

酶法改性对玉米粉中蛋白结构变化的研究

孙步云¹, 林子木², 杨强¹, 郑爽¹, 李新华¹, 祁冰³

(1. 沈阳农业大学食品学院, 辽宁沈阳 110866) (2. 辽宁省粮食科学研究所, 辽宁沈阳 110032)

(3. 凌源市经济和信息化局, 辽宁凌源 122500)

摘要: 本文采用 SDS-PAGE 凝胶电泳比较了 3 种酶改性玉米粉及未处理玉米粉中醇溶蛋白和谷蛋白亚基组成的差异, 并对谷蛋白亚基分子量进行了分析; 采用傅里叶红外光谱(FT-IR)研究了酶改性过程中谷蛋白二级结构的变化。结果表明: 酶法改性对玉米谷蛋白的结构产生了较大影响, 而对醇溶蛋白的影响较小; α -淀粉酶与碱性蛋白酶复合处理会产生协同效应, 促进玉米谷蛋白的水解, 产生大量低分子量亚基; 单一酶改性会使玉米谷蛋白结构变得无序, 经复合酶处理后, α -螺旋比例最高, 结构趋于稳定。以上结果说明, 酶法改性过程中, 谷蛋白结构的变化可能是玉米粉面团成团性改良的一个重要因素。本研究揭示了玉米粉酶法改性工艺的部分作用机理, 为玉米面粉面团改性研究及产品研发提供了科学依据。

关键词: 玉米面粉; 酶; 蛋白质; 结构; 成团性

文章编号: 1673-9078(2016)11-235-240

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.11.036

Effect of Enzymatic Modification on Structural Changes of Corn Flour Protein

SUN Bu-yun¹, LIN Zi-mu², YANG qiang¹, ZHENG shuang¹, LI Xin-hua¹, QI Bing³

(1.School of Food Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

(2.Grain Science Research Institute of Liaoning Province, Shenyang 110032, China)

(3.Economic and Information Bureau of Lingyuan, Lingyuan 122500, China)

Abstract: The differences in the subunit compositions of gliadin and glutenin extracted from three kinds of enzyme-modified corn flours and untreated corn flour were compared by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), and the molecular weights of the subunits were analyzed. Changes in the secondary structure of glutenin during enzymatic modification were determined by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. The results showed that enzymatic modification had a relatively large influence on glutenin structure and a relatively small influence on gliadin. Treatment combining α -amylase and alkaline protease had a synergistic effect, promoting the hydrolysis of corn gluten, and a large number of low molecular weight subunits were produced. The structure of the corn glutenin modified by individual enzymes was more disordered than that of the untreated sample, but the combined enzyme treatment produced the highest percentage of α -helices and the structure tended to be stable. The above results showed that the change in the glutenin structure might be an important factor for the improvement of corn dough-forming properties. This study revealed some of the mechanisms underlying the enzymatic modification of corn flour, and provided a scientific basis for the modification of corn dough and product development.

Key words: corn flour; enzyme; protein; structure; dough-forming property

蛋白质是玉米中重要的营养成分, 其中醇溶蛋白和谷蛋白的含量占玉米总蛋白的 80%以上, 其二级结构及亚基的组成对于蛋白质的功能和面团特性均会产生较大影响^[1-3]。前期研究表明, 酶法改性可以大幅度提高玉米粉的工艺性能, 尤其淀粉酶与碱性蛋白酶复合改性效果明显。采用淀粉酶处理对玉米面粉的淀粉

收稿日期: 2015-12-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31171782)

作者简介: 孙步云(1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 粮油食品加工

通讯作者: 李新华(1955-), 男, 教授, 硕士, 研究方向: 粮油加工与转化

分子的部分水解作用比较明确, 但蛋白酶处理对其中的谷蛋白和醇溶蛋白分子结构变化影响还不清楚, 探讨在淀粉酶和蛋白酶共同作用下玉米面粉中蛋白质的结构变化程度和机理, 对改善玉米面团工艺性能具有重要的理论和应用价值。

