

脱酰胺处理对不同谷物蛋白体外消化率的影响

龙佩, 张晖, 王立, 钱海峰, 齐希光
(江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

摘要: 脱酰胺处理是蛋白质改性一种方式, 经脱酰胺后, 蛋白的理化性质和营养性质都会发生改变。本实验研究了酸法脱酰胺处理对大米、小麦、玉米蛋白体外消化率的影响, 并从蛋白质的溶解度、表面疏水性、巯基和二硫键含量以及超微结构等理化性质方面来探究脱酰胺影响体外消化率的作用机理。试验结果表明: 随着脱酰胺程度的加大, 大米蛋白、小麦蛋白和玉米蛋白质巯基和二硫键之间的相互转化不明显($P < 0.05$), 两者的含量基本维持不变; 三种谷物蛋白的溶解度在胃蛋白酶最适 pH 1.5 和胰蛋白酶最适 pH 7 的条件下逐渐增大; 蛋白质的表面疏水性随脱酰胺度的增加逐渐减小; 体外消化率也分别从原来的 66.5%、79.5% 和 78.5% 提高到了 79.5%、89.0%、和 89.2%, 超微结构从原来的致密聚集变得多孔疏松, 更利于蛋白质的消化。

关键词: 蛋白; 脱酰胺; 体外消化率

文章篇号: 1673-9078(2015)9-162-168

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.9.027

Effect of Deamination on the *in vitro* Digestibility of Grain Proteins

LONG Pei, ZHANG Hui, WANG Li, QIAN Hai-feng, QI Xi-guang

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Deamination is a method used to modify the physicochemical and nutritional properties of proteins. Here the effect of deamination using an acid method on the *in vitro* digestibility of rice, wheat, and corn proteins was studied. Additionally, the mechanism underlying the effects of the deamination on the *in vitro* digestibility of proteins in three types of grains was explored in terms of physicochemical properties including solubility, surface hydrophobicity, sulfhydryl and disulfide content, and ultrastructure. The results showed that with an increasing degree of deamination, the difference in the inter-conversion between sulfhydryl and disulfides in the proteins of the three types of grains (rice, wheat, and corn) was not significant ($p < 0.05$), and the sulfhydryl and disulfide contents were generally unchanged. Protein solubility in the three types of grains at the optimum pH for pepsin (pH = 1.5) and trypsin (pH = 7.5) was slightly increased; however, surface hydrophobicity slightly decreased with an increasing degree of deamination. The *in vitro* digestibility of rice, wheat, and corn proteins increased from 66.5% to 79.5%, 79.5% to 89.0%, and 78.5% to 89.2%, respectively. Meanwhile, the protein ultrastructure, which was originally dense and compact, became porous and loose, which was more conducive to digestion.

Key words: protein; deamination; *in vitro* digestibility

蛋白质的消化率是指人体从蛋白质中吸收的氮占摄入氮的比值, 反映了食物蛋白质被消化酶分解、吸收的程度^[1], 是评价食品营养价值的重要指标之一, 提高蛋白的体外消化率对于提高蛋白的营养价值有重要意义。目前对蛋白质消化的研究方法主要有体内消化法和体外消化法。体内法复杂、时间长、费用高; 体外消化率测定法是模拟蛋白质在人体内消化过程的一种方法, 该法不仅可以直接预测食物蛋白质的营养价值, 还可以提供各种蛋白质在胃、肠内消化和吸收的情况。这种方法不需要活体动物, 而且与体内消化

收稿日期: 2014-11-17

基金项目: 国家“十二五”科技攻关项目(2012BAD37B08-3); 863 计划(2013AA102203-7); 国家科技支撑计划项目(2006BAD27B09; 2006BAD04A12)

作者简介: 龙佩(1990-), 女, 硕士研究生在读, 研究方向: 谷物蛋白

通讯作者: 张晖(1966-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 谷物蛋白

率测定法有着很高的相关性, 可以人为准确地控制实验条件, 不同实验室间测定的结果可比性好, 测定效率和稳定性高, 成本低。体外蛋白质消化率测定法主要包括两个步骤, 一是先利用蛋白酶水解蛋白质, 然后再通过测定蛋白质的水解度来计算蛋白质的消化率或采用其它方法对蛋白质的消化程度进行评价^[2]。

谷物蛋白在人类生活中占有重要地位, 主要作为动物饲料, 在蛋白质的全部需要量中, 谷物蛋白起了最重要的作用。但是, 由于有些谷物蛋白, 如玉米、大米、小麦等消化率较低, 蛋白利用率不高, 导致原料谷物资源的浪费。目前蛋白质的改性方法主要有酰基化改性、去酰胺改性、糖基化改性、磷酸化改性、烷基化改性和亲脂化改性等。其中, 酸法脱酰胺改性是使蛋白质分子中的羰基上 O 和 H 直接发生质子化作用, 生成羧酸根离子, 使蛋白的氨基酸残基和多肽

