

超声波辅助碱法提取黑木耳蛋白质及其性质研究

李福利¹, 张莉², 于国萍^{2*}

(1. 黑龙江省森林工程与环境研究所, 哈尔滨 150040; 2. 东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要: **目的** 研究黑木耳蛋白的结构和性质, 为黑木耳蛋白的应用提供一定的理论基础。 **方法** 以干黑木耳粉末为原料, 通过超声波辅助碱法提取黑木耳蛋白质。采用氨基酸分析仪和圆二色光谱仪测定黑木耳蛋白质中氨基酸和二级结构的含量。聚丙烯酰胺凝胶电泳和差示扫描量热仪测定黑木耳蛋白质的亚甲基分子量和热变性温度。 **结果** 最佳工艺条件为: 提取 pH 值 11.0, 超声时间 20 min, 超声功率 200 W, 此时提取率为 66.32%。确定了黑木耳蛋白质中氨基酸的总量达到 824.5 mg/g, 必需氨基酸可达到 361.0 mg/g; 黑木耳蛋白质的二级结构的含量为 α -螺旋 18.3%, β -折叠 40.4%, β -转角 14.0%, 无规则卷曲 27.3%; 黑木耳蛋白质亚基分子量的分布范围为 13.5 kDa~91.4 kDa, 主要有 9 个条带; 黑木耳蛋白质的热变性温度(92.91 °C)高于大豆蛋白质(74.57 °C和 90.52 °C)。 **结论** 黑木耳蛋白质是一种营养全面、热稳定性高的蛋白质。

关键词: 黑木耳; 蛋白质; 超声波辅助; 碱法提取; 基本性质

Ultrasonic-assisted alkaline extraction and properties of *Auricularia auricular* protein

LI Fu-Li¹, ZHANG Li², YU Guo-Ping^{2*}

(1. Forest Engineering and Environmental Research Institute of Heilongjiang Province, Harbin 150040, China;
2. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

ABSTRACT: Objective The structure and property of *Auricularia auricular* protein were investigated preliminarily to provide a theoretical basis for the application. **Methods** The dried *Auricularia auricular* powder was used as the raw material. *Auricularia auricular* protein was extracted by ultrasonic assisted alkali distillation. Amino acids and secondary structure of the *Auricularia auricular* protein were detected by amino acid analyzer and circular dichroism spectrometer. Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and differential scanning calorimetry (DSC) were applied to detect methylene molecular weight and thermal denaturation temperature. **Results** The orthogonal experiment results showed that: pH was 11.0, ultrasonic time was 20 min, and ultrasonic power was 200 W. Under these best conditions, the extraction rate of *Auricularia auricular* protein could reach to 66.32%. The results showed that amino acids content contained in *Auricularia auricular* protein was 824.5 mg/g, essential amino acids were 361.0 mg/g. The content of secondary structure of *Auricularia auricular* protein was: α -helix 18.3%, β -folding 40.4%, β -corner 14.0%, and random coil 27.3%. The molecular weight of its subunits were mainly 9 bands and its range was 13.5 kDa~91.4 kDa. The thermal denaturation temperature of *Auricularia auricular* protein (92.91 °C) was higher than that of

基金项目: 黑龙江省应用技术与开发计划项目(GA13B202-7)

Fund: Supported by Applied Technology Research and Development Program Project of Heilongjiang Province (GA13B202-7)

*通讯作者: 于国萍, 博士, 教授, 主要研究方向农产品精深加工。E-mail: Yuguopingneau@hotmail.com

*Corresponding author: YU Guo-Ping, Ph.D, Professor, College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China. E-mail: Yuguopingneau@hotmail.com

soy protein (74.57 °C and 90.52 °C). **Conclusion** *Auricularia auricular* protein is a kind of comprehensive and high thermal stability protein.