通过傅里叶红外光谱(FT-IR)能够得到含有分子结构和分子键侧链信息的红外图谱, FT-IR 也能够提供蛋白质分子中的氨基基团的波段信息。其中, 酰胺 I 带(1700~1600 cm^{-1})对于研究蛋白质的二级结构最有价值, 可以利用波段缩小技术将 FT-IR 图谱中的

酰胺 I 带细分, 并得到蛋白质 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角及无规则结构等二级结构的定性定量信息, 从而有效地对蛋白质结构进行分析^[4]。SDS-PAGE(十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳)在蛋白质的量化及亚基分析中是一种经济、快速且重复性好的方法^[5]。本研究以酶改性玉米粉为主要原料, 采用 FT-IR 和 SDS-PAGE 凝胶电泳相结合的方法对酶改性玉米粉蛋白的二级结构和亚基组成进行研究, 探究改性过程中蛋白结构的变化, 旨在揭示玉米面粉酶法改性工艺的作用机理, 可促进玉米面粉面团改性研究及产品研发。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

玉米粉: 沈阳康福食品有限公司; 低分子量标准蛋白: 北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司; BCA 试剂盒: 北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司; 中温 α -淀粉酶和碱性蛋白酶: 天津奥诺生物科技有限公司; 溴化钾(光谱纯): 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

玉米醇溶蛋白←冻干←离心←水洗←调节 pH←倍体积水稀释←上清液

玉米粉样品→浓缩蛋白→95%乙醇溶液→调节 pH 值→离心→沉淀→调节 pH 值→离心→上清液

玉米谷蛋白←冻干←水洗←离心←调节 pH 值

1.3.3 玉米蛋白 SDS-PAGE 电泳

参照 Huang^[7]的方法, 稍作改进。分离胶浓度为 12%, 浓缩胶浓度为 4%。进样量 25 μ L, 包括 15 μ L 样品裂解液(取样品 2 mg, 用样品裂解液处理), 10 μ L 样品缓冲液。采用恒压电泳(浓缩胶 90 V, 分离胶 150 V), 当溴酚蓝指示剂距胶底部 5 mm 时, 停止电泳, 剥下胶片后, 将胶片放入固定液中固定 2 h, 然后考马斯亮蓝 R-250 染色, 过夜, 放入脱色液中脱色, 直至胶片背景蓝色完全透明状。

1.3.4 玉米蛋白 FT-IR 分析

称取 2 mg 干燥的谷蛋白样品, 加入 0.2 g 左右的 KBr, 研磨混合均匀, 然后红外专用压片机进行压片, 在恒温箱里平衡温度 5 min。再用红外光谱扫描, 扫描波段 4000~400 cm^{-1} , 扫描次数 32^[8]。

1.3.5 电泳图谱处理

采用 AI600 images 软件对电泳图谱进行分析处理, 计算蛋白亚基组成及相对分子质量情况。

1.3.6 FT-IR 图谱处理

采用 OMNIC 7.1 软件对所得图谱进行分析, 同时

台式高速离心机 TG-16WS, 上海卢湘仪离心机有限公司; 电热恒温水浴锅 HH-4, 上海予华仪器设备有限公司; 真空冷冻干燥机 EYELAFDU-540, 日本东京 Rikakikai 有限公司; 傅里叶红外光谱分析仪 Nicolet IR200, 美国尼高力仪器公司; 电泳仪 JY-SX3, 北京君意东方电泳设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 酶改性玉米粉生产工艺流程

淀粉酶改性玉米粉: 玉米粉→预糊化处理→淀粉酶(pH 6.8, 50 °C)→调节 pH 灭酶→35 °C 烘干→粉碎→淀粉酶改性玉米粉

蛋白酶改性玉米粉: 玉米粉→预糊化处理→蛋白酶(pH 6.8, 50 °C)→调节 pH 灭酶→35 °C 烘干→粉碎→蛋白酶改性玉米粉

复合酶改性玉米粉: 玉米粉→预糊化处理→蛋白酶(pH 6.8, 50 °C)→淀粉酶(pH 6.8, 50 °C)→调节 pH 灭酶→35 °C 烘干→粉碎→复合酶改性玉米粉

