

李云亮, 周安奇, 阮思煜, 等. 酶促类蛋白反应的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(22): 454–462. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120083

LI Yunliang, ZHOU Anqi, RUAN Siyu, et al. Research Progress of Enzyme Catalyzed Plastein Reactions[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(22): 454–462. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120083

· 专题综述 ·

酶促类蛋白反应的研究进展

李云亮, 周安奇, 阮思煜, 马海乐*

(江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

摘要:酶促类蛋白反应是指将浓缩的蛋白水解物, 在适宜的条件下, 经蛋白酶催化成蛋白质类似物的过程。酶促类蛋白反应不仅可以弥补天然蛋白质在氨基酸组成上的缺陷, 提高蛋白质功能性, 改善蛋白水解物的风味, 为科研和生产提供新的蛋白质来源, 而且利用该方法获得的产品生物利用率高, 无毒副作用, 所以受到了科学界的广泛关注并逐渐被应用到食品工业之中。本文综述了酶促类蛋白反应的机理、影响因素、产物特性及其在食品领域的应用, 以期食品品质的改善提供新的方法, 为新型食品的开发提供新的途径。

关键词:酶促类蛋白反应, 脱苦, 生物效价, 功能性质, 新蛋白来源

中图分类号: TS209

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)22-0454-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120083



本文网刊:

Research Progress of Enzyme Catalyzed Plastein Reactions

LI Yunliang, ZHOU Anqi, RUAN Siyu, MA Haile*

(School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: Enzyme catalyzed plastein reactions refer to the process of catalyzing concentrated protein hydrolysate into protein analogues by protease under suitable conditions. Enzyme catalyzed plastein reactions can not only make up for the defects of natural protein in the amino acid composition, improve protein functionality and the flavor of protein hydrolysates, and provide new protein sources for scientific research and production, but also the products obtained by this method have high bioavailability, and no side effects, so it has received extensive attention from the scientific community and has been gradually applied to the food industry. This article introduces the mechanism, influencing factors, product characteristics and applications of enzyme catalyzed plastein reactions in the food field, in order to provide new methods for the improvement of food quality and new ways for the development of new foods.

Key words: enzyme catalyzed plastein reactions; debittering; biological potency; functional properties; new protein sources

类蛋白是指氨基酸单体或其衍生物通过酰胺键连接形成类似天然蛋白质结构的聚氨基酸^[1], 可通过直接热聚合^[2]、氨基酸开环聚合法^[3]等方法合成。在食品科学领域中, 类蛋白可通过酶促类蛋白反应 (Enzyme catalyzed plastein reactions, ECPC) 形成。ECPC 具体指在适宜的条件下, 将浓缩的蛋白水解物在蛋白酶的作用下形成凝胶状蛋白类物质的过程, 可被认为是蛋白质水解过程的逆反应。ECPC 的反应过程分为三步: a. 水解反应, 用酸或者蛋白酶在合适

pH 下对底物蛋白质进行水解; b. 浓缩, 利用减压蒸馏、喷雾干燥等方式将水解后的产物进行浓缩; c. 合成反应, 将浓缩物, 或者其他原料来源的氨基酸加入, 并用蛋白酶催化反应^[4-6]。

国外对 ECPC 的研究开展的比较早, 对其反应机制、影响条件及应用等有很多报道^[7]。近些年, 国内对于 ECPC 的研究也越来越多, 该反应已经被应用于大豆蛋白^[8]、乳蛋白^[9]、鱼酶促类蛋白^[10]等改性蛋白生产中, 取得了良好效果。ECPC 不仅弥补了

收稿日期: 2021-12-08

基金项目: 国家自然科学基金 (31872892); 国家自然科学基金 (31701538)。

作者简介: 李云亮 (1986-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品物理加工设备设计、加工过程及机制研究, 多肽类生物功能活性物质开发及制备研究, 农产品副产品/废弃物的高值化深加工利用, E-mail: liyunliang@ujs.edu.cn。

* 通信作者: 马海乐 (1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品物理加工技术, 食品生物制造 (酶解、发酵、提取), 农产品初加工 (清洗、干燥、杀菌), 加工装备及其智能化, E-mail: mhl@ujs.edu.cn。

天然蛋白的氨基酸组成结构缺陷,提高了蛋白质功能性,还改善了蛋白水解物的风味,为食品行业提供了新的蛋白质来源。

鉴于 ECPC 的营养性、功能性和安全性等优点所体现出来的广阔前景,本文主要概述了 ECPC 发生的机理,讨论了影响反应的主要因素和反应产物的特性,并总结了该反应的部分用途,为更好地了解和利用该反应提供理论依据。

1 ECPC 反应机理

ECPC 作为蛋白酶解反应的逆反应,有关其主导机制一直存在很大争议,目前主流的 ECPC 反应机制包括:物理聚合作用、缩合反应和转肽作用,其中缩合反应和转肽作用涉及到新肽键的生成,即蛋白质水解物通过类蛋白反应能生成原料蛋白质中没有的新肽段,具有很大研究价值。

物理聚合作用:1976 年,Michiko 等^[11]提出,疏水基之间相互作用是 ECPC 发生的主要原因。上世纪 90 年代初,Andrews 等^[12]使用衍生自酪蛋白的肽作为底物,研究了类蛋白合成反应的各个方面,证明该反应是一个纯粹的熵驱动的物理聚集过程,物理键的疏水作用是整个酶促反应的关键步骤。曲玲玲^[13]用扫描电镜和原子力显微镜观测到 ECPC 过程中大豆蛋白-酪蛋白复合物的形貌及尺寸均发生变化,认为疏水相互作用在大豆多肽和酪蛋白非磷酸肽的结合中起到了至关重要的作用。梁雪^[14]也发现在 ECPC 过程中有疏水相互作用和氢键的参与。物理聚合作用主要涉及蛋白质高级结构的变化,但是形成的相互作用力比较弱。此外,物理聚合作用导致疏水性增加,从而更易将反应产物从反应中分离出来。

缩合和转肽作用:有研究者认为,合成类蛋白反应是单纯的动力学驱使的蛋白质水解反应的逆反应,通过酶催化多肽和氨基酸底物再次发生缩合作用,转化成新的蛋白质或分子量较大的聚合肽。这一作用在加入端基封闭氨基酸的试验中得到验证,另外封闭肽的氨基比羧基对类蛋白的合成影响更大^[15],然而也

有研究表明封闭肽的氨基和羧基末端只会稍微降低类蛋白的产量^[9]。这表明,缩合作用在不同类蛋白反应中贡献不一样,也可能还有其他机制^[16]。彭新颜等^[7]认为 ECPC 实际上就是一种转肽过程,肽键断裂和形成的过程导致氨基酸残基重排。在类蛋白反应过程中,肽分子通过转肽的作用,将疏水性氨基酸转化为疏水性多肽,并逐渐形成不溶于水的类蛋白产物^[14]。赵谋明^[6]认为,ECPC 仅仅是由浓缩反应形成新的肽键或转肽作用产生是不恰当的,要证明是哪一种机制占主导地位需要分析产物的平均分子量是否增加,以及生成的不溶性物质是否与分子量的增加有关。缩合和转肽作用主要涉及的是多肽分子一级结构的变化,可通过分子标记来监测具体是哪种作用在起作用。