KEY WORDS: *Auricularia auricular*; protein; ultrasonic-assisted; alkaline extraction; properties

1 引 言

黑木耳是一种药食兼用的真菌。具有延缓衰老, 增强机体免疫力, 以及预防癌症发生等功效^[1]。因其独特的感官特性、富含营养成分, 大多数被用做蔬菜进行烹饪处理。以黑龙江帽儿山产黑木耳为例, 其主要成分是: 蛋白质 9.4%, 脂肪 1.2%, 碳水化合物 65.5%, 每 100 克黑木耳含钙、磷各 210 mg, 含铁 101 mg。此外, 还含有钾、钠、维生素 B 族和胡萝卜素等多种人体必需的营养成分。在东亚地区, 尤其是在中国和韩国, 黑木耳已被广泛称为健康食品^[2]。同时, 以黑木耳为主要原材料的产品也相继问世^[3]。例如: 黑木耳苹果醋、黑木耳明胶软糖、黑木耳饮料等。

较早对黑木耳的研究多集中于对多糖的提取及其性质功效的开发^[4]。经研究表明, 多糖被确定为主要的活性成分并具有一些生物学功能。例如: 抗氧化^[5]、抗肿瘤、免疫生物活性等。而对黑木耳中蛋白质的研究较少。张桂英等^[6]对黑木耳超微粉蛋白质的营养价值进行了研究, 结果表明黑木耳的高纤维含量将成为控制体重、预防心血管疾病的有效保证。郝文芳^[7]对黑木耳中的胶原蛋白的提取和质构特性进行了研究。黑木耳以其蛋白质含量高, 脂肪热量低等优势, 成为植物蛋白质开发的新资源。

目前, 蛋白质的提取方法有碱法提取^[8]、酶辅助提取^[9]、微波辅助提取^[10]、超声波辅助提取^[11]等很多种。本研究采用了超声波辅助碱法提取黑木耳中的蛋白质组分。一方面借助超声波产生的“空穴”作用, 提供了较大的穿透力, 同时, 也破坏了细胞壁使细胞内的目标物质更容易渗透出来, 利于提高蛋白质的提取率^[12]。

在一些条件下, 蛋白质分子内部的次级键会断裂, 固有的立体结构会展开, 而得到的蛋白质分子将会聚集并相互交联, 形成较大的聚集体, 当浓度较高时, 将会形成一个三维的立体的固相网状结构, 如凝胶。因此, 在半固体食品中, 蛋白质可以作为主要的添加物来进一步改善食品的机械性能。在液体食品中, 蛋白质也可起到表面活性的作用, 在液体中稳定颗粒状物质和油滴, 提高乳化液的稳定性^[13]。蛋白质分

子在油-水界面可以降低表面张力, 使该物质具有较好的热稳定性, 延长其货架期。蛋白质在食品中的应用较为广泛, 本研究结果为提高黑木耳深度开发利用提供一定的理论基础。

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

原料: 黑木耳, 市购, 产于黑龙江省。

试剂: 过硫酸铵, 天津市天力化学试剂厂; 甲醇, 天津科密欧化学试剂有限公司; 乙二醇四乙酸, 天津科密欧化学试剂有限公司; 冰乙酸, 国药集团化学试剂有限公司; 高分子量标准蛋白样品, 上海生化研究所; 甘氨酸, Amersco 公司; 考马斯亮蓝 R250, Amersco 公司; 丙烯酰胺, Amersco 公司; β -巯基乙醇, Amersco 公司; SDS, Sigma 公司; Tris, Sigma 公司; TEMED, Sigma 公司; 甲叉双丙烯酰胺, Solarbio 公司; 以上试剂均为分析纯。

设备: LD4-2A 型低速台式离心机, 北京京立离心机有限公司; HJ-3 型恒温磁力搅拌器, 江苏金坛市中大仪器厂; GL-20G-II 型高速冷冻离心机, 上海安亭科学仪器厂; PHS-3C 型 pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司; HYP-314 型消化炉, 上海纤检仪器有限公司; KDN-102C 型凯氏定氮仪, 上海纤检仪器有限公司; KQ-400KDE 型高功率数控超声波清洗器, 昆山超声仪器有限公司; PE Pyris 6 差示扫描量热仪, 美国 PULUS TA.XT; 电泳仪, 美国 Bio-RAD 公司; L-8800 型全自动氨基酸分析仪, 日本日立公司; J-815 圆二色光谱仪, Jasco 公司。