链发生某种变化,引起蛋白的大分子空间结构和理化性质的改变,从而获得较好功能特性和营养特性^[3]。因此,本实验采用酸法对大米蛋白、玉米蛋白和小麦面筋蛋白进行脱酰胺改性,期望通过去酰胺作用来提高蛋白质的体外消化率,从而改善蛋白质的利用率低,原料浪费的问题,拓展蛋白质的应用范围。

1 材料与amp;方法

1.1 原料与amp;仪器

小麦面筋蛋白:2013年5月购于江苏南京维景有限公司;大米蛋白:2013年5月购于江西金农米业集团;玉米蛋白:实验室自制;胃蛋白酶:购于Sigam;胰蛋白酶和其他常用试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

Hitachi 荧光光谱仪;Su1510 扫描电子显微镜:日本日立株式会社;恒温磁力搅拌器;微量弥散皿;消化炉、改良式微量凯氏定氮仪、水浴恒温振荡器、分光光度计、低速自动平衡离心机、冷冻干燥机、超低温冰箱。

1.2 方法

1.2.1 玉米蛋白的制备

将脱脂后的玉米胚芽粕按 1:10 的料液比混匀后,用 2 mol/L 的 NaOH 调节 pH 至 10,55 °C 下浸提 120 min 后,4000 r/min 离心 30 min,取上清液调节 pH 至 4.5,离心分离,弃上清液,取沉淀经两次水洗(pH 4.5)离心后,沉淀分散于适量的去离子水中,调节 pH 至 7,冷冻干燥后制得玉米蛋白粉。

1.2.2 原料的基本成分分析

水分的测定:GB 5009.3-2010;粗蛋白含量的测定:GB 5009.5-2010(微量凯氏定氮法);粗脂肪的测定:GB 5512-2008 索氏抽提法;灰分的测定:GB 5009.4-2010。

1.2.3 酸法脱酰胺谷物蛋白的制备

称取 10 g 蛋白溶于 100 mL 不同浓度的盐酸溶液中(0.05 mol/L、0.1 mol/L、0.15 mol/L、0.2 mol/L、0.25 mol/L),于 70 °C 恒温磁力搅拌器上反应 3~4 h,然后迅速在冰浴中冷却,用 1 mol/L、5 mol/L 的 NaOH 调节 pH 至 7.0,4 °C 条件下,透析 24 h,冻干备用,未改性的为对照。

1.2.4 蛋白质脱酰胺度的测定

样品脱酰胺度的测定采用微量弥散皿法^[5],稍作改动,具体方法如下:

样品完全脱酰胺产生的氨的测定:准确称取 0.25

g 蛋白质样品,加入 5 mL 2 mol/L 的 HCl 于硬质玻璃管中,抽真空封口,在 115~125 °C 下水解 4 h,水解完毕后取出,冷却后打开玻璃管,用 20 g/L 的硼酸吸收氮并测定酰胺氮含量。

样品脱酰胺过程中产生的氨的测定:将 3 mL 硼酸加入微量弥散皿中央,1 mL 样品加入皿外围,再将水溶性阿拉伯胶均匀涂抹于皿边缘,盖上玻璃盖(留一定空隙),通过留出的空隙向已加入样品的皿外围中加入饱和 NaOH 溶液 3 mL,随后立即封上玻盖避免漏气,在室温下平放 12 h 后,用 0.02 mol/L 的标准 HCl 溶液滴定至混合指示剂终点。

$$\text{脱酰胺程度}(\%) = \frac{\text{样品脱酰胺产生的氨}}{\text{样品完全脱酰胺产生的氨}} \times 100$$

1.2.5 蛋白质水解度的测定

参照 Chi^[6]的方法。

1.2.6 蛋白质体外消化率的测定

蛋白质体外消化率的测定采用胃-胰蛋白酶两步消化法^[7]。具体方法如下:准确称取

0.3 g 左右的蛋白冻干粉分散于 10 mL pH 为 1.5 的溶液中,将蛋白悬液与新鲜配置的胃蛋白酶分别置于 37.5 °C 水浴中预热 10 min,然后按照酶:底物(m/m)=1:10 的量,将胃蛋白酶溶液加入至预热好的蛋白溶液中,使最终蛋白浓度为 10 mg/mL。在 37.5 °C 条件下水浴震荡酶解 2 h。酶解完成后,用 2 mol/L NaOH 调整 pH 至 7.5,钝化胃蛋白酶活性,再将预热好的新鲜配置胰蛋白酶溶液 10 mL 加入至经胃蛋白酶消化后的溶液中,37.5 °C 水浴震荡酶解 2 h 后煮沸 10 min 灭酶,加入等体积 10% TCA 沉淀蛋白 1 h,10000 r/min 离心 30 min,取沉淀,沉淀进行凯氏定氮^[7~9]。

$$\text{体外消化率}(\%) = \frac{\text{样品蛋白含量} - \text{沉淀蛋白含量}}{\text{样品蛋白含量}} \times 100$$