ECPC 机制复杂,同一个反应中多种机制相互作用,要明确具体哪一种机制在反应中起主要作用仍需进一步深入研究。随着科技的革新和进步,核磁共振、质谱、高效液相色谱等分析技术可以进一步帮助解析其机理。

2 影响 ECPC 条件

影响 ECPC 的因素很多,如酶的种类、底物浓度、反应温度、反应 pH 等,选择适宜的反应条件、控制水解反应将更有利于 ECPC 的进行,部分学者通过研究该反应总结出来的最适反应条件如表 1 所示。

2.1 酶的种类

酶是影响 ECPC 至关重要的因素。酶的种类有很多,通常选用内切蛋白酶,如胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶等来进行 ECPC,而较少选择外切蛋白酶^[26],这是因为工业上采用的水解酶通常为内切酶。不同类型原料进行 ECPC 所适用的蛋白酶有所不同。Li 等^[27]在研究碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶对猪血红蛋白和肉蛋白水解物形成类蛋白反应的影响时,发现碱性蛋白酶比木瓜蛋白酶可以诱导更多的肽经过疏水相互作用聚集。周丽杰^[28]通过对比胃蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶和中性蛋白酶催化获得的类

表 1 ECPE 反应条件
Table 1 Reaction condition of ECPC

底物	反应用酶		pH		温度(℃)	
	水解用酶	合成用酶	水解	合成	水解	合成
大豆蛋白-燕麦蛋白 ^[17]	胰蛋白酶、碱性蛋白酶	胃蛋白酶	9.0	4.7	55、37	45
大豆蛋白-乳清蛋白 ^[18]	胃蛋白酶	胃蛋白酶	2.0	5.0	37	37
大豆蛋白-酪蛋白 ^[14]	胃蛋白酶	胃蛋白酶	2.0	5.0	39	42
酪蛋白水解液 ^[19]	胃蛋白酶	胃蛋白酶	2.0	5.0	37	25
罗非鱼下脚料蛋白 ^[10]	碱性蛋白酶	胃蛋白酶	8.0	5.1	60	37
乳铁蛋白水解物 ^[20]	胃蛋白酶	胃蛋白酶	2.5	5.0	37	37
大豆蛋白-酪蛋白 ^[13,21]	碱性蛋白酶	α -糜蛋白酶	8.5	5.0	55	46
酪蛋白水解物 ^[22]	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	8.5	7.0	55	20
牡蛎锌衍生肽 ^[23]	木瓜蛋白酶	中性蛋白酶	6.0	7.0	65	30
沙蚕蛋白 ^[24]	碱性蛋白酶	碱性蛋白酶	8.0	8.0	60	20
泥鳅抗氧化肽 ^[25]	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	7.0	9.0	25	35

蛋白反应产物的性质,发现经木瓜蛋白酶催化得到的修饰产物的血管紧张素转移酶(ACE)抑制率比其他三种蛋白酶要高,达到 70.37%。相同的原料在不同蛋白酶催化下获得类蛋白产物产率也有所差异,鹿波^[29]采用碱性蛋白酶和胰蛋白酶分别催化酪蛋白水解物合成类蛋白,产物产率分别为 71.4% 和 64.37%。ECPC 中,水解和合成采用的酶可以一致,也可不同。两个过程都采用一种酶可以有效减少水解作用的影响,这是因为易被水解的键在水解过程中已经被水解断^[6]。

整体看来,考虑到酶既具有水解蛋白又具有合成蛋白的能力,在进行合成反应的时候,则需要尽可能地减少酶的水解作用,这时就会选择改变反应条件来调整反应的进行,由于不同蛋白酶的最适反应条件有所不同,所以需要针对不同的反应原料和反应条件选择最为恰当的蛋白酶。比如当 pH 为 5.0 左右时,胃蛋白酶的水解能力最弱,这时以胃蛋白酶水解产物为底物,选择胃蛋白酶催化合成反应的产物得率比其他酶要高^[6]。目前,也有学者尝试采用固定化酶来催化类蛋白反应,取得了较好的合成效果^[18]。但是,关于利用复合酶制剂来催化该反应报道比较少,很大可能是因为复合酶之间会相互影响,机制不明确,不利于 ECPC 的有效控制。

2.2 底物浓度

底物浓度对整个 ECPC 的影响很大,当反应体系中底物浓度低于 7% 时,ECPC 进程停止,反应体系中以水解反应为主;当底物浓度逐渐增加,反应体系逐渐变为以合成反应为主^[30]。王晗欣等^[31]的报道证实了这一观点,认为当底物浓度低时,会发生蛋白水解作用,导致 ECPC 产率下降;但是当底物浓度过高时,混合物粘性增加,阻碍了酶的催化作用,也会影响 ECPC 的进行。徐薇等^[22]在研究底物浓度对酪蛋白水解物 ECPC 的影响时,发现当底物浓度超过 40% 时,由于黏度过大,修饰后样品的游离氨基变化量减少,因此,该反应最适底物浓度应在 7%~40% 之间。相关研究表明,类蛋白合成时,底物浓度从 11%~43% 范围内类蛋白产量呈线性增加^[32]。酶的水解和合成能力各有不同,能适应的底物浓度范围也有所差异,也会影响产物的合成^[33]。综上所述,在较低的底物浓度条件下,酶的水解作用起主导作用,随着底物浓度的增加,合成作用逐渐加强,当底物浓度到达一定高度的时候,由于反应体系粘度增加,酶的运动被限制,其催化作用也被减弱。

2.3 反应温度

反应体系温度直接影响着蛋白酶的活性,是影响 ECPC 速率的关键因素。随着温度的升高,蛋白酶活性先增加后减少,ECPC 产率也呈现先加快后减慢的趋势。当温度较低时,蛋白酶的活性受到抑制;但是温度升高到一定程度时,蛋白酶将变性失活,同样不利于 ECPC 的进行^[34]。朱晓杰等^[35]在研究温度对海地瓜蛋白酶解物 ECPC 的影响时得出相同的结

论,发现在 45 ℃ 时,游离氨基减少速率最快,而温度继续升高时,游离氨基减少速率反而降低,说明温度过高可能会导致蛋白酶失活,不利于 ECPC 的进行。汪敬科^[36]认为,ECPC 在热力学上是一个放热反应,温度升高并不能增加反应产率,低温下更有利于平衡向生成肽键方向移动,但是反应温度过低又会导致反应速率下降。从总体上来看,蛋白质的水解反应和类蛋白的合成反应的最佳温度相差不大,其最佳的反应温度是由反应使用的酶的特性来决定,酶的最适反应温度决定反应的最适温度。目前常用的酶固定化手段和改进方法,使酶的最适作用温度提高^[37]或者耐低温等极端温度的能力也更强^[38],有效拓宽了酶的使用范围。