2.2 实验方法

2.2.1 黑木耳蛋白质的提取

(1) 样品处理

将干木耳进行粉碎后, 过 80 目筛, 得木耳粉。装袋并贮存于 4 °C 冰箱中备用。

(2) 蛋白质提取工艺流程

干黑木耳 → 粉碎 → 过筛 → 调 pH 值 → 超声浸提 → 离心分离 → 上清液测蛋白含量

(3) 操作要点

准确称取黑木耳粉末 2.000 g(凯氏定氮法测得黑木耳中总蛋白质的含量为 11.94 ± 0.12 g/100 g 黑木耳粉末), 按料液比为 1:90($m:V$)的比例与 180 mL 蒸馏水混合。用 0.1 mol/L 的 NaOH 和 0.1 mol/L 的 HCl 溶液调体系的 pH 值, 在 35 °C 的温度下, 在一定的超声功率的条件下超声提取一段时间, 超声处理后, 在 4000 r/min 下离心 10 min, 收集上清液并测量体积, 同时吸取一定量进行凯氏定氮, 从而计算蛋白质的提取率。

(4) 蛋白质含量的测定

按照凯氏定氮法测定, 蛋白质的换算系数为 6.25(GB/T 15673-2009 食用菌中粗蛋白含量的测定)。

(5) 黑木耳蛋白质提取率的计算

$$X = \frac{m_1}{m} \times 100\%$$

其中, X : 黑木耳蛋白质提取率(%)

m_1 : 上清液中蛋白质含量(g)

m : 蛋白质总含量(g)

(6) 黑木耳蛋白质提取的正交优化试验

在前期单因素试验的基础上, 选取提取 pH 值, 超声时间, 超声功率三个因素及适宜的水平值, 设计了 3 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 的正交试验, 以优化蛋白质的提取条件。

表 1 因素水平表
Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A 超声体系 pH	B 超声时间/min	C 超声功率/W
1	10.0	10	200
2	10.5	20	240
3	11.0	30	280

2.2.2 黑木耳蛋白质等电点的测定

准确称取 20.00 g 黑木耳粉末, 按照 1:90 的比例加入 1800 mL 的蒸馏水, 搅拌均匀, 用浓度为 0.5 mol/L NaOH 溶液调节混合物的 pH 为 10.5, 在恒温条件下浸提 2 h 后, 进行离心分离, 在 4000 r/min 的条件下离心处理 30 min, 收集上层清液, 混匀。取收集的上层清液至烧杯中, 用不同浓度的 HCl 溶液和 NaOH 溶液将 pH 分别调至 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 平行 3 次, 于 4 °C 冰箱中冷沉 24 h 后, 吸取下层的沉淀进行定氮, 测定蛋白质的含量。

2.2.3 黑木耳蛋白质性质的测定

(1) 黑木耳蛋白质氨基酸组成的测定

方法参照文献^[14], 借助氨基酸分析仪来检测黑木耳蛋白质中氨基酸的种类及各种氨基酸的含量。

(2) 黑木耳蛋白质二级结构的测定

取浓度为 1% 的黑木耳蛋白质溶液, 用 pH 为 7.0 的磷酸盐缓冲溶液将其浓度稀释为 0.03% 左右, 取微量样品注入样品池中, 利用圆二色光谱仪测定黑木耳蛋白质的二级结构组成及各组成的含量。所使用的参数如下: 样品池的光径是 1 mm, 波长范围为 190~260 nm, 扫描速度为 100 nm/min, 步长 0.1 nm, 温度为 25 °C 条件下进行扫描分析^[15]。

(3) 黑木耳蛋白质亚基分子量的测定

参照 Laemmli^[16]的方法并略作修改。采用聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)测定黑木耳蛋白质中亚基的分子量。试验中所配制的分离胶和浓缩胶的浓度分别为 12%($W:V$)和 5%($W:V$)。黑木耳蛋白质样品溶液浓度为 0.045%。样品在浓缩胶时的电压调为 60 V, 进入分离胶时, 电压调为 90V 直到电泳完成。

(4) 黑木耳蛋白质热变性温度的测定

参照文献^[17], 借助差示扫描量热(DSC)仪测定黑木耳蛋白质的热变性温度。称样量为 0.005 g 黑木耳蛋白质溶液, 设定系统参数: 温度范围为 20 °C~130 °C, 速度为 10 °C/min。