1.3.2 玉米蛋白的提取

参照李运罡^[6]方法, 并稍作修改。

采用 Peakfit 4.1 软件对酰胺 I 带进行了高斯去卷积技术处理和二阶求导得到峰。以它们出现特征峰的位置为参数, 对酰胺 I 带进行曲线拟合^[9]。

2 结果与讨论

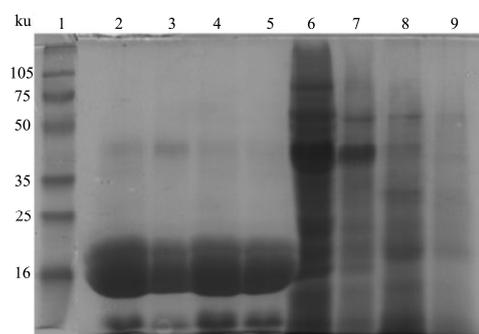


图 1 不同处理玉米粉蛋白 SDS-PAGE 凝胶电泳图谱

Fig.1 SDS-PAGE pattern of corn flour proteins after different treatments

注: 1, 标准蛋白; 2, 未处理玉米粉中的醇溶蛋白; 3, 淀粉酶改性玉米粉中的醇溶蛋白; 4, 蛋白酶改性玉米粉中的醇溶蛋白; 5, 复合酶改性玉米粉中的醇溶蛋白; 6, 未处理玉米

粉中的谷蛋白; 7, 淀粉酶改性玉米粉中的谷蛋白; 8, 蛋白酶改性玉米粉中的谷蛋白; 9, 复合酶改性玉米粉中的谷蛋白。

2.1 酶改性玉米蛋白 SDS-PAGE 凝胶电泳分

析

2.1.1 不同处理玉米蛋白电泳谱带差异分析

对四种玉米醇溶蛋白和谷蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 结果见图 1, 染色后蛋白条带清晰可见, 条带色泽越深, 说明蛋白含量越高, 反之越低^[10]。由图 1 可以看出, 2、3、4 与 5 泳道染色程度差别不大, 并未出现条带缺失, 而 6、7、8 与 9 泳道条带色泽差别较大, 条带出现缺失, 其中 1 泳道颜色最深, 而 9 泳

道颜色最浅, 条带最少。这说明玉米粉酶法改性过程中玉米醇溶蛋白的变化较小, 而谷蛋白的变化较大; 淀粉酶处理在一定程度上也会对玉米谷蛋白的结构产生影响, 淀粉酶与蛋白酶复合会产生协同作用, 对谷蛋白的水解作用也更显著, 这可能是淀粉酶破坏了玉米谷蛋白与淀粉的结合, 暴露了更多的反应位点, 促进了蛋白酶的水解作用。

2.1.2 不同处理玉米谷蛋白亚基组成分析

结合 2.1.1 的分析结果, 采用 AI 600 images 软件进一步研究酶法改性对玉米谷蛋白和醇溶蛋白的亚基组成和相对分子质量分布情况的影响, 结果见表 1 和表 2。

表 1 酶改性玉米谷蛋白亚基分子量和百分比

Table 1 Molecular weight and percentage of glutenin subunit for corn flours after different treatments

亚基	未处理		淀粉酶改性		蛋白酶改性		复合酶改性	
	分子量/ku	百分比/%	分子量/ku	百分比/%	分子量/ku	百分比/%	分子量/ku	百分比/%
1	85.41	5.75	86.05	2.64	-	-	-	-
2	66.74	6.10	64.05	7.97	65.50	7.62	65.50	7.51
3	56.41	1.25	-	-	-	-	-	-
4	45.58	24.81	46.79	35.74	48.57	11.70	46.27	5.29
5	35.49	0.50	36.29	2.47	-	-	-	-
6	30.67	0.28	30.79	0.93	33.55	9.43	32.56	6.13
7	23.97	3.56	24.33	2.95	24.51	7.04	-	-
8	19.30	5.61	19.52	5.3	20.12	24.58	20.49	15.32
9	16.56	9.43	16.37	1.61	-	-	-	-
10	13.13	14.07	13.73	10.96	14.58	4.33	14.10	1.19
11	10.53	28.63	10.57	29.42	10.68	34.72	10.57	64.56