2.4 反应 pH

ECPC 的最适 pH 往往与水解反应的最适 pH 不同,也是影响 ECPC 的重要因素,如表 1 所示,根据水解反应的最适 pH 与合成反应的最适 pH 的差值- ΔpH ,可将酶分为 3 类:胃蛋白酶型: $\Delta\text{pH}>0$,即合成最适 pH 大于水解最适 pH; α -糜蛋白酶型: $\Delta\text{pH}<0$,即合成最适 pH 小于水解最适 pH;中性蛋白酶型: $\Delta\text{pH}=0$,即合成最适 pH 等于水解最适 pH;而胰蛋白酶在任何 pH 范围内均不能催化生成类蛋白产物^[14]。有学者提出,每种酶在水解反应中都存在最适的 pH;而在类蛋白的合成反应中却不存在这个情况^[26],这可能是因为很多的寡肽和蛋白质的等电点都在 pH 4.0~7.0 范围内。总而言之,酶的合成反应与水解反应最适宜的反应 pH 不同,合成反应最适的 pH 与水解产物的等电点密切相关。

2.5 其他

伴随着反应的进行,蛋白酶逐渐失活,因此,反应时间也是一个影响 ECPC 的因素^[23]。另外,反应体系中的有机溶剂也对反应有一定程度的影响。在反应体系中添加有机溶剂可以降低底物的粘度,诱导疏水性氨基酸更多地暴露出来,形成疏水相互作用从而促进反应的进行^[26]。有研究表明,底物的疏水性和亲水性对反应也有影响,认为随着疏水性的增强,反应速度越快,但是,疏水性过高会对反应起不利作用,因为底物难溶于水从而无法参与反应^[39]。1974 年, Tanizama 等^[40]通过研究水含量对固定化的胰凝乳蛋白酶催化 N-苯酰化-L-酪氨酸- β -硝基苯胺水解的影响,认为含水量越低越有利于反应。除此之外,底物成分也会影响反应的进行。以玉米醇溶蛋白水解物合成类蛋白时,最有效的底物主要成分是四肽、五肽和六肽,平均分子质量分别为 685 和 1043 Da 的部分是效果最好的基质^[6]。向反应中添加氨基酸酯比单纯增加游离氨基酸量或催化氨基酸衍生物更有利于推动反应进行^[39]。综上所述,ECPC 是一个各种因素共同决定的反应,特别 ECPC 是一个酶催化的反应,影响酶的条件也同样会影响反应的进行。

3 酶促类蛋白反应的产物特性

ECPC 产物特性与蛋白质原料和蛋白质的水解物相比有较大差异。Bengt 等^[41]发现有些类蛋白反应物不溶于水、盐酸、氢氧化钠和 3~9 的 pH 缓冲溶液中,但是可以完全溶解于 50% 的乳酸或者柠檬酸溶液中,微溶于 50% 的乙酸溶液中。此外,Gololobov 等^[42]在利用 α -胰蛋白酶和木瓜蛋白酶催化大豆蛋白水解时,发现水解产物不发生平均分子量的变化,但是,类蛋白反应发生后,氨基酸序列发生重排。也有研究表明,反应过程中,分子量相对较小的多肽混合物会相互作用合成大分子的肽。张雅丽等^[8]以大豆蛋白水解物和芝麻蛋白水解物为底物进行 ECPC,获得了分子量约为 10000 Da 的类蛋白产物。孙辉等^[43]利用类蛋白反应修饰酪蛋白水解物,得到的产物中也存在分子质量较大的肽分子。此外,类蛋白反应产物同样可以被动物消化吸收。研究表明,当色氨酸通过类蛋白反应连接到水解蛋白上后,富含色氨酸的类蛋白反应物中色氨酸和游离色氨酸的生物利用率无显著差异^[33]。姚玉静等^[44]在进行大鼠喂食实验时,发现类蛋白反应产物的消化吸收率与其他天然蛋白质并无区别。类蛋白反应通过改变蛋白水解物的多肽序列,可以有目的地向原料蛋白中导入含硫氨基酸、色氨酸、蛋氨酸等,使产物的氨基酸组成模式更接近联合国粮农组织和世界卫生组织推荐的必需氨基酸模式^[14]。

4 酶促类蛋白的应用

4.1 蛋白质水解物的脱苦

蛋白质水解物的苦味强度受疏水氨基酸的含量、肽的分子量、水解酶的种类和水解度等多方面的影响^[45]。研究表明,蛋白质水解后的苦味源于肽中大量疏水性氨基酸的暴露,如苯丙氨酸、脯氨酸、亮氨酸、酪氨酸等^[46]。对于小麦面筋水解物而言,在前 2 h 内,水解反应逐渐释放疏水性氨基酸,苦味增加;随着反应的不断进行,长链的苦味肽含量逐渐减少,苦味下降^[47]。此外,当疏水性氨基酸位于 C、N 端时苦味较低,位于肽链非端基位置时,表现出的苦味最大,以游离形式存在时苦味最低^[48]。蛋白质水解得到的苦味物质的多肽分子量一般低于 6000 Da, 500~1000 Da 范围内的肽段苦味最强^[47-48]。

目前,常用的蛋白质水解物脱苦方法包括选择性分离^[49]、包埋掩盖法^[50]、ECPC 法^[51]和酶法脱苦^[52-55]。范巍巍^[56]利用中性蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶和动物蛋白酶酶解鳕鱼骨头,发现经碱性蛋白酶处理得到的产物风味最差,经木瓜蛋白酶处理后得到的酶解液苦味值最低。Synowiecki 等^[57]研究发现牛红细胞的蛋白水解物与谷氨酸进行类蛋白反应,水解产物的苦味显著降低。刘小蕾^[58]利用共沸异丁醇萃取、类蛋白反应和加明胶一起酶解三种方法对猪骨汤酶解液脱苦,当类蛋白反应脱苦时,以风味蛋白酶为转肽酶,ECPC 进行

2 h 时,所得酶解液的苦味值最小。侯钰柯等^[16]认为蛋白水解物中的疏水性氨基酸残基可以在类蛋白反应中被包埋聚集构成“疏水核”,从而减少蛋白质水解物的苦味。王朋等^[59]利用类蛋白反应法和物化法改善蛋白水解液苦味,通过对比发现,类蛋白反应法具有无添加、无毒副作用等优点,应用前景更加广阔。