2.3 数据统计分析

使用 IBM SPSS Statistics 19.0 软件分析数据。采用 Duncan 检验进行方差分析; 使用 Excel 绘制图表, 用字母标注显著性, 同字母表示不显著, 不同字母表示显著($P < 0.05$), $n=3$ 。

3 结果与分析

3.1 超声波辅助碱法提取黑木耳蛋白质

在固定料液比为 1:90, 超声处理的温度为 35 °C 的条件下, 由表 3 中的极差直观分析结果显示, 所选的三个因素对黑木耳蛋白质提取率的影响顺序依次为: $A > B > C$, 即: pH > 超声时间 > 超声功率。同时根据 K 值的大小, 可以得到提取黑木耳蛋白质的理想组合为 $A_3B_2C_1$, 即 pH 为 11.0, 超声时间为 20 min, 超声功率为 200 W。此时, 黑木耳蛋白质的提取率可以达到 66.32%, 高于前期试验碱法提取的 64.80%, 同时将提取时间由原来的 2 h 减小为 20min。

表 2 结果分析表
Table 2 The results and analysis

序号 No.	A 超声体系 pH	B 超声时间/min	C 超声功率/W	D 空列	蛋白质提取率(%)
1	1(10.0)	1(10)	1(200)	1	54.65
2	1(10.0)	2(20)	2(240)	2	55.14
3	1(10.0)	3(30)	3(280)	3	55.72
4	2(10.5)	1(10)	2(240)	3	56.72
5	2(10.5)	2(20)	3(280)	1	62.10
6	2(10.5)	3(30)	1(200)	2	59.64
7	3(11.0)	1(10)	3(280)	2	62.21
8	3(11.0)	2(20)	1(200)	3	66.32
9	3(11.0)	3(30)	2(240)	1	62.17

表 3 极差分析表
Table 3 The range value analysis

序号 No.	A 超声体系 pH	B 超声时间/min	C 超声功率/W	D 空列
K ₁	165.51	173.58	180.61	178.92
K ₂	178.46	183.56	174.03	176.99
K ₃	190.70	177.53	180.03	178.76
k ₁	55.17	57.86	60.20	59.64
k ₂	59.49	61.19	58.01	59.00
k ₃	63.57	59.18	60.01	59.59
极差 R	8.40	3.33	2.19	0.64

表 4 方差分析表
Table 4 Analysis of variance table

因素	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
提取 pH	105.784	2	52.892	138.312	显著
超声时间	16.840	2	8.420	22.019	显著
超声功率	8.848	2	4.424	11.569	不显著
误差	0.765	2	0.382		

由表 4 所示, 进行的方差分析可以得出, pH 和超声时间对超声波辅助提取黑木耳中蛋白质的影响显著, 而超声功率则影响不显著。

3.2 黑木耳蛋白质等电点的测定结果

测定结果如图 1 所示。

由图 1 可知, 黑木耳蛋白质溶液在不同 pH 条件下所呈现的沉淀曲线中具有一个明显的波峰, 这一现象说明黑木耳蛋白质具有一个等电点。由图可以看出, 当溶液的 pH 为 3.0 时, 其下层所含的蛋白质最多,

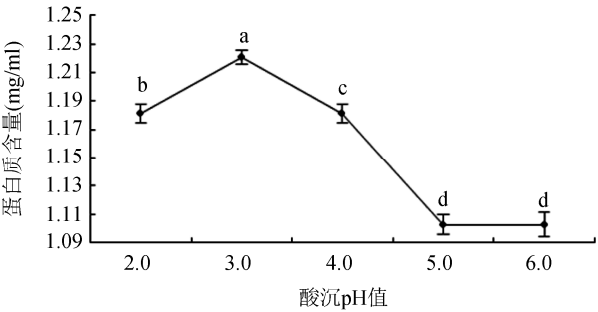


图 1 蛋白质含量随 pH 变化曲线
Fig. 1 Protein content change curve with pH

可达 1.221%。但随着 pH 的不断变小或增大, 下层沉淀中的黑木耳蛋白质的含量都有所下降, 这一现象说明黑木耳蛋白质的等电点在 pH 为 3.0 左右。

3.3 黑木耳蛋白质性质的研究

3.3.1 黑木耳蛋白质氨基酸的测定结果

蛋白质能为人类的生存和发展提供必需的营养物质, 蛋白质中所含的氨基酸组分能为人体细胞组织提供所需的营养元素。而蛋白质的含量和营养质量则是决定其对人体提供营养价值的决定性因素, 而其所含的氨基酸的组成以及各自的含量决定了该种蛋白质的质量。

