

胡椒酶法搅拌脱皮的工艺优化

张容鹄,窦志浩*,谢辉,何艾

(海南省农业科学院农产品加工设计研究所,海南海口 571100)

摘要:采用果胶裂解酶和植物水解酶对新鲜胡椒脱皮处理,研究优化的脱皮工艺条件。以脱皮率为参考指标,进行两种酶液的复配实验,在单因素实验的基础上,通过正交实验对酶法搅拌脱皮工艺进行了优化,比较了酶法搅拌得到的白胡椒与其他浸泡方式得到的白胡椒品质。结果显示果胶裂解酶和植物水解酶以体积比3:2脱皮效果最好,优化后的酶处理工艺为:酶液浓度为2.0%,温度为45℃,转速为150 r/min,烫漂时间为5 min。经验证,酶法搅拌3 h,脱皮率为97.6%。与传统水沤法和生物酶法浸泡得到的白胡椒相比,脱皮时间明显缩短,白胡椒香味浓,色泽灰白,无异臭味。

关键词:胡椒脱皮,复合酶,搅拌,优化

Optimization of technology for enzymatic decortication of green pepper by stirring

ZHANG Rong-hu, DOU Zhi-hao*, XIE Hui, HE Ai

(Institute of Processing & Design of Agroproducts, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 571100, China)

Abstract: Pectate lyase and the plant hydrolyzed-enzyme were used for decortication of the green pepper in order to gain optimizational decortication technology. The decortication efficiency was used as evaluation index, proportioning experiment of two kinds of enzymatic solutions was carried out firstly, then enzymatic peeling technology of pepper was optimized with the help of the stirring by orthogonal experiment on the basis of single-factor tests, in the end, the quality of white pepper decorticated by the different ways was compared. Results showed the best proportion of pectate lyase and the plant hydrolyzed-enzyme was 3:2, the optimum conditions were as follows: mixed enzymes concentration 2.0%, the treating temperature 45℃, stirring rate 150 r/min, and the blanching time 5 min. Under the optimum conditions, the decortication efficiency of pepper could reach 97.6% in 3 hours by enzymatic stirring method. Compared with the traditional water retting method, decortication time was shortened significantly, white pepper smelt fragrance thick and odourless, color was grey and light.

Key words: pepper peeling; mixed enzymes; stirring; optimization

中图分类号:TS201.1

文献标识码:A

文 章 编 号:1002-0306(2015)18-0214-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.18.034

胡椒属胡椒科胡椒属热带香辛料作物,被誉为“香料之王”^[1]。胡椒可防腐,作调味品,亦可入药,有镇静、驱寒、止痛、消炎、解毒等功效^[2-4]。胡椒的初加工产品主要为白胡椒和黑胡椒,白胡椒具有更高的经济价值^[5]。2013年我国胡椒种植面积为32.2万亩,产量为3.65万吨,98%以上是白胡椒^[6-7]。胡椒出口量少,仅占世界总胡椒出口量的1.58%,制约胡椒出口和产业发展的一个重要因素是白胡椒具有异臭味,异臭味是采用水沤法浸泡脱皮,浸泡时间长(7~15 d)、产生了3-甲基吲哚、4-甲酚、3-甲酚和丁酸等类似臭味的物质,这一类物质明显降低了白胡椒的香味,不利于品质的提升^[8-9]。生物酶法脱皮主要是利用微生物生产的酶降解果皮中原果胶、果胶和纤维素等物质达到脱皮的目的,具有“高产、优质、节能、低污染”

等特点,成为脱皮工艺的发展方向^[10-11],已被用于苎麻^[12]、芝麻^[13]、黄桃^[14]和柑橘^[15]等作物脱皮中。Gopinathan^[16]用酶法搅拌对黑胡椒进行脱皮,脱皮时间24 h左右,但得到白胡椒色泽不佳,应用受限。近年来国内对胡椒生物酶法脱皮开展了初步研究^[17-18],研究的重点主要放在胡椒脱皮微生物的筛选、鉴定及脱皮效果的分析上,脱皮时间最短也在44 h内,对于胡椒生物酶法结合机械搅拌脱皮工艺研究较少,尚没有对鲜胡椒进行生物酶法搅拌脱皮的报道。复合酶制剂较单一果胶酶和纤维素水解酶对胡椒果皮的效果更明显,是酶法应用脱皮的新领域^[19]。本研究采用果胶裂解酶和植物水解酶的复合液,辅助机械搅拌脱皮方法,进行新鲜胡椒脱皮实验,以期进一步缩短脱皮时间,为胡椒脱皮工业化生产提供科学参考。