总体来说,蛋白质的苦味主要来源于水解过程中疏水性氨基酸残基的暴露,由于在苦味强度上,内切酶效果要强于外切酶效果^[59],而蛋白的水解反应更多的采用的是内切酶,所以水解过程中苦味增加更加明显,因此,蛋白水解物的脱苦就显得尤为重要。ECPC 能促进底物之间相互作用,减少了疏水性氨基酸残基的暴露,在降低蛋白水解物苦味的问题上效果显著。

4.2 制备活性肽,提高蛋白质的生物效价

生物活性肽是一类具有抗氧化、改善睡眠、免疫调节、抗菌和降血压等功能小分子多肽,其制备方法主要有:从自然界生物体中直接提取、采用酶水解或微生物降解得到和通过化学方法或重组 DNA 技术合成生物活性肽^[45]。目前常用方法是通过蛋白酶水解法来获得生物活性肽^[60-62],但是该方法制备的产物的活性受到了原料蛋白的限制,因为无论是酶水解还是微生物降解,都是利用蛋白酶催化水解反应,对蛋白质特定位点上的酰胺键进行水解,获得的肽片段与原料蛋白的氨基酸序列一致,所以无法进一步提高生物活性肽的活性。

ECPC 能够将限制性氨基酸连接到多肽中,可以有效改善肽的生物活性。目前的研究主要集中在利用该反应制备 ACE 抑制肽^[63-64]、抗氧化肽^[65]和抗菌肽,如表 2 所示。研究表明,通过类蛋白反应可以添加必需氨基酸或者原料中缺少的某些氨基酸,弥补原料蛋白氨基酸组成不均衡的缺陷,合成具备特定功能的蛋白质,达到改善蛋白质的营养组成,提高蛋白质生物效价的目的。高丹丹等^[25]在利用木瓜蛋白酶对泥鳅蛋白进行类蛋白反应修饰,结果表明:修饰产物的抗氧化活性是修饰前的 1.99 倍, DPPH 自由基清除率为 77.98%±0.08%。同年,高丹丹等^[66]在对马铃薯蛋白 ACE 抑制肽的 ECPC 修饰研究中发现,当甘氨酸作为外源氨基酸的时候修饰效果最好。Zhao 等^[67]两人发现碱性蛋白酶催化的类蛋白反应不仅能改善大豆蛋白 DPPH 自由基清除率,还能改善大豆蛋白水解物的抗氧化性能。马春敏等^[20,68]以色氨酸为外源氨基酸,通过类蛋白反应得到乳铁蛋白水解物(LHS),在研究中发现色氨酸修饰物对大肠杆菌的抑菌率较未修饰前提高了 45.41%,纯化后的色氨酸修饰物对大肠杆菌的抑菌率较未纯化前提高了 29.69%,将色氨酸修饰物均匀涂抹在茶肠制品上可以得到保质期更长、亚硝酸盐含量更低的产品。在对牡蛎肽的类蛋白反应的研究中发现:疏水相互作用

表 2 ECPC 制备活性肽
Table 2 Preparation of active peptides from ECPC

类型	底物	外源氨基酸	酶
ACE抑制肽	马铃薯蛋白 ^[66]	甘氨酸、亮氨酸、酪氨酸、赖氨酸、组氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸和苯丙氨酸	胰蛋白酶
ACE抑制肽	鸡血浆蛋白水解产物(CPPH) ^[74]	亮氨酸, 组氨酸, 酪氨酸, 缬氨酸和半胱氨酸	胃蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶和中性酶
ACE抑制肽	酪蛋白水解物 ^[75]	脯氨酸	碱性蛋白酶
抗氧化活性	酪蛋白水解物 ^[76]	色氨酸	胃蛋白酶
抗氧化活性	酪蛋白水解物 ^[77]	苯丙氨酸、色氨酸	木瓜蛋白酶
抗氧化活性	泥鳅蛋白 ^[26]	甘氨酸、亮氨酸、酪氨酸、组氨酸、缬氨酸	木瓜蛋白酶
抑菌肽	乳铁蛋白水解物(LHS) ^[68,20]	色氨酸	胃蛋白酶
锌离子螯合活性的牡蛎肽	牡蛎 ^[69-71,78]	赖氨酸、谷氨酸、组氨酸、天冬氨酸、精氨酸	胃蛋白酶

是类蛋白反应的主要机理,为开发安全、高效的锌离子补充剂产品提供了新思路^[69-71]。

不仅如此,ECPC 还可以增强蛋白水解物的胆汁酸结合能力^[72-73]。郑玥等^[19]在探讨酪蛋白水解物的类蛋白反应修饰及其对胆酸结合能力的影响时发现:ECPC 可以提高酪蛋白水解物的胆酸结合能力和对蛋白酶抵抗的能力,并且结合能力最高的修饰产物的结合能力达到 102.1%。梁雪^[14]利用酶法合成类蛋白,与原料蛋白和水解物相比,合成的类蛋白具有更高的胆汁酸结合能力,类蛋白对牛磺胆酸钠、脱氧胆酸钠、胆酸钠的结合量分别为 2.31、2.23 和 3.05 $\mu\text{mol}/100\text{ mg}$ 蛋白。温子健^[18]通过大豆蛋白-乳清蛋白的类蛋白反应及其结合胆汁酸能力的研究,其结果表明,大豆蛋白-乳清蛋白的类蛋白通过疏水作用合成,能有效提高水解物胆汁酸结合能力。由此证明,ECPC 可以有效提高活性或者改善产品质量。

4.3 改善蛋白质的功能性质

蛋白质水解物的功能性质主要包括水合性质(溶解性、持水性、粘度等)、乳化性和起泡性、凝胶作用和成膜性,通过 ECPC,水解产物在酶的作用下产生交联,这些性质会得到改善^[79]。冯建国^[17]利用胃蛋白酶催化大豆蛋白和燕麦蛋白进行类蛋白反应,测得的类蛋白在不同的 pH 范围内都具有较强的功能性质,尤其是乳化性质和起泡性明显优于原料蛋白。Jiang 等^[80]研究 ECPC 修饰小球藻 ACE 抑制肽的机理,通过差式扫描量热法,发现在类蛋白反应修饰后蛋白的热稳定性增强,并且其热变性温度从 120 $^{\circ}\text{C}$ 增加到 134 $^{\circ}\text{C}$ 。此外,以水解明胶和蛋氨酸酯为底物,通过 ECPC 接上氨基酸月桂酯,既可以提高其营养价值,还可以提高改性水解蛋白的乳化性和稳定性^[81]。杨杨等^[21]通过对大豆蛋白-酪蛋白的类蛋白反应条件进行优化,制备出营养组分更完善、成膜性更好的优质蛋白,为生产营养组分丰富、价格便宜、可降解和可食用的动植物蛋白膜提供理论依据。Williamms 等^[32]将 ECPC 应用于霉菌蛋白改性,与常见的胶凝产品蛋白质不同,以相对较差的底物合成获得了不透明、触变的粘性溶液。总而言之,ECPC 可以选择较为廉价的蛋白作为原料,改善其功能性质,