黑木耳中蛋白质的各种氨基酸的组成和各自的含量的测定结果如表 5 所示:

表 5 黑木耳蛋白质冻干粉的氨基酸组成
Table 5 Amino acid composition of *Auricularia auricular* protein powder (freeze-dried)

种类	含量(mg/g)
天门冬氨酸	80.0
苏氨酸*	45.0
丝氨酸	43.0
谷氨酸	101.5
甘氨酸	42.0
丙氨酸	65.5
•胱氨酸*	6.5
缬氨酸*	55.5
•蛋氨酸*	50.0
异亮氨酸*	33.0
亮氨酸*	71.0
酪氨酸	24.5
苯丙氨酸*	51.0
赖氨酸*	49.0
组氨酸	22.0
精氨酸	46.5
脯氨酸	38.5
•含硫氨基酸	56.5
芳香族氨基酸	75.5
必需氨基酸*	361.0
氨基酸总量	824.5

注: 表中带“•”表示含硫氨基酸, 带“※”表示芳香族氨基酸, 带“*”表示必需氨基酸。

由表 5 可以看出, 经过氨基酸自动分析仪可检测出来的黑木耳蛋白质中所含的各种氨基酸及其相对含量, 其中具有健脑益智^[18]的谷氨酸含量最高达到 101.5 mg/g, 它能够促进红细胞生成, 具有改善脑细胞和活跃思维的作用, 还可以用来治疗间接性的神经衰弱和阶段性的记忆力减退^[19]。天门冬氨酸次之。经过分类计算可得, 其中所含的含硫氨基酸含量为 56.5 mg/g, 芳香族氨基酸的含量为 75.5 mg/g, 必需氨基酸的含量为 361.0mg/g。所含的氨基酸的总量可高达 824.5 mg/g。另外, 黑木耳蛋白质所含的谷氨酸和天门冬氨酸的含量相对较高, 为主要氨基酸。而且从表中可以看出, 黑木耳蛋白质中含有人体必需的 8 种必需氨基酸。所以, 黑木耳所含的氨基酸种类齐全, 含量较高, 具有较高的营养价值。

3.3.2 黑木耳蛋白质二级结构的测定结果

圆二色光谱法是分析蛋白质二级结构较为常见的方法^[20], 在室温下进行, 当酸碱度为中性(pH=7.0)的条件下, 测定得到的用来表征黑木耳蛋白质中二级结构的圆二色光谱分析图如图 2 所示。

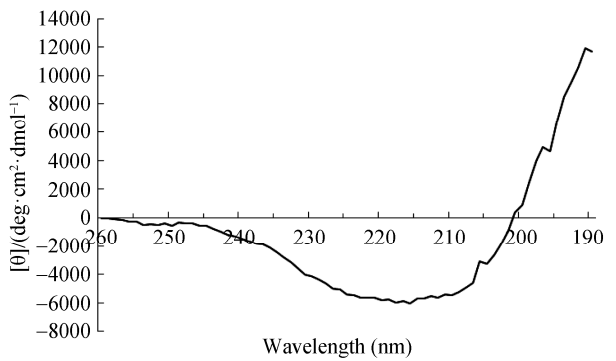


图 2 黑木耳蛋白质的光谱图
Fig. 2 Circular dichroic spectra of *Auricularia auricular* protein

由图 2 所示, 黑木耳蛋白质在 190 nm 左右出现一个较为明显的正向峰谱, 这表明蛋白质样品中含有 α -螺旋结构, 同时, 在 208 nm 和 222 nm 左右处都出现负向峰谱, 这一现象又证明了黑木耳蛋白质中含有 α -螺旋结构。在 185 nm~200 nm 之间存在两个正向的峰谱, 这说明在这一波长范围内, 黑木耳蛋白质内部的 α -螺旋和 β -折叠两种结构的特征峰发生部分重合^[21], 证实了样品中同时含有两种二级结构。另外, 在波长为 206 nm 处出现正向峰谱, 说明含有 β -转角。在 200 nm 左右出现负向峰谱, 证明含有无规