表 2 酶改性玉米醇溶蛋白亚基分子量和百分比

Table 2 Molecular weight and percentage of gliadin subunit in enzyme-modified corn flour

亚基	未处理		淀粉酶改性		蛋白酶改性		复合酶改性	
	分子量/ku	百分比/%	分子量/ku	百分比/%	分子量/ku	百分比/%	分子量/ku	百分比/%
1	48.21	3.81	47.85	5.39	47.85	2.99	48.76	3.43
2	20.41	19.46	20.49	17.29	20.72	17.91	20.49	17.17
3	12.05	64.72	14.10	66.37	12.51	64.06	14.47	65.27
4	9.96	12.01	10.00	10.40	10.19	15.04	10.38	14.13

由表 1 可知, 玉米谷蛋白共有 11 个条带, 分子量分布范围为 85 ku~10 ku。经淀粉酶处理后的玉米谷蛋白共有 10 个条带, 分子量分布范围为 86.05 ku~10.57 ku, 其中, 56 ku 附近条带消失, 46.79 ku 条带颜色明显较深, 含量达到 35%, 高于未处理样品。蛋白酶改性样品中共有 8 个条带, 分子量分布范围为 65.50 ku~10.68 ku, 其中, 85 ku、56 ku、36 ku 与 16 ku 附近条带消失, 较低分子量条带比重增加。复合酶改性样品中, 条带数量进一步减少, 共有 6 个条带, 分子

量分布范围为 65.50 ku~10.57 ku, 其中 85 ku、56 ku、40 ku、36 ku、24 ku 与 16 ku 附近条带均消失, 除 13.13 ku 条带外, 低分子量条带比重大幅增加, 其中 10.57 ku 比重达到了 64%。由表 2 可知, 玉米醇溶蛋白共有 4 个条带, 分子量分布范围为 9 ku~48 ku。淀粉酶和蛋白酶处理对玉米醇溶蛋白分子量影响不大, 分子量 48 ku 附近亚基部分水解, 但条带并未缺失, 且各亚基比重未发生较大变化。

上述结果可能是因为碱性蛋白酶属于丝氨酸蛋白

酶,是内切酶,它的水解部位是芳香族或疏水性氨基酸的羧基^[11],由于玉米谷蛋白与醇溶蛋白氨基酸种类的差异,导致水解效果不同。淀粉酶水解了与谷蛋白相结合的淀粉,使得分子量46 ku附近的亚基在谷蛋白提取时更易与淀粉分离,表现为条带比重增加。蛋白酶对玉米谷蛋白的水解作用显著,小分子量亚基明显增多。复合酶改性过程中,淀粉酶促进了蛋白酶的水解作用,低分子量亚基含量最多。因此,玉米粉酶法改性中,对玉米粉中谷蛋白的结构影响较大。

2.2 玉米谷蛋白 FT-IR 结果分析

2.2.1 酶处理对玉米谷蛋白红外图谱的影响

图2分别为未处理样品、淀粉酶处理样品、蛋白酶处理样品以及复合酶处理样品谷蛋白的 FT-IR 图谱;表3表示的是 FT-IR 图谱中 4000~990 cm⁻¹ 谱带范围和其特征吸收峰。