ECPC 产物在广泛的 pH 范围内具有适用性,在酸性高蛋白饮料、糖果业制造等方面有良好的应用前景。

4.4 提供新的蛋白质来源

最开始,ECPC 因为可以利用海藻、微生物、叶蛋白等几乎无成本原料而受到很多人的关注,经过进一步的研究,该反应被应用到更广的范围。任增超等^[10]利用胃蛋白酶对罗非鱼下脚料进行酶解蛋白合成类蛋白,为鱼蛋白改性、开发新的蛋白资源提供了新思路。Sukarno 等^[82]对虎虾消化道中蛋白酶进行研究,发现通过固定化酶进行 ECPC 修饰获得的产物中,苯丙氨酸含量变得极低,得到的酶促类蛋白产品具有潜在的营养价值,可用于各种配方食品、饲料产品的营养补品,也可以用于苯丙氨酸代谢障碍患者的食品。

ECPC 还可以应用于蛋白质回收,制备具有生物学功能的新型蛋白质。Udenigwe 等^[83]使用不同蛋白酶水解鸡肉蛋白制得的水解物进行类蛋白反应,对鸡肉蛋白进行回收,开发出基于肽的胆汁酸结合树脂,用于调节高脂血症期间的内源性脂质水平。Li 等^[84]利用鳃鱼内源性酶水解和豆粕的固态发酵生产水溶性蛋白粉,蛋白质回收率最高可达 91%,为提高动物蛋白利用率提供了方法。Sun 等^[85]发现模拟胃肠道(GIT)消化后蛋清蛋白水解物的类蛋白反应显著降低了其免疫球蛋白 E(IgE)的结合活性,该方法可用于生产结构修饰的免疫球蛋白。

5 结语与展望

本文通过了解 ECPC 反应机理、性质和影响因素等方面的内容,目的是为了对 ECPC 有更深层次的认识,为蛋白质的深度利用和高值化提供理论基础。鉴于 ECPC 能有效地降低底物的苦味值,在多肽产品的研发中可以有效起到改善产品品质和风味的作用,而且 ECPC 无毒副作用,且能提高蛋白质的效价,提供新蛋白来源,后续可以考虑将该反应应用于功能性食品的研发中,弥补天然食品的缺陷,满足更多人群的营养需求。

参考文献

- [1] 陶友华. 基于内酰胺开环聚合的氨基酸聚合新方法[J]. 高分子学报, 2016(9): 1151-1159. [TAO Y H. A new method of

amino acid polymerization based on lactam ring-opening polymerization[J]. *Acta Polymerica Sinica*, 2016(9): 1151-1159.]

[2] 冯西. 生命起源浅说[J]. 德阳教育学院学报, 2005, 19(4): 22-23. [FENG X. On the origin of life[J]. *Journal of Deyang Education College*, 2005, 19(4): 22-23.]

[3] 张海涛, 张磊, 徐长青, 等. 聚合氨基酸复合肥系列产品生产技术总结[J]. *化肥工业*, 2018, 45(6): 13-14, 47. [ZHANG H T, ZHANG L, XU C Q, et al. Sum-up of production technology of polyamino acid compound fertilizer series products[J]. *Fertilizer Industry*, 2018, 45(6): 13-14, 47.]

[4] 慕永利, 安广杰. 类蛋白反应应用的研究进展[J]. *中国食物与营养*, 2006(7): 24-25. [MU Y L, AN G J. Research progress of protein-like reaction applications[J]. *Chinese Food and Nutrition*, 2006(7): 24-25.]

[5] 张微, 霍贵成. 合成类蛋白的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2007(6): 243-245, 197. [ZHANG W, HUO G C. Research progress of synthetic protein[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2007(6): 243-245, 197.]

[6] 周雪松, 赵谋明. 合成类蛋白反应与食物蛋白品质改良[J]. *食品与发酵工业*, 2005(5): 78-83. [ZHOU X S, ZHAO M M. Synthetic protein reaction and food protein quality improvement[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2005(5): 78-83.]

[7] 彭新颜, 冯志彪. 合成类蛋白的应用研究进展[J]. *食品与机械*, 2004(3): 56-58. [PENG X Y, FENG Z B. Application research development of plastein reaction[J]. *Food and Machinery*, 2004(3): 56-58.]

[8] 张雅丽, 王凤翼, 宋世廉, 等. 蛋白质酶法修饰的初步探讨——大豆和芝麻蛋白的合成类蛋白营养评定[J]. *食品与发酵工业*, 1994(5): 67-68. [ZHANG Y L, WANG F Y, SONG S L, et al. Preliminary study on enzymatic modification of protein—nutritional evaluation of synthetic proteins of soy and sesame protein[J]. *Food and Fermentation Industry*, 1994(5): 67-68.]

[9] MA C L, LI T J, ZHAO X H. Pepsin-catalyzed plastein reaction with tryptophan increases the *in vitro* activity of lactoferrin hydrolysates with BGC-823 cells[J]. *Food Bioscience*, 2019, 28: 109-115.

[10] 任增超, 周春霞, 洪鹏志, 等. 罗非鱼下脚料蛋白合成类蛋白反应的工艺优化[J]. *食品与发酵工业*, 2009, 35(3): 75-80. [REN Z C, ZHOU C X, HONG P Z, et al. Process optimization of protein-like reaction for protein synthesis from tilapia scraps[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2009, 35(3): 75-80.]

[11] MICHIO Y, SOICHI A, MASAO F. Plastein reaction for food protein improvement[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1976, 24(6): 1100-1104.

[12] ANDREWS A T, AIVHANIDIS E. The plastein reaction revisited: Evidence for a purely aggregation reaction mechanism[J]. *Food Chemistry*, 1990, 35(4): 243-261.

[13] 曲玲玲. 温度调控下大豆蛋白—酪蛋白类蛋白反应及特征表征[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2016: 31-64. [QU L L. Plastein reaction of soy protein and casein under temperature control and the evaluation of its characterization[D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2016: 31-64.]

[14] 梁雪. 酪蛋白-大豆蛋白合成类蛋白功能特性的研究[D].

大连: 大连工业大学, 2018. [LIANG X. Study on functional properties of casein-soy protein plastein[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2018.]

[15] 安广杰, 王璋. 类蛋白反应法改性水解明胶的原理[J]. *食品与生物技术学报*, 2006(1): 92-95, 119. [AN G J, WANG Z. Primary studies on the methanism of plastein reaction[J]. *Journal of Food and Biotechnology*, 2006(1): 92-95, 119.]

[16] 侯钰柯, 石金明, 曾宪明, 等. 类蛋白反应及其在肉类中的应用[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(8): 261-267. [HOU Y K, SHI J M, ZENG X M, et al. Plastein reactions and its application in meat[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2021, 47(8): 261-267.]