收稿日期:2015-01-04

作者简介:张容鹄(1970-),女,硕士研究生,副研究员,研究方向:农产品加工与保鲜贮藏,E-mail:zrh0912@126.com。

* 通讯作者:窦志浩(1961-),男,本科,研究员,研究方向:农产品加工与储藏,E-mail:513408658@qq.com。

基金项目:海南省科学事业费(kyys-2013-11);海南省应用技术研发与示范推广专项(ZDXM2014137);海南省产学研一体化专项资金(cxj20130038)。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜胡椒 采自海南省文昌市南阳农场,开始实验前一天采集,采后分装,每包2 kg,储藏于4 ℃冷库备用;诺维信果胶裂解酶液(活性≥22500PECTU/mL) 广州明曜商贸有限公司;诺维信植物水解酶液(活性100FEB/g) 广州明曜商贸有限公司;柠檬酸等其他试剂 均为国产分析纯。

HJ-5型多功能搅拌器 金坛市富华仪器有限公司;XMTA-6000型数显鼓风干燥箱 上海叶拓仪器仪表有限公司;PL203型梅特勒-托利多电子天平 梅特勒-托利多有限公司;Jasco PU2080高效液相色谱仪 日本分光公司;WSC-S测色色差计 上海精科科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 新鲜胡椒酶法搅拌脱皮工艺流程及操作要点

新鲜胡椒→烫漂→水冷却→搅拌→洗涤除渣→干燥→白胡椒。

参考窦志浩等^[17],并做改动,取0.5 kg新鲜胡椒,加入0.45 L脱皮辅液(预先加热到设定温度)和一定量的复合酶液,脱皮辅液是pH为3.0~3.5的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液,酶液浓度按照1 kg新鲜胡椒加入复合酶液的总体积数(L)计算。搅拌一段时间,然后通过浮选的方法分离脱掉的皮渣。将分离去皮渣的白胡椒置烘箱,55 ℃鼓风干燥,即得脱皮白胡椒。

1.2.2 鲜胡椒传统水沤法浸泡 水沤法脱皮:取新鲜胡椒,浸泡在自来水中,10 d后,手搓脱皮,除渣,55 ℃干燥,得到白胡椒。

1.2.3 脱皮率计算 将干燥过的白胡椒充分混合,称取约100 g样品(M_2),挑出完全脱皮(无粘皮)的白胡椒,称取其质量(M_1),重复取样3次,分别计算脱皮率(R),脱皮率计算公式如下:

$$R(\%) = \frac{M_1}{M_2} \times 100$$

式中, R 为脱皮率, M_1 为完全脱皮白胡椒质量(g), M_2 为取样总质量(g)。

1.2.4 白胡椒色泽评价 亮度L值的测定:参照祝美云^[20],采用色差仪测定,以仪器白板亮度L为标准,依CIELAB表色系统测量样品的亮度值L(light)。 L 值≥4,色泽正常; $2.5 \leq L < 4$,色泽稍暗,可接受; $L < 2.5$,色泽发暗,不能接受。取脱皮后干燥胡椒粒,于色差仪中测L值,L值越大,白胡椒色泽越好。

1.2.5 胡椒碱含量测定 按照GB/T 17528-2009进行检测。

1.2.6 果胶裂解酶液和植物水解酶液配比实验 以果胶裂解酶液和植物水解酶液的复合酶液总浓度为2.0%,酶液浓度按照1 kg新鲜胡椒加入复合酶液的体积数(L)计算。两种酶液配比(v:v)为5:0、4:1、3:2、2.5:2.5、2:3、1:4、0:5进行浸泡3d,手搓脱皮,55 ℃干燥,计算脱皮率。