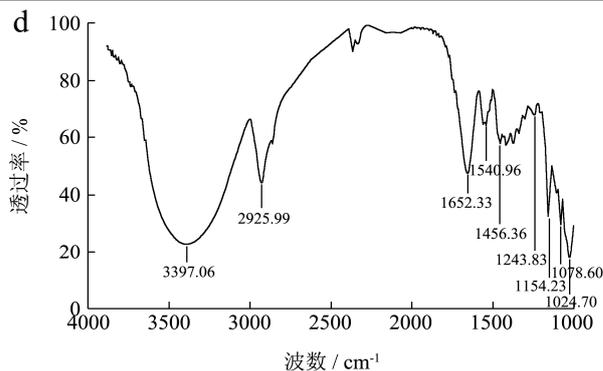
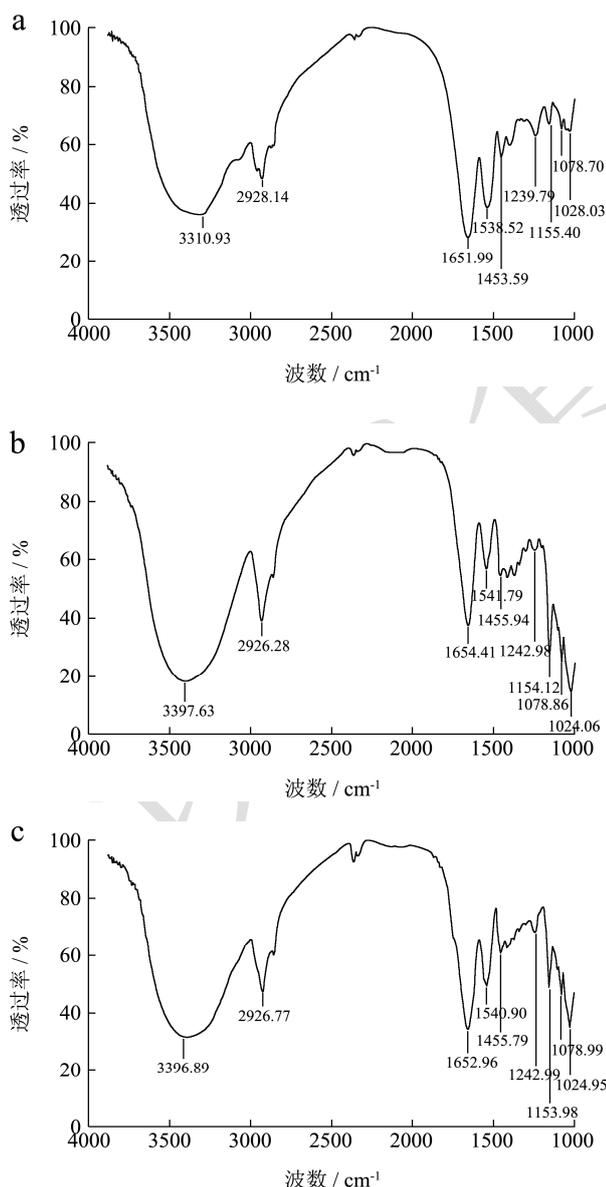


图2 不同处理玉米粉谷蛋白 FTIR 图谱

Fig.2 FTIR spectra of corn flour glutenin after different treatments

注: a, 未处理玉米粉谷蛋白 FT-IR 图谱; b, 淀粉酶改性玉米粉谷蛋白 FT-IR 图谱; c, 蛋白酶改性玉米粉谷蛋白 FT-IR 图谱; d, 复合酶改性玉米粉谷蛋白 FTIR 图谱。

从图2观察比较可以看出,在3600~3300 cm⁻¹处有宽而强的吸收带,这是典型的碳水化合物缔合 O-H 伸缩振动吸收,分子间的氢键连接有关,氢键的形成使伸缩振动频率向低波数移动^[12]。3401 cm⁻¹处是蛋白的特征吸收峰,它是蛋白质或氨基酸中 N-H 键的伸缩振动,当 N-H 键与氢键缔合后,将向低波数位移^[13-14]。未处理玉米粉中,OH 伸缩吸收峰位于 3310.93 cm⁻¹,而经过改性处理的玉米粉处于 3397 cm⁻¹附近,但三种改性处理间差异并不明显,这可能是由于玉米粉中淀粉与蛋白之间存在的分子间的氢键缔合使吸收峰处于较低低波数,而改性过程中的糊化处理导致原有氢键断裂,但改性处理可能增强了 N-H 伸缩振动,表现出更强的蛋白特征吸收。

对比改性前后玉米谷蛋白红外吸收光图谱可以发现1600~1700 cm⁻¹、1530~1550 cm⁻¹和1200~1300 cm⁻¹附近均出现相应的蛋白特征吸收峰,但峰强度差异较大,其中复合酶改性玉米粉吸收强度最低,而未处理玉米粉吸收强度最高。这可能是由于复合酶处理促进了谷蛋白水解,形成了更多的分子间氢键,导致C-N 伸缩振动以及C=O伸缩振动频率发生明显变化,氢键越多,伸缩振动谱带越宽,吸收峰强度越低^[15]。