[17] 冯建国. 大豆蛋白和燕麦蛋白合成类蛋白的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2013. [FENG J G. Studies on plastein synthesis by oat protein and soy protein[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2013.]

[18] 温子健. 大豆蛋白—乳清蛋白 Plastein 对结合胆汁酸能力的影响[D]. 大连: 大连工业大学, 2017. [WEN Z J. Effect of soy-bean-whey plastein on capacity of binding bile acid[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2017.]

[19] 郑玥, 曾庆梅. 醋蛋液水解物的类蛋白反应修饰及其对胆酸结合能力的影响[J]. *安徽农业科学*, 2019, 47(1): 154-157, 166. [ZHENG Y, ZENG Q M. Modification of vinegar-egg hydrolysates by plastein reaction and bile acid-binding capacity of modified products[J]. *Anhui Agricultural Sciences*, 2019, 47(1): 154-157, 166.]

[20] 马春敏, 戚莉佳, 陈芳芳, 等. 乳铁蛋白水解物及其类蛋白反应修饰产物在低硝茶肠加工中的应用[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(4): 169-174. [MA C M, QI J L, CHEN F F, et al. Application of lactoferrin hydrolysate and its plastein reaction modified products in low nitrate tea sausage processing[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2019, 19(4): 169-174.]

[21] 杨杨, 王冰, 李新福, 等. 大豆蛋白-酪蛋白类蛋白反应的工艺优化[J]. *包装工程*, 2019, 40(3): 11-18. [YANG Y, WANG B, LI X F, et al. Process optimization of soy protein-casein protein reaction[J]. *Packing Engineering*, 2019, 40(3): 11-18.]

[22] 徐微, 赵新淮. 酪蛋白水解物的中性蛋白酶修饰及其 ACE 抑制活性[J]. *食品与发酵工业*, 2010, 36(5): 17-22. [XU W, ZHAO X H. Neutral protease modification of casein hydrolysate and its ACE inhibitory activity[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2010, 36(5): 17-22.]

[23] 韩青, 周丽杰, 李智博, 等. 酶法制备联合 Plastein 反应修饰牡蛎 ACE 抑制肽工艺优化[J]. *食品科学*, 2017, 38(6): 104-110. [HAN Q, ZHOU L J, LI Z B, et al. Optimized preparation of ACE inhibitory peptides from oyster by enzymatic hydrolysis coupled with plastein reaction[J]. *Food Science*, 2017, 38(6): 104-110.]

[24] 石晓梅, 车丽辉, 董秀芳, 等. 沙蜇蛋白酶解物类蛋白反应修饰及其生物活性[J]. *大连工业大学学报*, 2016, 35(6): 403-406. [SHI X M, CHE L H, DONG X F, et al. Modification of jellyfish protein hydrolysates by plastein reaction and its biological activity[J]. *Journal of Dalian Polytechnic University*, 2016, 35(6): 403-406.]

[25] 高丹丹, 程浩, 马忠仁, 等. 泥鳅蛋白抗氧化肽的 Plastein 反应修饰研究[J]. *浙江农业学报*, 2018, 30(8): 1312-1320. [GAO

- D D, CHEN H, MA Z R, et al. Modification of antioxidant peptide from loach protein by plastein reaction[J]. *Journal of Zhejiang Agriculture*, 2018, 30(8): 1312-1320.]
- [26] 苏亚文, 魏婉璐, 赵前程, 等. 类蛋白反应研究进展[J]. *广州化工*, 2019, 47(15): 25-27, 37. [SU Y W, WEI W L, ZHAO Q C, et al. Research progress on plastein reaction[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2019, 47(15): 25-27, 37.]
- [27] LI Q, FU Y, ZHANG L T, et al. Plastein from hydrolysates of porcine hemoglobin and meat using alcalase and papain[J]. *Food Chemistry*, 2020, 320: 126654.]
- [28] 周丽杰. 牡蛎 ACE 抑制肽的分离鉴定及性质研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2017. [ZHOU L J. Studies on isolation and identification of ACE inhibitory peptides from oyster and their properties[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2017.]
- [29] 鹿波. 固定化酶的制备与酪蛋白合成类蛋白的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2007. [LU B. Studies on preparation of immobilized enzyme and plastein polymerization by casein[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2007.]
- [30] 于彤. 大豆分离蛋白的类蛋白合成及其功能性变化[D]. 长春: 长春理工大学, 2017: 23-35. [YU T. Plastein reaction and functional changes of soy protein isolate [D]. Changchun: Changchun University of Science and Technology, 2017.]
- [31] 王盼欣, 杜双奎, 赵艳, 等. 鹰嘴豆蛋白水解物类蛋白反应修饰与抗氧化活性研究[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(1): 34-40. [WANG H X, DU S K, ZHAO Y, et al. Study on reaction modification and antioxidant activity of chickpea protein hydrolysate[J]. *Chinese Food Journal*, 2015, 15(1): 34-40.]
- [32] WILLANMS R J, BROWNSSELL V L, ANDREWS A T. Application of the plastein reaction to mycoprotein: I. plastein synthesis[J]. *Food Chemistry*, 2001, 72(3): 329-335.]
- [33] 宋佳天. 大豆蛋白的水解及类蛋白反应对其抗氧化性的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011. [SONG J T. Hydrolysis and coupled plastein reaction on the antioxidant properties of soybean protein hydrolysates[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2011.]
- [34] 高博. 大豆蛋白水解物的两种修饰及其活性变化[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010. [GAO B. Two modifications of soy protein hydrolyzate and their activity changes[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2010.]
- [35] 朱晓杰, 曾名湧, 马桂兰, 等. 海地瓜蛋白酶解物类蛋白反应修饰及其对 ACE 活性的影响[J]. *中国海洋药物*, 2011, 30(6): 6-12. [ZHU X J, ZENG M Y, MA G L, et al. Research on plastein reaction-basic modification of acaudina mol padioidea protein hydrolysates and its effects on ACE activity[J]. *China Marine Drug*, 2011, 30(6): 6-12.]
- [36] 汪敬科. 三种氨基酸添加下酶法修饰酪蛋白水解物及其体外 ACE 抑制和抗氧化活性[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011. [WANG J K. *In vitro* ACE-inhibitory and antioxidant activities of casein hydrolysates subjected to enzymatic modification in the presence of three amino acids[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2011.]
- [37] 彭思敏, 肖菁, 吴卫国, 等. 固定化米黑根毛霉脂肪酶制备条件优化及酶学性质研究[J]. *中国油脂*, 2022, 47(4): 118-132. [PENG S M, XIAO J, WU W G, et al. Optimization of parameters of preparation of *Rhizomucor miehei* lipase immobilization and enzymatic properties evaluation[J]. *China Oils*, 2022, 47(4): 118-132.]
- [38] 唐婷, 周文凤, 王志, 等. 多酶共固定化技术在糖类催化中的研究进展[J]. *化工进展*, 2022, 41(5): 2636-2648. [TANG T, ZHOU W F, WANG Z, et al. Advances of multienzymes co-immobilization technologies for sugar catalysis[J]. *Chemical Progress*, 2022, 41(5): 2636-2648.]
- [39] 杨倩. 大米类蛋白的制备及其特性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007. [YANG Q. Study on preparation and characteristics of rice plastein[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007.]
- [40] TANIZAWA K, BENDER M L. The application of insolubilized alpha-chymotrypsin to kinetic studies on the effect of aprotic dipolar organic solvents[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1974, 249(7): 2130-2134.]
- [41] BENGT V, HOFSTER B V, LALASIDIS G. Protease-catalyzed formation of plastein products and some of their properties[J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1976, 24(3): 460-465.]
- [42] GOLOBOV M Y, ANTONOVA T V, BELIKOV V M, et al. Enzyme catalyzed reactions and structure formation relationship in plastein reactions[J]. *Food*, 1982, 26(5): 427-433.]
- [43] 孙辉, 赵新淮. 酪蛋白水解物的类蛋白反应修饰及其产物 ACE 抑制活性特征[J]. *食品科学*, 2011, 32(19): 60-65. [SUN H, ZHAO X H. Modification of casein hydrolysate by alcalase-catalyzed plastein reaction and ACE-inhibitory activity of modified products[J]. *Food Science*, 2011, 32(19): 60-65.]
- [44] 姚玉静, 崔春, 邱礼平, 等. 类蛋白反应条件及其机理探讨[J]. *中国调味品*, 2009, 34(2): 45-48. [YAO Y J, CUI C, QIU L P, et al. Review on the conditions and mechanism of plastein reaction[J]. *China Condiment*, 2009, 34(2): 45-48.]
- [45] 赵新淮, 孙辉. 类蛋白反应在食品蛋白质和活性肽研究中的应用[J]. *东北农业大学学报*, 2011, 42(11): 1-8. [ZHAO X H, SUN H. Plastein reaction and its applications in food proteins or bioactive peptides[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2011, 42(11): 1-8.]
- [46] 白云, 郭兴凤. 苦味肽的形成及其脱苦研究进展[J]. *粮食加工*, 2015, 40(5): 28-33. [BAI Y, GUO X F. The forming and debittering research of bitter peptides[J]. *Grain Processing*, 2015, 40(5): 28-33.]
- [47] LIU B Y, ZHU K X, GUO X N, et al. Changes in the enzyme-induced release of bitter peptides from wheat gluten hydrolysates[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(104): 102249-102257.]
- [48] 石慧. 羧肽酶在大豆蛋白水解中的脱苦作用[J]. *食品安全导刊*, 2020(18): 183-184. [SHI H. Debittering effect of carboxypeptidase in hydrolysis of soybean protein[J]. *Journal of Food Safety Guide*, 2020(18): 183-184.]
- [49] 魏芳, 周祥山, 田守生, 等. 4 种大孔吸附树脂对阿胶低聚肽的脱苦效果研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(13): 1-6. [WEI F, ZHOU X S, TIAN S S, et al. Debittering effect of colla corii asini oligopeptides using four different macroporous adsorptive resins[J]. *Food Research and Development*, 2018, 39(13): 1-6.]