1.2.7 单因素实验

1.2.7.1 烫漂时间对新鲜胡椒脱皮效果的影响 新鲜胡椒分别烫漂0、1、2、3、4、5、6、7和8 min后,水冷

后,各称取0.5 kg,加入0.45 L脱皮辅液和1.5%复合酶液,搅拌转速150 r/min,搅拌3 h,以新鲜胡椒不经预处理烫漂,常温下直接酶法搅拌脱皮为对照,测定脱皮率和L值。

1.2.7.2 复合酶液浓度对新鲜胡椒脱皮效果的影响 称取新鲜胡椒,烫漂5 min,水冷后,分别称取0.5 kg多组,各加入0.45 L脱皮辅液,分别加入0、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%和2.5%的复合酶液,搅拌转速150 r/min,搅拌3 h,以新鲜胡椒经预处理烫漂后,常温下不加酶液搅拌脱皮为对照,分别计算新鲜胡椒的脱皮率。

1.2.7.3 温度对新鲜胡椒脱皮效果的影响 称取新鲜胡椒,烫漂5 min,水冷后,分别称取0.5 kg多组,加入0.45 L脱皮辅液和浓度为1.5%的复合酶液,分别于30、35、40、45、50和55 ℃条件下搅拌脱皮,搅拌转速为150 r/min,搅拌3 h,计算脱皮率。

1.2.7.4 搅拌转速对新鲜胡椒脱皮效果的影响 称取新鲜胡椒,烫漂5 min,水冷后,分别称取0.5 kg多组,加入0.45 L脱皮辅液和浓度为1.5%的复合酶液,在45 ℃下,分别以0、50、100、150、200和250 r/min,搅拌脱皮3 h,计算脱皮率。

1.2.8 酶法搅拌脱皮工艺的正交实验 单因素实验结果表明,在脱皮辅液pH为3~3.5,酶液配比为3:2条件下进行酶法搅拌脱皮,烫漂时间、复合酶液浓度、脱皮温度和搅拌转速对脱皮率都有明显影响。因此,以胡椒脱皮率为指标,采用四因素三水平的 $L_9(3^4)$ 正交实验设计对复合酶液浓度、脱皮温度、搅拌转速和烫漂时间四个条件进行优化,选取因素、水平见表1。

表1 因素水平表 $L_9(3^4)$

Table 1 The design table of factors and levers $L_9(3^4)$

水平	因素			
	A 复合酶液浓度(%)	B 脱皮温度(℃)	C 搅拌转速(r/min)	D 烫漂时间(min)
1	1.00	40	50	3
2	1.50	45	100	5
3	2.00	50	150	7

1.2.9 白胡椒品质比较 按照正交实验优化后的条件进行酶法搅拌脱皮,得到的白胡椒与1.2.2水沤法浸泡10 d和1.2.6酶法浸泡72 h得到的白胡椒进行脱皮率、色泽、香味、胡椒碱含量比较,每组进行3次,取平均值。

1.3 数据分析

使用Origin 6.0进行作图,使用SPSS 17.0进行差异性显著性检验($\alpha=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 酶液配比实验结果

两种酶液复配后,经过72 h的浸泡对胡椒脱皮的效果见表2,由表2可以看出,两种酶液复配后的脱皮效果明显优于单独使用的脱皮效果,有较好的协同作用。果胶裂解酶又称为果胶酸反式消除酶,其主要功能是在果实成熟过程中参与果胶结构的裂解,以

达到果实软化的目的^[21]。植物水解酶主要是β-葡聚糖酶、半纤维素酶等降解细胞壁纤维素的一类酶。两种酶复合使用，既能够降解胡椒果皮内的果胶，降低果胶分子之间的交联度，又对其细胞壁的部分纤维素成分有明显的水解作用，因此对果皮的软化作用显著。表2显示当果胶裂解酶与植物水解酶液的配比以3:2时，脱皮率最高，因此，选用果胶裂解酶与植物水解酶液的配比为3:2。

表2 复合酶液配比实验结果

Table 2 Results of proportioning for the compound Pectate lyase and the plant hydrolyzed-enzyme solutions

实验号	配比	果胶裂解酶 (mL)	复合植物水解酶液 (mL)	脱皮率 (%)
1	5:0	20.0	0	59.3±0.4
2	4:1	16.0	4.0	78.3±0.3
3	3:2	12.0	8.0	81.2±0.4
4	2.5:2.5	10.0	10.0	71.9±0.3
5	2:3	8.0	12.0	74.6±0.5
6	1:4	4.0	16.0	66.4±0.4
7	0:5	0	20.0	32.9±0.4
8	0:0	0	0	0