1160~990 cm⁻¹既是淀粉的特征谱带也是蛋白质的特征谱带。主要包括了蛋白质的C-C骨架振动、酰胺IV带、C-O-H弯曲振动、C-O-C不对称伸缩振动等^[16,17]。未处理玉米谷蛋白在此区域内特征峰较弱,而酶改性处理后的玉米谷蛋白出现强吸收峰,其强度又因酶改性方式的不同而有差异。这说明酶改性处理引起了淀粉与蛋白分子间氢键的变化,可能是淀粉酶处理破坏了玉米淀粉与蛋白的结合,特征基团含量增加,而蛋白酶处理则破坏蛋白结构,造成了吸收峰强度的

变化。

表 3 红外光谱特征峰以及样品吸收波数

Table 3 Characteristic peaks of infrared spectra and absorption wavenumber of the samples

吸收峰/cm ⁻¹	谱带归属	未处理/cm ⁻¹	淀粉酶/cm ⁻¹	蛋白酶/cm ⁻¹	复合酶/cm ⁻¹
3600~3300	碳水化合物-OH 伸缩振动; 3401 cm ⁻¹ N-H 伸缩振动	3310.93	3397.63	3396.89	3397.06
2929	-CH ₂ -伸缩振动	2928.14	2926.28	2926.77	2925.99
1650	酰胺I带 (H-O-H 弯曲振动和肽键中的 C=O 伸缩振动)	1651.99	1654.41	1652.96	1652.33
1540	酰胺II带 (N-H 弯曲振动)	1538.52	1541.79	1540.90	1540.66
1450	-CH-弯曲振动; 肽键中 N-H 伸缩振动	1453.59	1455.94	1455.79	1456.36
1241	酰胺III带 N-H 键、C-N 键的无规则缠绕	1237.79	1242.98	1242.99	1243.83
1154	C-C 骨架振动	1155.40	1154.12	1153.98	1154.23
1081	C-O-H 弯曲振动; 酰胺IV带 C-N 伸缩振动或 N-H 伸缩振动	1078.70	1078.86	1078.99	1078.60
1024	C-O-C 不对称伸缩振动	1028.03	1024.06	1024.95	1024.70

2.2.2 酶处理对玉米谷蛋白二级结构的影响

运用 PeakFit v4.12 软件对酰胺I带图谱进行拟合, 研究酶法改性对玉米谷蛋白中各二级结构所占比例的影响, 结果如表 4。其中, 1600~1640 cm⁻¹ 为 β-折叠; 1640~1650 cm⁻¹ 为无规卷曲; 1650~1660 cm⁻¹ 为 α-螺旋; 1660~1700 cm⁻¹ 为 β-转角^[18-20]。

表 4^a 未处理玉米谷蛋白酰胺 I 带拟合结果

Table 4^a Amide I band fitting results for untreated corn flour

glutenin			
峰位置	峰面积	峰归属	二级结构含量%
1615	1.03	β-折叠	40.4
1627	1.79	β-折叠	
1639	2.10	β-折叠	
1651	2.33	α-螺旋	19.1
1661	2.09	β-转角	40.5
1672	1.68	β-转角	
1685	1.16	β-转角	

表 4^b 淀粉酶改性玉米谷蛋白酰胺 I 带拟合结果

Table 4^b Amide I band fitting results for α-amylase-modified corn flour glutenin

corn flour glutenin			
峰位置	峰面积	峰归属	二级结构含量%
1618	1.08	β-折叠	25.6
1631	2.22	β-折叠	
1645	2.66	无规则卷曲	20.7
1657	2.89	α-螺旋	22.5
1670	2.45	β-转角	31.2
1684	1.56	β-转角	

表 4^c 蛋白酶改性玉米谷蛋白酰胺 I 带拟合结果

Table 4^c Amide I band fitting results for alkaline

protease-modified corn flour glutenin

峰位置	峰面积	峰归属	二级结构含量%
-----	-----	-----	---------

1617	1.18	β-折叠	27.5
1631	2.17	β-折叠	
1645	2.5	无规则卷曲	20.6
1657	2.63	α-螺旋	21.6
1671	2.25	β-转角	30.3
1684	1.44	β-转角	