1.2.7 蛋白质溶解度的测定

称取 0.1 g 蛋白溶于不同 pH 的 10 mL 磷酸盐缓冲液中,磁力搅拌 30 min 后,3000 r/min 离心 30 min,取 1 mL 上清液,Folin 酚法^[11]测定蛋白质含量。

1.2.8 蛋白质表面疏水性的测定参考 Wagner 的方法^[13]

1.2.9 游离巯基含量与二硫键含量的测定

游离巯基含量的测定^[12]:称取 0.1 g 蛋白溶于 10 mL 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液中(pH=7.0),取该溶液 3 mL,加入 3 mL 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH=7.0,含有 1 mmol/L 的 EDTA 和 1 g/100 mL 的 SDS),再加入 0.1 mmol/L 的 DNTB,震荡摇匀后 25 °C 水浴 1 h,10000 r/min 离心 15 min,以不加蛋白液的为对照,取上清液于 412 nm 处测定吸光度。以 13600 M⁻¹cm⁻¹消

光系数计算巯基含量。计算公式如下:

$$-SH(\mu\text{mol}/\text{g}) = 73.53 \times A_{412} \times D/C$$

式中: A_{412} : 412 nm 处的吸光度, D: 稀释因子, C: 样品浓度(mg/mL)。

总巯基的测定: 取 1 mL 上述蛋白溶液, 加入 0.1 mL 的 β -巯基乙醇和 4 mL 的脲-盐酸胍溶液 (8 mol/L 脲+5 mol/L 盐酸胍用磷酸盐缓冲液配成), 25 °C 放置 1 h 后加入 10 mL 12% 的 TCA 再水浴 1 h, 然后 5000 r/min 离心 10 min, 沉淀分散在 10 mL 的 TCA 中, 继续 5000 r/min 离心 10 min, 如此重复 2 次, 除去 β -巯基乙醇。将沉淀溶解在 10 mL 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液 (pH=7.0, 含有 1 mmol/L 的 EDTA 和 1 g/100 mL 的 SDS), 再加入 0.1 mmol/L 的 DNTB, 震荡摇匀后 25 °C 水浴 1 h, 10000 r/min 离心 15 min, 以不加蛋白液的为对照, 取上清液于 412 nm 出测定吸光度。

$$\text{二巯键含量-S-S-}(\mu\text{mol}/\text{g}) = (\text{N}_2 - \text{N}_1)/2$$

式中: N_1 : 游离巯基含量; N_2 : 总巯基含量。

1.2.10 扫描电子显微镜观察 (SEM)

用扫描电子显微镜观察样品的超微结构。将脱酰

胺处理的蛋白质固定于样品台上, 在离子溅射仪上真空干燥、铂喷镀后, 于扫描电子显微镜上观察, 拍样品图。

1.2.11 数据分析

采用 Origin 8.6 软件进行数据统计分析和作图, 用 SPSS 进行显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 原料的基本成分分析

表 1 三种谷物蛋白的基本成分

Table 1 Essential protein components of the three types of grains

成分	蛋白质/%	脂肪/%	水分/%	灰分/%
小麦	85.9	2.57	4.35	3.84
玉米	79.5	6.65	5.32	1.41
大米	82.5	1.75	3.45	2.66

2.2 盐酸浓度对蛋白质脱酰胺度和水解度的影响

表 2 盐酸浓度对谷物蛋白脱酰胺度的影响

Table 2 Effect of hydrochloric acid concentration on the degree of deamination of the grain proteins

盐酸浓度/(mol/L)	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25
小麦脱酰胺度/%	6.15±2.62 ^a	9.30±2.86 ^a	19.31±2.27 ^b	24.45±3.14 ^b	32.28±3.94 ^c
玉米脱酰胺度/%	1.87±0.17 ^a	5.66±0.74 ^a	12.10±2.66 ^b	18.13±3.97 ^c	26.0±3.01 ^d
大米脱酰胺度/%	1.54±0.14 ^a	5.56±0.67 ^a	11.46±2.54 ^b	17.96±2.81 ^c	22.43±3.11 ^d

注: 表中不同字母代表相互之间有显著性差异 ($P < 0.05$)。

表 3 盐酸浓度对谷物蛋白水解度的影响

Table 3 Effect of hydrochloric acid concentration on the degree of hydrolysis of the grain proteins