2.2 烫漂时间对新鲜胡椒脱皮效果的影响

烫漂对胡椒脱皮的效果见图1,从图1可以看出,烫漂时间对新鲜胡椒脱皮效果和色泽有较大影响,烫漂时间越长,脱皮率明显增加,3 min后增加平缓;L值先是逐步增加,由暗淡变为明亮,后又急剧变暗,3~7 min内L值变化缓慢,7 min后急剧降低。赖晓霞^[22]对鲜胡椒经过50 ℃热水浸泡20 min后,进行固态发酵脱皮,较不预处理明显提高了脱皮效果,脱皮时间缩短至60 h,色泽好,其不足是脱皮时间长。烫漂可以破坏果皮的结构,让果皮之间的连接变得松散,一方面可以加快果皮的软化,促进酶液更好渗透,另一方面可以让果皮的多酚氧化酶钝化失活,抑制褐变反应发生,保持白胡椒的色泽。烫漂处理3 min以下,脱皮率低,色泽暗而黑,原因可能是烫漂时间短,果皮下组织细胞之间的连接破坏程度小,也没有达到钝化酶的目的,搅拌过程中,果皮内的多酚氧化物和多酚氧化酶充分接触,褐变反应明显,而烫漂3 min后大部分多酚氧化酶已经失活,抑制了褐变反应发

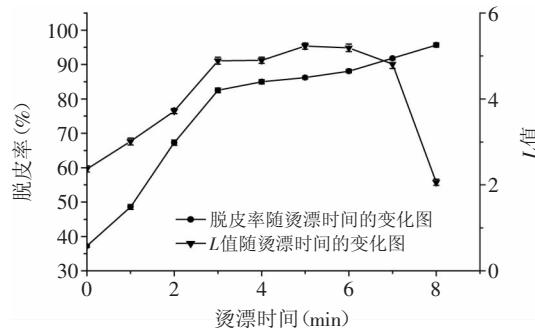


图1 烫漂时间对胡椒脱皮效果的影响

Fig.1 Influence of blanching time on decortication efficiency

生,白胡椒色泽显得灰白而明亮,当烫漂5 min时,L值最大。烫漂8 min变暗的原因可能是由于烫漂时间过长,胡椒淀粉糊化,而使白胡椒内部成分发生了明显的改变。因此,综合脱皮率和L值效果,新鲜胡椒烫漂预处理时间以5 min为最优。

2.3 复合酶液浓度对新鲜胡椒脱皮效果的影响

复合酶液的浓度对新鲜胡椒的脱皮效果见图2。从图2可以看出,不加复合酶液,新鲜胡椒脱皮效率最低,脱皮率仅13.8%;而随着复合酶液浓度添加,脱皮率急剧增加,酶液浓度高于1.5%以上,脱皮率均在92.7%以上,当复合酶液浓度继续增加时,新鲜胡椒脱皮效率增加不明显,而随着酶液浓度上升,复合酶液经济成本也增加,综合考虑实际情况,选择复合酶液浓度以1.5%为宜。

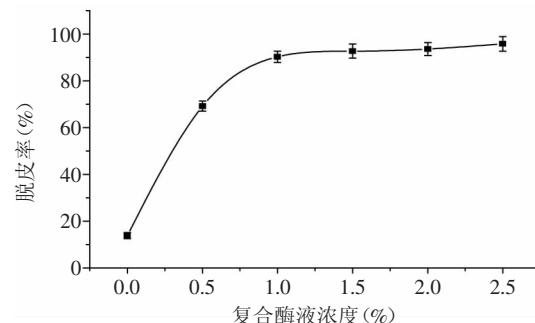


图2 复合酶液浓度对胡椒脱皮效果的影响

Fig.2 Influence of enzyme concentrationon on decortication efficiency

2.4 温度对新鲜胡椒脱皮效果的影响

温度对新鲜胡椒脱皮效果见图3,从图3可以看出,随着温度上升,脱皮率逐步提高,当温度达到45 ℃时,脱皮率达到最高值96.3%,而当脱皮温度超过45 ℃后,脱皮率呈现下降趋势。生物酶活力受温度影响明显,宋国辉^[13]应用酶法进行芝麻脱皮时,50 ℃为酶活力最佳温度。胡椒脱皮效果图3显示45 ℃为复合酶液活力最佳温度,低于45 ℃,酶的活力没有充分激活,高于45 ℃时,则抑制了复合酶液的活性,都会降低胡椒的脱皮率,因此酶法搅拌脱皮温度以45 ℃为宜。