表 4^d 复合酶改性玉米谷蛋白酰胺 I 带拟合结果

Table 4^d Amide I band fitting results for corn flour glutenin

treated with a combination of α-amylase and alkaline protease			
峰位置	峰面积	峰归属	二级结构含量%
1620	1.12	β-折叠	33.8
1634	2.01	β-折叠	
1651	2.72	α-螺旋	29.4
1666	2.08	β-转角	36.8
1681	1.32	β-转角	

由表 4 可以看出, 玉米谷蛋白的二级结构主要以 α-螺旋、β-折叠、β-转角为主。经不同酶处理后, α-螺旋比重均有不同幅度上升, 复合酶改性样品 α-螺旋含量最高, 增幅接近 10%; β-折叠含量均出现下降, 淀粉酶改性样品 β-折叠含量下降接近 15%, 蛋白酶改性样品下降 13%, 复合酶改性样品下降 7%; β-转角的含量也出现下降, 复合酶改性样品下降幅度最小; 淀粉酶或蛋白酶处理均会产生无规则卷曲(20%), 未处理和复合酶改性样品中并未出现。

Choi S^[21]报道 α-螺旋和 β-折叠是比较有序的蛋白结构, 具有较高的稳定性, β-转角和无规卷曲是无序结构。由于酶解过程会产生一定量带负电的羧基及羟基, 产生斥力, 破坏了 β-折叠原有结构, 使之部分转化为无规则卷曲; 氢键在酶解过程中被破坏, 可能导致一部分 β-转角转化为更稳定的 α-螺旋^[22]。淀粉酶与蛋白酶复合改性时, 可能由于二者的协同作用, 致使

玉米谷蛋白结构发生较大变化,一部分 β -折叠与 β -转角转化为 α -螺旋,使得玉米谷蛋白二级结构变得更为有序,可能与玉米面团成团性的改善有关。

3 结论

本试验研究结果显示,酶法改性对玉米谷蛋白的结构产生了较大影响,而对醇溶蛋白的影响较小;淀粉酶与蛋白酶复合处理会产生协同效应,促进玉米谷蛋白的水解,产生大量分子量约10 ku的亚基;单一酶改性会使玉米谷蛋白结构变得无序,经复合酶处理后, α -螺旋含量所占比例最高(29%),结构趋于稳定。研究表明,酶法改性过程中,谷蛋白结构的变化可能是导致玉米粉成团性改良的一个重要因素。本研究揭示了玉米粉酶法改性工艺的部分作用机理,为玉米面粉面团改性研究及产品研发提供了科学依据。