盐酸浓度/(mol/L)	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25
小麦水解度/%	0.18±0.07 ^a	0.49±0.11 ^{ab}	0.70±0.21 ^b	1.23±0.33 ^c	1.56±0.31 ^c
玉米水解度/%	0.19±0.05 ^a	0.42±0.13 ^{ab}	0.78±0.19 ^b	1.21±0.31 ^c	1.49±0.30 ^c
大米水解度/%	0.13±0.06 ^a	0.41±0.10 ^{ab}	0.68±0.23 ^b	1.19±0.25 ^c	1.46±0.29 ^c

注: 表中不同字母代表相互之间有显著性差异 ($P < 0.05$)。

表 2 和表 3 分别为三种蛋白在不同盐酸浓度的脱酰胺处理下脱酰胺度和水解度 DH 的变化。从表 2 中可以看出, 三种蛋白的脱酰胺度和肽键水解度均随盐酸浓度的升高不断增大。由于小麦面筋蛋白含有大量的谷氨酰胺(Gln)和脯氨酸(Pro)等酰胺基团, 更容易被盐酸作用而脱酰胺^[4], 因此, 相同浓度的盐酸作用下, 小麦面筋蛋白比玉米蛋白和大米蛋白的脱酰胺度大, 当盐酸浓度为 0.25 mol/L 时, 小麦面筋蛋白的脱酰胺度达到了 32.28%, 而玉米蛋白和大米蛋白的脱酰胺度为 26.0% 和 22.43%。

由表 3 可知蛋白质的水解度 DH 变化很小, 差异

不显著 ($P > 0.05$) 即使在盐酸浓度达到 0.25 mol/L 时, 三种蛋白的水解度也只在 1.5% 左右, 这与孔祥珍^[4]等人研究的盐酸对小麦面筋蛋白脱酰胺处理后水解度 DH 很小是一致的。这说明在酸法脱酰胺改性中, 酸的水解作用很小, 主要是脱酰胺作用, 使蛋白质分子中羧基数目增加, 引起蛋白质功能性质和营养性质的改变。

2.3 脱酰胺处理对蛋白质体外消化率的影响

图 1 为三种不同谷物蛋白在经过脱酰胺处理后体外消化率的变化。由图 1 可知, 脱酰胺处理能在一定

程度上提高小麦、大米和玉米蛋白的体外消化率,并且随着脱酰胺程度的升高,体外消化率也逐渐增大。未经脱酰胺处理时,大米蛋白的体外消化率仅为66.5%,玉米蛋白和小麦面筋蛋白的体外消化率为78.5%和79.5%。采用0.25 mol/L的盐酸进行脱酰胺处理后,大米蛋白、玉米蛋白和小麦面筋蛋白的体外消化率提高到了79.5%、89.2%和89.0%。这与易翠平^[24]研究的脱酰胺处理对大米蛋白营养品质的影响相似。说明用盐酸对蛋白质进行脱酰胺处理不仅没有破坏蛋白质的营养性能,反而有利于谷物蛋白的消化,在一定程度上提高了蛋白质的营养品质。

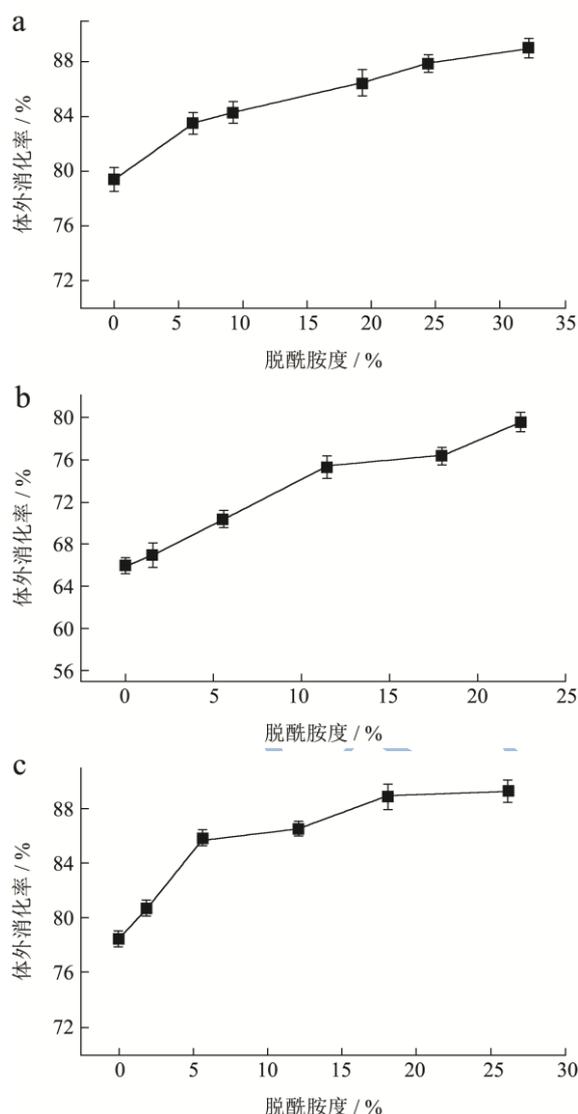


图1 脱酰胺处理对谷物蛋白体外消化率的影响

Fig.1 Effect of deamidation on the *in vitro* digestibility of the grain proteins