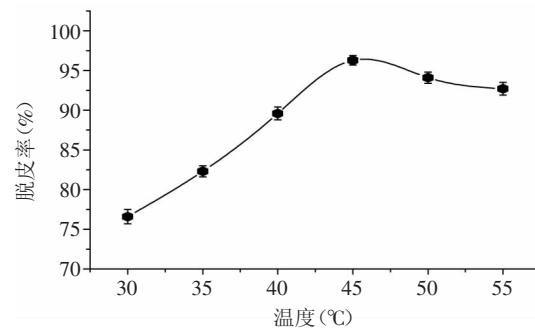


图3 温度对胡椒脱皮效果的影响

Fig.3 Influence of temperature on decortication efficiency

2.5 搅拌转速对新鲜胡椒脱皮效果的影响

搅拌转速对新鲜胡椒的脱皮效果见图4,从图4

可以看出,静置不搅拌3 h时,完全不脱皮,增加转速有助于提高脱皮率,当转速超过100 r/min时,脱皮率增加优势不明显。当由100 r/min升高到250 r/min时,脱皮率由92%增加为97.2%,脱皮率增加的幅度小。在实际脱皮过程中,转速越快,振动幅度大,耗能越高,电机极易发热,因此考虑到实际需要及安全因素,搅拌转速以100 r/min为宜。

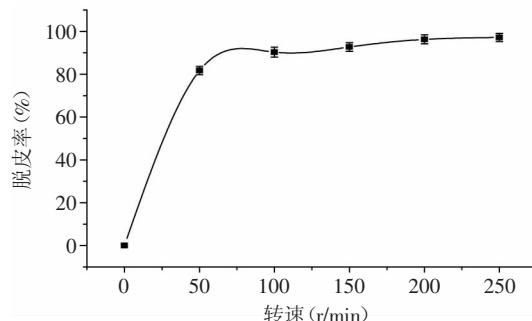


图4 搅拌转速对胡椒脱皮效果的影响

Fig.4 Influence of agitation speed on decortication efficiency

2.6 正交实验优化

表3为正交实验的设计方案及实验结果,由表3可知,最佳组合条件为A₃B₂C₃D₂,即复合酶液浓度为2.0%,烫漂时间为5 min、温度为45 ℃,转速为150 r/min。表4为正交实验方差分析结果,可以看出,A、B、C和D因素对胡椒脱皮率都有显著性影响($p<0.05$),影响脱皮率的主次因素依次是复合酶液浓度>烫漂时间>脱皮温度>搅拌转速,这与表4方差分析结果一致。经验证,由表5知脱皮率为97.6%,高于正交实验各组脱皮率结果。

2.7 不同方式脱皮后白胡椒品质比较结果

表5是三种不同脱皮方式得到白胡椒的品质评价结果,通过比较得出,酶法搅拌脱皮不仅脱皮时间

表3 正交实验设计及结果

Table 3 Orthogonal array design for the optimization of pepper decortication

实验号	A	B	C	D	脱皮率(%)
1	1	1	1	1	70.7±0.57
2	1	2	2	2	91.6±0.36
3	1	3	3	3	85.3±0.40
4	2	1	2	3	92.6±0.22
5	2	2	3	1	93.8±0.44
6	2	3	1	2	90.7±0.34
7	3	1	3	2	95.2±0.33
8	3	2	1	3	94.6±0.29
9	3	3	2	1	89.7±0.25
k ₁	82.53	86.17	85.33	84.73	
k ₂	92.37	93.33	91.30	92.50	
k ₃	93.17	88.57	91.43	90.83	
R	10.63	7.17	4.87	7.77	
较优水平	A ₃	B ₂	C ₃	D ₂	