- [50] 吕锦弟, 张珍, 张盛贵, 等. 酪蛋白磷酸肽脱苦工艺研究[J]. *食品与发酵科技*, 2017, 53(3): 55–60. [LÜ J D, ZHANG Z, ZHANG S G, et al. Study on the extraction of casein phosphopeptides[J]. *Food and Fermentation Science and Technology*, 2017, 53(3): 55–60.]
- [51] 杨兰, 白勇. 蛋白质酶解产物苦味的形成及脱除的研究进展[J]. *现代食品科技*, 2002, 18(2): 22–25. [YANG L, BAI Y. Characteristics and the debittering methods of bitter peptides in protein hydrolysates[J]. *Guangzhou Food Science and Technology*, 2002, 18(2): 22–25.]
- [52] 张虹. 具有脱苦功能的豆芽蛋白酶的制备及应用[D]. 广州: 华南理工大学, 2016. [ZHANG H. Preparation and application of debittering proteases from soybean (*Glycine max*) sprouts[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016.]
- [53] BERTELSEN A S, LAURSEN A, KNUDSEN T A, et al. Bitter taste masking of enzyme-treated soy protein in water and bread[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98(10): 3860–3869.
- [54] FU Y, LIU J, ERIK T, et al. Structural characteristics of low bitter and high umami protein hydrolysates prepared from bovine muscle and porcine plasma[J]. *Food Chemistry*, 2018, 257: 163–171.
- [55] MEINLSCHMIDT P, SCHWEIGGERT-WEISZ U, BRODE V, et al. Enzyme assisted degradation of potential soy protein allergens with special emphasis on the technofunctionality and the avoidance of a bitter taste formation[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 68: 707–716.
- [56] 范巍巍. 鳕鱼骨蛋白酶解过程中苦味形成机制及其控制方法研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2018. [FAN W W. Mechanism of bitterness formation and control methods of protein hydrolysis of cod bone[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2018.]
- [57] SYNOWIECKI J, JAGIETKA R, SHAHIDI F. Preparation of hydrolysates from bovine red blood cells and their debittering following plastein reaction[J]. *Food Chemistry*, 1996, 57(3): 435–439.
- [58] 刘小蕾. 熬制和酶解对猪骨汤品质的影响及其脱苦方法研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009. [LIU X L. Study on the influences of cooking and enzymic hydrolysis on the properties of porcine bone soup as well as its debittering methods[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2009.]
- [59] 王朋, 何键东, 罗红宇. 类蛋白反应在蛋白水解物风味改善中的研究进展[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2012, 33(2): 89–94. [WANG P, HE J D, LUO H Y. Research progress of protein-like reactions in the flavor improvement of protein hydrolysates[J]. *Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition)*, 2012, 33(2): 89–94.]
- [60] WU H T, JIN W G, SUN S G, et al. Identification of antioxidant peptides from protein hydrolysates of scallop (*Patinopecten yessoensis*) female gonads[J]. *European Food Research and Technology*, 2016, 242(5): 713–722.
- [61] YU M, HE S D, TANG M M, et al. Antioxidant activity and sensory characteristics of maillard reaction products derived from different peptide fractions of soybean meal hydrolysate[J]. *Food Chemistry*, 2018, 243: 249–257.
- [62] ZHANG L, ZHAO G X, ZHAO Y Q, et al. Identification and active evaluation of antioxidant peptides from protein hydrolysates of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) head[J]. *Antioxidant*, 2019, 8(8): 1–16.
- [63] ZHAO X H, LI Y Y. An approach to improve ACE-inhibitory activity of casein hydrolysates with plastein reaction catalyzed by alcalase[J]. *European Food Research and Technology*, 2009, 229(5): 795–805.
- [64] 沈晴晴, 曾名湧, 赵元晖. 类蛋白反应修饰海地瓜酶解物及 ACE 抑制肽的制备[J]. *高等学校化学学报*, 2014, 35(5): 965–970. [SHEN Q Q, ZENG M Y, ZHAO Y H. Modification of acaudina molpadioides hydrolysates by plastein reaction and preparation of ACE inhibitory peptides[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2014, 35(5): 965–970.]
- [65] 戚莉佳, 庞佳楠, 马春敏, 等. 酪蛋白水解物的类蛋白反应修饰产物的分离纯化及其抗氧化活性研究[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(5): 91–96. [QI L J, PANG J N, MA C M, et al. Separation and purification of modified casein hydrolysates using plastein reaction and their antioxidant activities[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2017, 33(5): 91–96.]
- [66] 高丹丹, 马忠仁, 热孜万古力·赛买提, 等. 马铃薯蛋白 ACE 抑制肽的 Plastein 反应修饰研究[J]. *食品与机械*, 2018, 34(2): 6–10, 82. [GAO D D, MA Z R, SAIMAITI R, et al. Plastein reaction to modify the ACE inhibitory peptides of potato protein[J]. *Food and Machinery*, 2018, 34(2): 6–10, 82.]
- [67] ZHAO X Y, SONG J T. Evaluation of antioxidant properties *in vitro* of plastein-reaction-stressed soybean protein hydrolysate[J]. *International Journal of Food Properties*, 2014, 17(1): 152–162.
- [68] 马春敏, 薄力影, 范婧, 等. 乳铁蛋白水解物修饰物的分离纯化及其抗大肠杆菌活性[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(1): 92–95, 106. [MA C M, BO L Y, FAN J, et al. Isolation and purification of lactoferrin hydrolysate's modifier and determination of its antibacterial activity on *Escherichia coli*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(1): 92–95, 106.]
- [69] 曹玉惠, 张娟娟, 王再扬, 等. 牡蛎源类蛋白反应修饰肽的分离纯化及肽锌螯合物的结构表征[J]. *高等学校化学学报*, 2018, 39(3): 470–475. [CAO Y H, ZHANG J J, WANG Z Y, et al. Separation and purification of reactive modified peptides from oyster-derived proteins and structural characterization of peptide zinc chelate[J]. *Chemical Journal of Chinese University*, 2018, 39(3): 470–475.]
- [70] 王再扬, 曹玉惠, 赵元晖, 等. 类蛋白反应修饰的牡蛎肽锌结合物的生物利用性[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(3): 46–51. [WANG Z Y, CAO Y H, ZHAO Y H, et al. Bioavailability of zinc oyster peptide conjugate modified by plastein reaction[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(3): 46–51.]
- [71] LI J P, CHEN G, WANG Z Y, et al. Oyster-derived zinc-binding peptide modified by plastein reaction via zinc chelation promotes the intestinal absorption of zinc[J]. *Marine Drugs*, 2019, 17(6): 341.
- [72] GAO D D, GUO P H, CAO X, et al. Improvement of chicken plasma protein hydrolysate angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity by optimizing plastein reaction[J]. *Food Science*