注: a: 小麦面筋蛋白, b: 大米蛋白, c: 玉米蛋白。

2.4 脱酰胺处理对蛋白质溶解度的影响

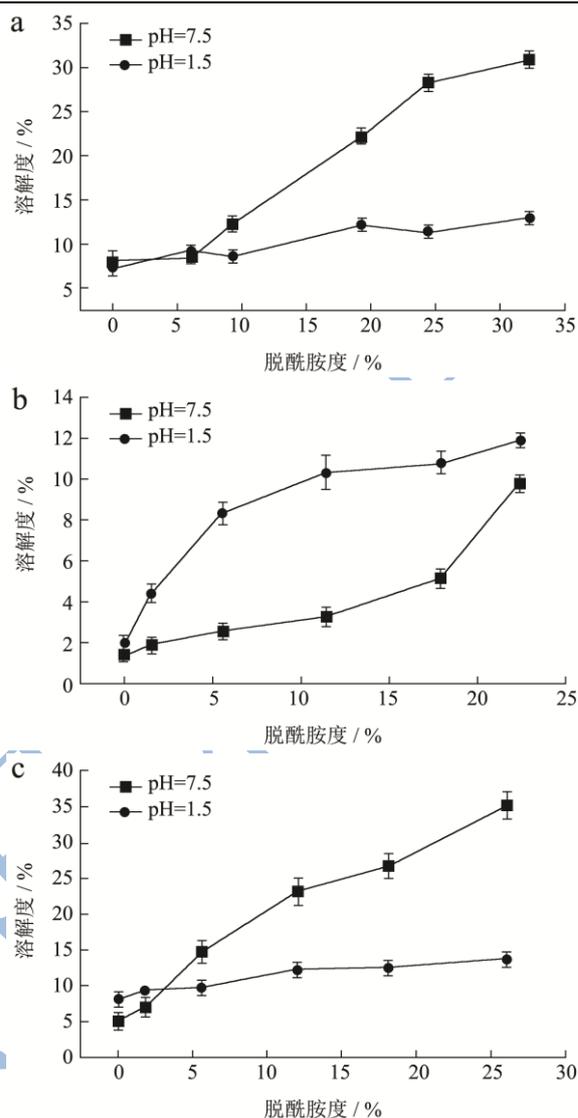


图2 脱酰胺处理对谷物蛋白溶解度的影响

Fig.2 Effect of deamidation on the solubility of the grain proteins

注: a: 小麦面筋蛋白, b: 大米蛋白, c: 玉米蛋白。

蛋白质的溶解度是影响蛋白质体外消化率的重要因素。由图2可见,谷物蛋白在胃蛋白酶的最适pH 1.5和胰蛋白酶最适pH 7.5的条件下的溶解度均随脱酰胺程度的加大而增大。这一方面可能是由于肽键的水解改善了蛋白的溶解性^[15]。但由表2可知三种蛋白的水解度DH都很小,因此主要是由于随着脱酰胺程度的增大,蛋白中大量不带电荷的极性天门冬酰胺和谷氨酰胺通过脱酰胺的作用,生成天冬氨酸和谷氨酸,使得蛋白质分子中羧基数目增加,蛋白表面负电荷增加,有利于胰蛋白酶S1结合袋中Asp残基的负电荷与底物肽链中P1端的负电荷相匹配^[16],从而提高胰蛋白酶的酶解效率。同时,脱酰胺还会使静电排斥作用增强、氢键作用减弱,从而引起蛋白质溶解度的增