短,脱皮率高,而且白胡椒的L值最大,色泽最明亮,香味浓郁,无异臭味,酶法搅拌与浸泡法相比,快速脱皮胡椒碱含量为5.1%,略高于传统浸泡法胡椒碱4.7%含量。可见酶法搅拌工艺不仅脱皮时间短,保持白胡椒的香味,而且不影响胡椒碱的含量。

3 结论

采用果胶裂解酶和植物水解酶液复配,辅助搅拌方法,脱皮辅液pH调节为3.0~3.5,对新鲜胡椒进行脱皮,果胶裂解酶和植物水解酶以体积比3:2复配最优。以胡椒脱皮率和白胡椒L值作为考察指标,在单因素实验的基础上,通过正交实验对酶法搅拌脱皮工艺进行优化,最终得到鲜胡椒酶法搅拌脱皮的工艺为:新鲜胡椒烫漂5 min后,放入pH为3.0~3.5的脱皮辅液中,温度调节至45 ℃后,添加复合酶液的

表4 正交实验结果方差分析
Table 4 Variance analysis of orthogonal test results

差异来源	离均差平方和	自由度	均方差	F值	显著性
校正模型	1397.879	8	174.735	284.379	0.000
截距	215346.951	1	215346.951	350474.243	0.000
A	640.794	2	320.397	521.442	0.000
B	240.667	2	120.334	195.841	0.000
C	215.614	2	107.807	175.454	0.000
D	300.803	2	150.401	244.776	0.000
误差	11.060	18	0.614		
总计	216755.890	27			
校正的总计	1408.939	26			

表5 三种脱皮方式的白胡椒品质比较
Table 5 Comparation on quality of white pepper by three kinds of decortication ways

实验号	脱皮时间	脱皮率(%)	L值	气味	胡椒碱(%)
酶法搅拌脱皮白胡椒	3h	97.6	5.12	香味浓,无臭味	5.1
复合酶液浸泡脱皮	3d	81.2	5.07	香味浓,无臭味	4.9
水沤法脱皮白胡椒	10d	95.1	4.08	有淡淡的香味和异臭味	4.7

体积(L)为新鲜胡椒质量(kg)的2.0%，调节转速为150 r/min，搅拌3 h，经浮选去渣，55 ℃干燥后得到白胡椒。经验证该优化工艺所得胡椒脱皮率为97.6%，明显高于酶液浸泡和水沤法的脱皮率，脱皮时间明显缩短，且香味浓郁，色泽亮白，不具有水沤法的异臭味，对胡椒碱的含量没有影响，可以大幅度提高胡椒脱皮效率，便于工业化生产。