and Nutrition, 2020, 8(6): 2798–2808.

[73] SUN H, LI T J, ZHAO X H. ACE inhibition and enzymatic resistance *in vitro* of a casein hydrolysate subjected to plastein reaction in the presence of extrinsic proline and ethanol-or methanol-water fractionation[J]. International Journal of Food Properties, 2011, 17(2): 386–398.

[74] 杨锋, 陈锦屏, 阳显莹. 醋蛋水解物的类蛋白反应及对抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(18): 152–155, 158.

[YANG F, CHEN J P, YANG X Y. Plastein reaction of vinegar-egg hydrolysates and impacts on antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(18): 152–155, 158.]

[75] BO L Y, PANG J N, SONG C L, et al. Effect of the plastein reaction in presence of extrinsic amino acids on the protective activity of casein hydrolysate against ethanol-induced damage in HHL-5 cells[J]. Foods, 2019, 8(4): 1–11.

[76] 张娟娟, 刘尊英, 董士远, 等. 锌离子结合类蛋白反应修饰肽的稳定性研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(9): 150–154. [ZHANG J J, LIU Z Y, DONG S Y, et al. Stability of modified peptide using zinc binding and plastein reaction[J]. Modern Food Technology, 2015, 31(9): 150–154.]

[77] QIAN F, WANG Y, WEN Z J, et al. Plastein reaction enhanced bile-acid binding capacity of soybean protein hydrolysates and whey protein hydrolysates[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 55(3): 1021–1027.

[78] MOHAN A, UDENIGWE C C. Towards the design of hypolipidaemic peptides: Deoxycholate binding affinity of hydrophobic peptide aggregates of casein plastein[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18: 129–136.

[79] 朱磊, 张馨心, 谢艳英, 等. 类蛋白反应的作用机制及其对海

洋源蛋白修饰的研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 362–367. [ZHU L, ZHANG X X, XIE Y Y, et al. Research progress on mechanism of plastein reactions and its modification function of marine proteins[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(9): 362–367.]

[80] JIANG S S, ZHAO Y H, SHEN Q Q, et al. Modification of ACE-inhibitory peptides from *acaudina molpadioidea* using the plastein reaction and examination of its mechanism[J]. Food Bioscience, 2018, 26: 1–7.

[81] 安广杰, 王璋. 类蛋白反应法改性水解明胶的条件[J]. 食品与发酵工业, 2005(3): 83–86. [AN G J, WANG Z. Condition of modified hydrolyzed gelatin by protein-like reaction method[J]. Food and Fermentation Industry, 2005(3): 83–86.]

[82] SUKARNO, MARLIA L, YUSNITA D, et al. Studies on protease from the digestive tract of tiger shrimp: Production of fish protein concentrate through plastein reaction[J]. Fisheries Science, 2008, 68(2): 1335–1338.

[83] UDENIGWE C C, MOHAN A, WU S H. Peptide aggregation during plastein reaction enhanced bile acid-binding capacity of enzymatic chicken meat hydrolysates[J]. Journal of Food Biochemistry, 2015, 39(3): 344–348.

[84] LI L, QING Y, WANG J L, et al. Production of a water-soluble protein powder from anchovy and soybean meal by endogenous enzymatic hydrolysis and solid-state fermentation[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2019, 43(1): 1–12.

[85] SUN X H, ACQUAH C, GAZME B, et al. Mechanisms of plastein formation influence the IgE-binding activity of egg white protein hydrolysates after simulated static digestion[J]. Food Chemistry, 2021, 345: 128783.