大, 更有利于胃蛋白酶和胰蛋白酶对蛋白质的水解。

2.5 脱酰胺处理对蛋白质表面疏水性的影响

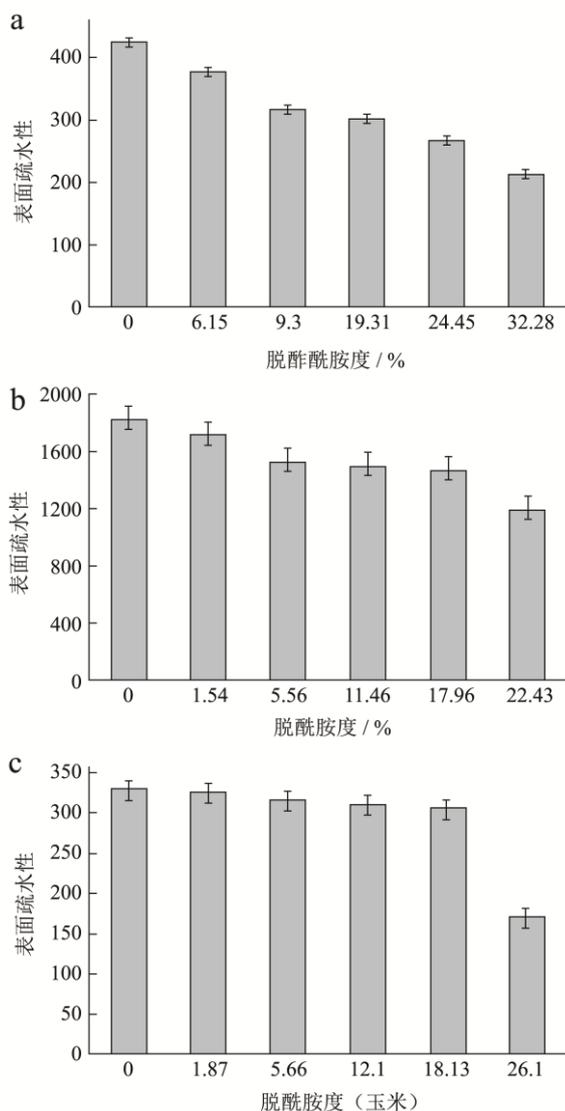


图3 脱酰胺处理对谷物蛋白表面疏水性的影响

Fig.3 Effect of deamidation on the surface hydrophobicity of the grain proteins

注: a: 小麦面筋蛋白, b: 大米蛋白, c: 玉米蛋白。

由图3可知, 在未经脱酰胺处理时, 大米蛋白的表面疏水性(1469)远远大于玉米蛋白(320)和小麦面筋蛋白(422), 说明大米蛋白的表面疏水基团比其他两种蛋白多, 这也是导致其溶解度低的主要原因^[23]。而酶解反应主要是发生在水环境中, 表面疏水性越大, 溶解度越低, 越难与酶接触发生酶解反应, 体外消化率就越低^[20], 因此, 大米蛋白在未经脱酰胺处理时, 体外消化率比另外两种蛋白的低很多。经过脱酰胺处理后, 随着脱酰胺度的加大, 蛋白质表面疏水性逐渐减小, 体外消化率变大。说明脱酰胺处理也可以通过影响蛋白的表面疏水性来提高其体外消化率。

2.6 脱酰胺处理对蛋白质二硫键和游离巯基含量的影响

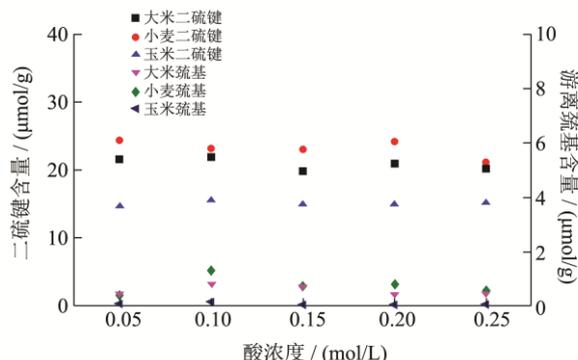
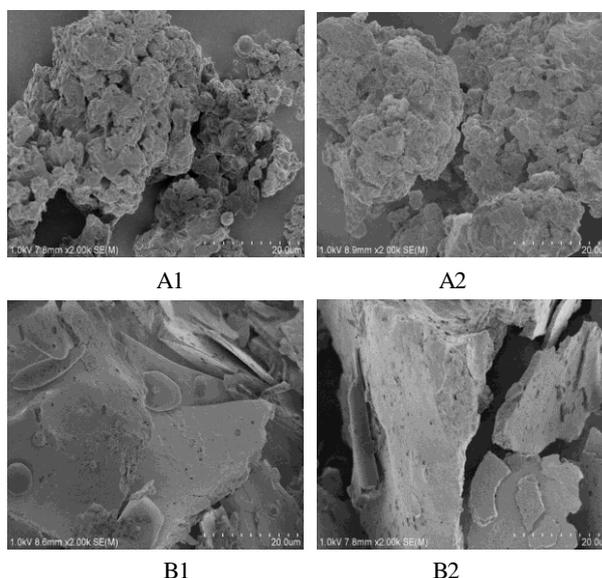