参考文献

- [1] Ahmad, Fazal H, Abbasi B. H et al. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper)[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, 2(3):S1945–1953.
- [2] Dawid C, Henze A, Frank O, et al. Structural and Sensory Characterization of Key Pungent and Tingling Compounds from Black Pepper(*Piper nigrum* L.)[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(11):2884–2895.
- [3] Bagheri H, Abdul Manap M Y B, Solati Z Antioxidant activity of *Piper nigrum* L. essential oil extracted by supercritical CO₂ extraction and hydrodistillation[J]. Talanta, 2014, 121:220–228.
- [4] Gu FL, Tan LH, Wu HS, et al. Analysis of the blackening of green pepper(*Piper nigrum Linnaeus*) berries[J]. Food Chemistry, 2013, 138:797–801.
- [5] HAO CY, FAN R, M.C. Ribeiro, et al. Modeling the Potential Geographic Distribution of Black Pepper(*Piper nigrum*) in Asia Using GIS Tools[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2012, 11(4):593–599.
- [6] 海南省统计局. 海南省统计年鉴2013[M]. 中国统计出版社, 2014.
- [7] 魏来, 初众, 宗迎, 等. 白胡椒微波干燥特性及数学模型研究[J]. 热带作物学报, 2013, 34(5):984–988.
- [8] Steinhaus M, Schieberle P. Role of the fermentation process in off–odorant formation in white pepper: on–site trial in Thailand [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53:6056–6060.
- [9] Chithra G, MATHEW S, DEEPTHI C. Performance evaluation of a power operated decorticator for producing white pepper from black pepper[J]. Journal of Food Process Engineering, 2011, 34(1):1–10.
- [10] Vijayan V, Kumar A, John Z T. Isolation, characterization and identification of pericarp degrading bacteria for the production of off–odour free white pepper from fresh berries of *Piper nigrum* L. [J]. J Appl Microbiol, 2014, 116(4):890–902.
- [11] Thankaman VL, Giridhar RN. Fermentative production of white pepper using indigenous bacterial isolates[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2004, 9(6):435–439.
- [12] 张平, 张佳会, 李彬煌, 等. 芝麻复合生物酶脱胶方法的研究[J]. 武汉纺织大学学报, 2014, 27(3):5–7.
- [13] 宋国辉, 黄纪念, 芦鑫, 等. 芝麻酶法脱皮工艺的优化[J]. 食品科学, 2013, 34(18):28–31.
- [14] 袁洪燕, 单杨, 李高阳, 等. 黄桃酶法去皮的技术研究[J]. 中国食品学报, 2010, 10(1):151–155.
- [15] 单杨, 李高阳, 张菊华, 等. 柑橘生物酶法脱囊衣技术研究[J]. 食品科学, 2009, 30(3):141–144.
- [16] Gopinathan K M, Manilal V B. Pectinolytic decortication of pepper(*Piper nigrum* L.)[J]. Food Science and technology , 2004, 41(1):74–77.
- [17] 窦志浩, 张容鹤, 冯建成, 等. 胡椒果皮高效脱胶菌的筛选、鉴定及初步应用[J]. 中国调味品, 2011, 4:51–55.
- [18] 熊海波, 侯源源, 刘四新, 等. 胡椒经地衣芽孢杆菌发酵脱皮过程中的主要酶系及pH变化[J]. 食品科学, 2011, 32(15):205–208.
- [19] 章银梅, 李心治, 黄凡, 等. 枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)产果胶酶的研究. II菌种选育、鉴定及其酶学特征分析[J]. 工业微生物, 2000, 30(1):25.
- [20] 祝美云, 殷贺中, 梁丽松, 等. 碱液法优化取出榛子种皮的工艺[J]. 中国食品学报, 2014, 14(5):107–115.
- [21] 佟兆国, 王飞, 高志红, 等. 果胶降解相关酶与果实成熟软化[J]. 果树学报, 2011, 28(2):305–312.
- [22] 赖晓霞, 刘四新, 何晓磊, 等. 胡椒预处理方式对胡椒脱皮的影响[J]. 热带农业工程, 2012, 36(3):28–32.

(上接第213页)

15:1757–1764.

- [16] Bjellqvist B, Hughes G J, Pasquali C, et al. The focusing positions of polypeptides in immobilized pH gradients can be predicted from their amino acid sequences[J]. Electrophoresis, 1993, 14:1023–1031.
- [17] Bjellqvist B, Basse B, Olsen E, et al. Reference points for comparisons of two-dimensional maps of proteins from different human cell types defined in a pH scale where isoelectric points correlate with polypeptide compositions[J]. Electrophoresis, 1994, 15:529–539.
- [18] Koscielak T, Jones D T. De novo structure prediction of globular proteins aided by sequence variation-derived contacts [J]. PloS one, 2014, 9(3):e92197A.
- [19] The UniProt Consortium. Activities at the universal protein resource(UniProt)[J]. Nucleic Acids Research, 2014, 42:191–198.
- [20] Sievers F, Wilm A, Dineen D, et al. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega[J]. Molecular systems biology, 2011, 7:539.
- [21] 庞洁, 周娜, 刘鹏, 等. 罗伊氏乳杆菌的益生功能[J]. 中国生物工程杂志, 2011, 31(5):131–137.
- [22] Muzny D, Qin X, Buhay C, et al. The complete genome of *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 / SD2112[DB]. GenBank databases.
- [23] Schulz G E, Schirmer R H. Principles of protein structure in “Springer advanced texts in chemistry”[M]. New York: Springer-Verlag, 1990.
- [24] Branden C, Tooze J. Introduction to protein structure [M]. New York: Garland Pub.
- [25] Nguyen T H, Splechtna B, Yamabhai M, et al. Cloning and expression of the β-galactosidase genes from *Lactobacillus reuteri* in *Escherichia coli*[J]. Journal of Biotechnology, 2007, 129: 581–591.