则卷曲结构^[22]。由此可见在黑木耳蛋白质中同时含有4种类型的二级结构组分,即: α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲。利用CDpro软件分析可知组成分别为: α -螺旋 18.3%, β -折叠 40.4%, β -转角 14.0%, 无规则卷曲 27.3%。

3.3.3 黑木耳蛋白质亚基分子量的测定结果

SDS-PAGE 凝胶电泳法是测定蛋白质亚基的一种常见方法,在室温条件下进行,选用高分子量的蛋白质标准品做对照,在待测定的黑木耳蛋白质样品中添加了 β -巯基乙醇。经过电泳得到的用来显示黑木耳蛋白质中亚基分子量分布的电泳图如图3所示。

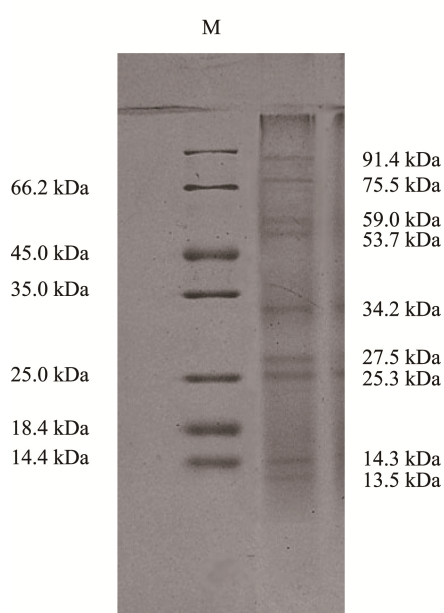


图3 黑木耳蛋白质电泳图

Fig. 3 Pattern of protein of *Auricularia auricular*

黑木耳蛋白质各亚基分子质量的分布情况如图3所示,由SDS-PAGE凝胶电泳图谱可知,所用的黑木耳蛋白质样品中所含蛋白质亚基的分子量主要显示有9个条带,根据计算可得各条带的分子量分别为91.4 kDa、75.5 kDa、59.0 kDa、53.7 kDa、34.2 kDa、27.5 kDa、25.3 kDa、14.3 kDa和13.5 kDa。由图可见,高分子量的条带(91.4 kDa、75.5 kDa)不是十分清晰,含量较少。而分子量为34.2 kDa、27.5 kDa和25.3 kDa的条带较为清晰,且颜色较深,说明黑木耳蛋白质中所含的这一分子量范围的亚基含量较多,所占的比例较大。

3.3.4 黑木耳蛋白质热变性温度的测定结果分析

热变性温度是影响食品在加工过程中蛋白质变

化的一个重要参考指标,由于蛋白质的变性反应会直接导致蛋白质中的构象变化,其高级结构的展开,致使部分加工的食品的功能性质显著降低或者丧失。因此,测定食品中所含的蛋白质的热变性温度则对于蛋白质的应用产生重要的指导作用。差示扫描量热法(DSC)是测定蛋白质热变性温度的重要手段,可以通过测定得到的扫描图谱来提供一些有关蛋白质热变性的信息,近年来一直被广泛地应用在研究生物大分子等方面。黑木耳蛋白质和大豆蛋白质的热变性温度的测定结果如图4所示:

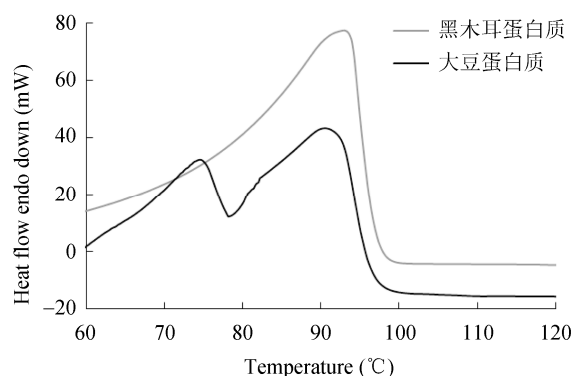


图4 黑木耳蛋白质和大豆蛋白质的 DSC 图

Fig. 4 The DSC of *Auricularia auricular* protein and soybean protein

当蛋白质在受热的条件下,蛋白质自身内部所含有的氢键会发生一定程度的断裂,进而致使蛋白质分子的结构发生展开,这一过程的发生需要吸收能量,并在这一变化过程中的其他性质和能量的变化,也可以被广泛用在研究各种蛋白质变性的 DSC 扫描^[23]记录下来,黑木耳蛋白质和大豆蛋白质的 DSC 扫描结果图如图7所示,黑木耳蛋白质只具有一个变性温度,而大豆蛋白质则具有两个变性温度,这可能是由于自身结构所引起的。由图4可以看出,黑木耳蛋白质的热变性温度为92.91 °C,大豆蛋白质的热变性温度分别为74.57 °C和90.52 °C^[24]。表明黑木耳蛋白质是一种营养全面、热稳定性高的蛋白质。

4 结 论

超声波辅助碱法提取黑木耳蛋白质的工艺条件为: pH 为 11.0, 超声时间为 20 min, 超声功率为 200 W, 此时, 提取率为 66.32%。其等电点在 pH 3.0 左右。

黑木耳蛋白质中氨基酸总量为 824.5 mg/g, 必需

氨基酸的含量为 361.0 mg/g; 二级结构的含量分别为 α -螺旋 18.3%, β -折叠 40.4%, β -转角 14.0%, 无规则卷曲 27.3%; 亚基主要由 9 个条带组成, 分子量集中在 13.5 kDa 到 91.4 kDa 之间, 其中分子量为 34.2 kDa、27.5 kDa 和 25.3 kDa 的组分含量较多; 热变性温度为 92.91 °C。