图4 脱酰胺处理对谷物蛋白二硫键和游离巯基含量的影响

Fig.4 Effect of deamidation on the -SS and -SH contents of the grain proteins

在蛋白质的改性过程中, 游离巯基与二硫键之间会发生相互转变^[19], 这种转变能引起蛋白质分子构像的变化^[22], 从而对体外消化率造成一定的影响。从图4表明, 脱酰胺处理后, 大米、玉米、小麦蛋白的二硫键与巯基之间的相互转变并不明显($P>0.05$), 谷物蛋白的二硫键含量维持在一定值范围内: 小麦蛋白的二硫键含量维持在 24 μmol/g 左右; 大米蛋白二硫键含量维持在 20 μmol/g 左右; 玉米蛋白二硫键含量较低, 在 15 μmol/g 左右。可以推出脱酰胺处理对蛋白二硫键含量变化影响不显著, 这与 Naotoshi^[17]和 Chiu^[18]研究的酸法脱酰胺改对面筋蛋白的二硫键变化没有显著影响的结果是一致的。

2.7 脱酰胺处理对蛋白质超微结构的影响



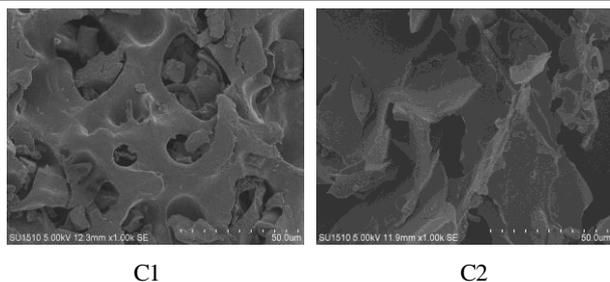


图5 不同蛋白扫描电镜图

Fig.5 Scanning electron microscopy images of different proteins subjected to deamination

注: A1: 未脱酰胺大米蛋白电镜; A2: 脱酰胺大米蛋白电镜; B1: 未脱酰胺玉米蛋白电镜; B2: 脱酰胺玉米蛋白电镜; C1: 未脱酰胺小麦面筋蛋白电镜; C2: 脱酰胺小麦面筋蛋白电镜。

由图5可知,经过脱酰胺处理后,蛋白质原来的致密结构开始变得疏松,由之前的聚集状变成了多孔片层状。图A1和A2对比可以看出脱酰胺处理对大米蛋白超微结构影响较小,这主要是由于大米蛋白分子自身结构非常致密,有很明显的聚集现象。但是当脱酰胺处理大米蛋白时,大米蛋白质结构仍然会开始变得松散,聚集逐渐解开;图B1和B2表明:玉米蛋白原来的块状结构在脱酰胺处理后开始变薄,接近于片层结构,表面出现细小的孔洞;图C1和C2表明:小麦蛋白在经过脱酰胺处理后,原本聚集致密的结构变成了疏松、很薄的片层结构。由此可以推断,脱酰胺处理使蛋白质的超微结构更加疏松多孔,可能暴露出更多的酶切位点^[21],增加了酶与蛋白质的接触面积,从而提高蛋白质的体外消化率。

3 结论

3.1 大米蛋白、小麦蛋白和玉米蛋白经脱酰胺后体外消化率分别从原来的66.5%、79.5%和78.5%提高到了79.5%、89.0%、和89.2%,并随脱酰胺程度的增大,体外消化率也逐渐增大。这表明脱酰胺处理对大米、小麦和玉米蛋白的体外消化率有显著影响。

3.2 影响蛋白体外消化率的因素很多,包括溶解度、表面疏水性、二级结构、二硫键等,脱酰胺改性对蛋白二硫键含量的变化没有显著影响($P>0.05$),说明脱酰胺改性不是通过二硫键改变来提高蛋白的体外消化率,而主要是通过降低蛋白质的表面疏水性、提高蛋白质的溶解度、并使蛋白质的超微结构从聚集变成疏松的结构等方面来使蛋白质的体外消化率提高。