参考文献

- [1] 王显生,麻洁,向世鹏,等.不同 SDS-PAGE 分离胶浓度条件下大豆贮藏蛋白亚基的分辨效果[J].中国油料作物学报,2004,26(6):75-80
WANG Xian-sheng, MA Jie, XIANG Shi-peng, et al. The effect of soybean storage protein subunits under different separation gel concentrations of SDS-PAGE [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2004, 26(6): 75-80
- [2] Yagasaki K, Kousaka F, Kitamura K. Potential improvement of soymilk gelation and properties by using soybeans with modified protein subunit compositions [J]. Breeding Science, 2000, 50(2): 101-107
- [3] Guzmán A Q, Flores M E J, Ferial J S, et al. Rheological and thermal properties of masa as related to changes in corn protein during nixtamalization [J]. Journal of Cereal Science, 2011, 53(1): 139-147
- [4] Singh B R, Fuller M P, Schiavo G. Molecular structure of tetanus neurotoxin as revealed by fourier transform infrared and circular dichroic spectroscopy [J]. Biophysical Chemistry, 1990, 36(2): 155-166
- [5] 陈毓荃.生物化学实验方法与技术[M].北京:科学出版社,2002
CHEN Yu-quan. Biochemistry experiment method and technology [M]. Beijing: Science and Technology Literature Press, 2002
- [6] 李运罡.玉米黄粉中蛋白提取及应用研究[D].郑州:河南农业大学,2009
LI Yun-gang. Study on extraction and application of protein from corn gluten meal [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2009
- [7] Huang Y, Hua Y, Qiu A. Soybean protein aggregation induced by lipoxygenase catalyzed linoleic acid oxidation [J]. Food Research International, 2006, 39(2): 240-249
- [8] 刘燕燕,曾新安,陈晓东,等.FT-IR 分析脉冲电场和热处理后的大豆分离蛋白结构变化[J].光谱学与光谱分析,2010, 30(9):2340-2344
LIU Yan-yan, ZENG Xin-an, CHEN Xiao-dong. Effect of pulsed electric field and heat treatment on the structure of soy protein isolate by FT-IR [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2010, 30(9): 2340-2344
- [9] 胡爱军,卢秀丽,郑捷,等.超声处理对鲢鱼鱼肉蛋白结构的影响 [J].现代食品科技,2012,28(8):894-897
HU Ai-jun, LU Xiu-li, ZHENG Jie, et al. Effect of ultrasonic treatment on protein structures of silver carp [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(8): 894-897
- [10] 王廷华,邹晓莉.蛋白质理论与技术[M].北京:科学技术出版社,2007
WANG Ting-hua, ZOU Xiao-li. Theory and technology of protein [M]. Beijing: Science and Technology Literature Press, 2007
- [11] 何莉萍,刘良忠.中性蛋白酶和碱性蛋白酶对玉米蛋白水解作用的研究[J].食品科学,2008,29(3):152-157
HE Li-ping, LIU Liang-zhong. Study on hydrolysis effects of neutral protease and alkaline protease on corn protein [J]. Food Science, 2008, 29(3): 152-157
- [12] Jiang Q, Gao W, Li X, et al. Characteristics of native and enzymatically hydrolyzed *Zea mays* L., *Fritillaria ussuriensis Maxim*, and *Dioscorea opposita Thunb.* starches [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(3): 521-528
- [13] Brodsky D B, Bendit EG, Blout E R. Infrared spectroscopy of collagen and collagen-like polypeptides [J]. Biopolymers, 1975, 14(5): 937-957
- [14] 李蕙蕙.鸡肉火腿肠加工过程中功能特性和蛋白质结构的初步研究[D].武汉:华中农业大学,2009
LI Hui-hui. The Preliminary study on functional characters and protein structure during the preparation of chicken ham sausage [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009
- [15] 赵永会,史义静,冯俊霞,等.面粉中蛋白质二级结构的红外光谱研究[J].光散射学报,2015,27(1):82-86
ZHAO Yong-hui, SHI Yi-jing, FENG Jun-xia, et al. Study on secondary structure of flour protein by infrared spectroscopy [J]. The Journal of Light Scattering, 2015, 27(1): 82-86
- [16] 赵凯,高惠梅,丁文明.波谱分析技术在淀粉研究中的应用 [J].食品与发酵工业,2010,36(1):122-124

- ZHAO Kai, GAO Hui-mei, DING Wen-ming. The application of spectral analysis techniques to the study on starch [J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 36(1): 122-124
- [17] 张冬升.精白保胚发芽米淀粉特性研究[D].长沙:长沙理工大学,2011
- ZHANG Dong-sheng. Studies on the properties of starch from germinated polished-rice-with-germ [D]. Changsha: Changsha University of Science & Technology, 2011
- [18] Mejri M, Rogé B, Bensouissi A, et al. Effects of some additives on wheat gluten solubility:A structural approach [J]. Food Chemistry, 2005, 92(1): 7-15
- [19] Achouri A, Nail V, Boye J I. Sesame protein isolate: Fractionation, secondary structure and functional properties [J]. Food Research International, 2012, 46(1): 360-369
- [20] Kudre T G, Benjakul S, Kishimura H. Comparative study on chemical compositions and properties of protein isolates from mung bean,black bean and bambara groundnut [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013, 93(10): 2429-2436
- [21] Choi S, Ma C. Structural characterization of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench*) using circular dichroism and Raman spectroscopy [J]. Food Chemistry, 2007, 102(1): 150-160
- [22] Hui Yie Y, Shotaro Y, Suk Yeun G, et al. Effects of enzymatic deamidation by protein-glutaminase on structure and functional properties of α -zein [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2004, 52(23): 7094-7100