参考文献

- [1] 李兴泰, 高明波. 黑木耳多糖清除活性氧及保护线粒体[J]. 食品科学, 2004, 25(1): 171-173.
Li XT, Gao MB. Effects of *Auricularia auricular* polysaccharide on scavenging reactive oxygen species and protecting mitochondria [J]. Food Sci, 2004, 25(1): 171-173.
- [2] Luo YC, Chen G. Evaluation of antioxidative and hypolipidemic properties of a novel functional diet formulation of *Auricularia auricular* and Hawthorn [J]. Innov Food Sci Emerg, 2009, 10(2): 215-221.
- [3] Fan L, Zhang S. Evaluation of antioxidant property and quality of breads containing *Auricularia auricular* polysaccharide flour [J]. Food Chem, 2006, 101(3): 1158-1163.
- [4] Wu Q, Tan ZP, Liu HD, et al. Chemical characterization of *Auricularia auricular* polysaccharides and its pharmacological effect on heart antioxidant enzyme activities and left ventricular function in aged mice [J]. Int J Biol Macromol, 2010, 46(3): 284-288.
- [5] Zeng WC, Zhang Z, Gao H, et al. Characterization of antioxidant polysaccharides from *Auricularia auricular* using microwave assisted extraction [J]. Carbohydr Polym, 2012, 89(2): 694-700.
- [6] 张桂英, 赵林伊, 刘娅, 等. 黑木耳超微粉蛋白质的营养价值研究[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2005, 31(2): 220-222.
Zhang GY, Zhao LY, Liu Y, et al. Study on nutritional value of *Auricularia auricular* [J]. J Jilin University: Med Sci, 2005, 31(2): 220-222.
- [7] 郝文芳. 黑木耳胶原蛋白的分离提取及其功能特性的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2008.
Hao WF. Study on the extraction and functional characteristic of collagen from *Auricularia auricular* [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2008.
- [8] 徐向英, 王岸娜, 林伟静, 等. 响应面法优化燕麦全粉中蛋白质提取工艺[J]. 食品与机械, 2011, (5): 96-99.
Xu XY, Wang AN, Lin WJ, et al. Optimaization of protein extraction technology from whole oat flour by response surface methodology [J]. Food Mach, 2011, 5(5): 96-99.
- [9] Yessie W, Marieke E, Johan PM. Enzyme assisted protein extraction from rapeseed, soybean, and microalgae meals [J]. Ind Crops Prod, 2013, 43: 78-83.
- [10] 杨志伟, 王珏, 揭雅娇, 等. 微波辅助提取杜仲翅果籽粕蛋白的工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, (1): 205-208.
Yang ZW, Wang J, Jie YJ, et al. Optimaizing on microwaves-assisted extraction technology of protein from *Eucommia* key-fruit seed dregs [J]. Food Mach, 2014, (1): 205-208.
- [11] 谢姣. 超声波辅助碱法提取红橘种子蛋白质的研究[J]. 山东食品发酵, 2012, (2): 17-20.
Xie J. Study of uiltrasonnd-assisted ailkaline protein extraction from tangerine seed [J]. Shandong Food Ferment, 2012, (2): 17-20.
- [12] Patist A, Bates D. Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production [J]. Innov Food Sci Emerg, 2008, 9(2): 147-154.
- [13] Phillips LG, Whitehead DM, Kinsella J. Strecture-function properties of food proteins [M]. Chapter 6. Academic Press San Diego, 1994.
- [14] GB/T 5009.124-2003 食品中氨基酸的测定[S].
GB/T 5009.124-2003 The determination of amino acids in the food [S].
- [15] 吕鉴泉, 王雪梅, 吕桂英, 等. 圆二色光谱法研究酸度、槲皮素、锌离子对 β -酪蛋白二级结构的影响[J]. 化学学报, 2010, 68(14): 1449-1453.
Lv JQ, Wang XM, Lv GY, et al. Effect of pH, quercetin and zinc lon on the structure of β -Casein by circular dichroism method [J]. Acta Chim Sin, 2010, 68(14): 1449-1453.
- [16] Laemmlli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacterio phage T4 [J]. Nature, 1970, 227(5259): 680-685.
- [17] Lee HC, Htoon AK, Uthaykumaran S, et al. Chemical and functional quality of protein isolated from alkaline extraction of Australian lentil cultivars: Mztilda and Digger [J]. Food Chem, 2007, 102(4): 1199-1207.
- [18] Steven TKH, Wilkins CL. Analysis of antimycinA by reserved phase liquid chromatography/nuclear magnetic resonance spectrometry [J]. Anal Chem, 1990, 61(5): 404-408.
- [19] 吴启南, 王立新, 吴德康, 等. 合子草中氨基酸及无机元素成分分析[J]. 时珍国药研究, 1996, 7(4): 204-205.
Wu QN, Wang LX, Wu KD, et al. The composition analysis of amino acids and inorganic elements in zygote grass [J]. Shizhen Drug Res, 1996, 7(4): 204-205.
- [20] Zhu KX, Sun XH, Chen ZC, et al. Comparison of functional

- properties and secondary structures of defatted wheat germ proteins separated by reverse micelles and alkaline extraction and isoelectric precipitation [J]. Food Chem, 2010, 123(4): 1163–1169.
- [21] Hu HY, Xu GJ. Structural transformation of proteins [J]. Progress Biochem Biophy, 1999, 26(1): 9–12.
- [22] 刘微, 王辰元, 张婉舒, 等. 人乳 β -酪蛋白单体二级结构及胶束微观结构的研究[J]. 中国乳品工业, 2014, 42(10): 4–6.
- Liu W, Wang CY, Zhang WS, *et al.* Micro-structure study of native β -casein micelles from human milk [J]. China Dairy Ind, 2014, 42(10): 4–6.
- [23] 王文高, 陈正行, 姚惠源. 不同干燥方法对大米蛋白质功能性的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2002, (5): 44.
- Wang WG, Chen ZX, Yao HY. The influence of different drying methods of rice protein functional properties [J]. Cereal Feed Ind, 2002, (5): 44.
- [24] 田少君, 孟永成, 刘振海, 等. 大豆分离蛋白的超滤制备及其

功能特[J]. 粮油加工与食品机械, 2004, (12): 47.

Tian SJ, Meng YC, Liu ZH, *et al.* The preparation of soy protein isolate by ultrafiltration and its functional properties [J]. Grain Oil Process Food Mach, 2004, (12): 47.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



李福利, 助理研究员, 主要研究方向为林产品加工。

E-mail: 601681285@qq.com



于国萍, 博士, 教授, 主要研究方向农产品精深加工。

E-mail: Yuguopingneau@hotmail.com