参考文献

[1] Hegsted D M. Cereal Proteins [J]. Science. 1974, 4138: 788-

789

- [2] 孙敏杰,木泰华.蛋白质消化率测定方法的研究进展[J].食品工业科技,2011,2:11-19
SUN Min-jie, MU Tai-hua. Development of methods for the determination of protein digestility [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 2: 11-19
- [3] 姚玉静,杨晓泉,邱礼平.食品蛋白质化学改性研究进展[J].粮食与油脂,2006,7:10-12
YAO Yu-jing, YANG Xiao-quan, QIU Li-ping. Development of investigation on chemical modification of food proteins [J]. Cereals and Oils, 2006, 7: 10-12
- [4] 孔祥珍,周惠明.小麦面筋蛋白去酰胺改性的研究[J].食品科学,2004,12:47-49
KONG Xiang-zhen, ZHOU Hui-ming. Modification of Wheat Gluten by Deamination [J]. Food Science, 2004, 12: 47-49
- [5] Kato A, Tanaka A, Matsudomi N, et al. Deamination of food proteins by protease in alkaline pH [J]. Journal of Agricultural and Biological Chemistry, 1987, 35(2): 224-227
- [6] Chi YL, Cui M, Cui XJ, et al. Enzymatic hydrolysis of skin shavings for preparation of collagen hydrolysates with specified molecular weight distribution [J]. Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists, 2012, 1: 16-20
- [7] Liu Tong-Xun, MOU-Ming Zhao. Physical and chemical modification of SPI as a potential means to enhance small peptide contents and antioxidant activity found in hydrolysates [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010, 11: 677-683
- [8] Vile R M, Lands L C, Chan HM, et al. High hydrostatic pressure enhances whey protein digestibility to generate whey peptides that improve glutathione status in CFTR-deficient lung epithelial cells [J]. Molecular Nutrition and Food Research.2006, 11:1013-1029
- [9] 模拟胃肠液外源蛋白质消化稳定性 试验方法 农业部 869 号公告 2007
Simulation Protein Digestive Stability Using Exogenous Test Method the Agriculture Department Announcement No. 869 2007
- [10] Liao Lan, Liu Tong, Xun Zhao. Functional nutritional and conformational changes from deamidation of wheat gluten with succinic acid and citric acid [J]. Food Chemistry. 2010, 1: 123-130
- [11] Lemos D, Lawrence A L, Siccardi A J. Prediction of apparent protein digestibility of ingredients and diets by in vitro

- pH-stat degree of protein hydrolysis with species-specific enzymes for juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 2009, 319: 407-416
- [12] Beveridge T, Toma S J, Nakai S. Determination of SH-groups and SS-group in some food protein using Ellman's reagent [J]. *Journal of Food Science*, 1974, 1:48-51
- [13] Wagner JR, Sorgentini DA. Relation between solubility and surface hydrophobicity as an indicator of modifications during preparation processes of commercial and laboratory-prepared soy protein isolates [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 8:3159-3165
- [14] 吴向明, 雕鸿荪. 大豆蛋白去酰胺改性的研究[J]. *中国油脂*, 1996, 5:13-16
WU Xiang-ming, DIAO Hong-sha. Studies on soy protein delaminated modification [J]. *Food and Fermentation Industrie*, 1996, 5: 13-16
- [15] 李瑜, 庞凌云, 乔明武. 去酰胺作用对谷朊粉功能特性影响研究[J]. *粮食与油脂*, 2007, 6:26-27
LI Yu, PANG Ling-yun, Qiao Ming-wu. Effect of deamidation on functions of gluten [J]. *Cereals and Oils*, 2007, 6: 26-27
- [16] 赵红辉. 类黄酮与胰蛋白酶相互作用特性的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012
ZHAO Hong-hui. Interaction between flavonoids and trypsin characteristics research [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012
- [17] Naotoshi M, Kato A, Kobayashi K. Conformation changes and functional properties of acid-modified soy protein [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1985, 5: 1251-1256.
- [18] Chiu H, Wu S, Nakai WD, et al. Preparation and properties of acid-solubilized gluten [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1976, 24(03):504-510
- [19] Redman D G, Ewart J A. Disulphide Interchange in cereal proteins [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1967, 11:520-523
- [20] Duodu G, Taylor N, Belton S, et al. Factors affecting sorghum protein digestibility [J]. *Journal of Cereal Science*, 2003, 2: 117-131
- [21] 张海华, 朱科学, 周惠明. 超声波对小麦面筋蛋白结构的影响[J]. *中国农业科学*, 2010, 22:4687-4693
ZHANG Hai-hua, ZHU Ke-xue, ZHOU Hui-ming. Effect of ultrasonic on the structure of wheat gluten protein [J]. *Scientia Agricultura Sinica*. 2010, 22: 4687-4693
- [22] Masudomi N, Kato A, Kobayashi K. Conformation and surface properties of deamidated gluten [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1982, 6:1583-1586
- [23] Moskovitz Y, Srebnik S. Thermal stability limits of proteins in solution and adsorbed on a hydrophobic surface [J]. *Chem. Phys.*, 2012, 22: 8013-8022
- [24] 易翠平, 姚惠源. 酸法脱酰胺改性对大米蛋白功能特性及营养性质的影响[J]. *食品科学*. 2005, 3:79-82.
YI Cui-ping, YAO Hui-yuan. Acidic deamination study on functional and nutritional properties of rice protein [J]. *Food Science*, 2005, 3: 79-82