力学研究[J]. 天津中医药大学学报, 2022, 41(2): 225-231.
- LIU M Q, QIU Z Y, WANG D P, et al. Degradation kinetics of five iridoid glycosides in *Ligustrum lucidum*[J]. Journal of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2022, 41(2): 225-231.
- [16] 高瑾, TARIRO-UPENYU M, 李志豪, 等. 丙二醛氧化对籽瓜种仁蛋白质结构及功能特性的影响[J]. 食品与机械, 2019, 35 (11): 17-21.
- GAO J, TARIRO-UPENYU M, LI Z H, et al. Effects of malondialdehyde oxidation on structure and functional properties of seeds-watermelon seed protein[J]. Food & Machinery, 2019, 35 (11): 17-21.
- [17] 孙小斐, 乔玉辉. 不同因素对白果蛋白持油性、持水性和起泡性的影响[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 17-20.
- SUN X F, QIAO Y H. Effect of different factors on oil-absorbing, water-holding and foaming capacities of ginkgo protein[J]. Food & Machinery, 2012, 28(3): 17-20.
- [18] SAAR-REISMAA P, KOEL M, TARZO R, et al. Extraction of bioactive compounds from *Dipsacus fullonum* leaves using deep eutectic solvents [J]. Journal of Chromatography A, 2022, 1 677: 463330.
- [19] WANG L, XU Y, ZHOU S M, et al. Interaction between *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaf pigment and rice proteins[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 272-278.
- [20] 潘敏尧. 大米浓缩蛋白的研制及性质改性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006: 46-52.
- PAN M Y. Studies on extraction of rice protein concentration and modification of rice protein[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006: 46-52.
- [21] 李维瑶, 何志勇, 熊幼翎, 等. 温度对于大豆分离蛋白起泡性的影响研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(2): 86-88.
- LI W Y, HE Z Y, XIONG Y L, et al. Effect of temperature on the foaming properties of bean protein isolate[J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(2): 86-88.
- [22] 张凯. 大米蛋白提取工艺优化、改性及理化性质的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2010: 46-49.
- ZHANG K. Study on extraction, modification of rice protein and its physical and chemical properties[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2010: 46-49.