

高压微射流处理对白木通籽分离蛋白结构及流变性质的影响

雷莉, 赵强, 范婷, 熊华

(南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西南昌 330047)

摘要: 本文采用了傅里叶红外光谱(FT-IR)和稳态剪切流变学等分析方法研究了高压微射流处理(0.1、50、90、130、170MPa)对白木通籽分离蛋白结构及流变性质的影响。结果表明: 经过高压微射流处理, 白木通籽分离蛋白的粒径变小; SDS-PAGE 电泳结果表明, 蛋白亚基未受影响; 溶解性得到显著提高; 总巯基以及暴露巯基的含量随着处理压力的增大呈下降趋势; FTIR 结果表明, 分离蛋白的二级结构组成发生了变化, 在 130 MPa 时变化最大, 并且蛋白的不稳定结构如 β -sheet、Random coil 含量减少, 稳定的蛋白结构 β -turn 含量增加, 样品构象稳定性提高。白木通籽分离蛋白溶液经微射流处理前后均是假塑性流体, 在剪切速率为 $0\sim 10\text{ s}^{-1}$ 范围内, 表观粘度呈递减的趋势; 同时随着样品处理压力的增大, 表观粘度发生明显的剪切稀化现象。

关键词: 白木通籽; 分离蛋白; 高压微射流; 二级结构; 流变性

文章编号: 1673-9078(2015)2-145-150

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.2.025

Effects of High Pressure Microfluidization on the Structure and Rheological Properties of *Akebia trifoliata* var. *australis* Seed Protein Isolate

LEI Li, ZHAO Qiang, FAN Ting, XIONG Hua

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: In this study, Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and steady shear rheology were carried out to investigate the effects of high pressure microfluidization (HPM, 0.1, 50, 90, 130, 170 MPa) on the conformational and rheological properties of *Akebia trifoliata* var. *australis* seed protein isolate (API). The results showed that after HPM treatment, the particle size of API became smaller, subunits of API were unchanged, and solubility increased significantly, as demonstrated by SDS-PAGE. The contents of the total and exposed sulfhydryl decreased with increasing pressure. The FT-IR results suggest that the secondary structure of API changed, and the maximum change occurred when the pressure was 130 MPa; the contents of unstable structures such as β -sheets and random coils decreased, while the stable β -turn protein structure content increased, resulting in improved conformational stability of the sample. Rheology measurement indicated that the API solution was a pseudoplastic liquid both before and after HPM treatment, the apparent viscosity of all API solution samples showed a decreasing trend when the shear rate ranged from 0 s^{-1} to 10 s^{-1} . With the increase of treatment pressure, the apparent viscosity of the API solution showed obvious shear-thinning phenomenon.

Key words: *akebia trifoliata* var. *australis* seed; protein isolate; high pressure microfluidization; secondary structure; rheological properties

植物蛋白提供了全球人类近 65% 的蛋白质供给量,并在许多食品和制药的应用方面具有重要的作用。随着全球人口的增加,生活消费的提高,动物蛋白供应匮乏,以及人们对食物营养价值的关注,促使植物蛋白的需求不断增加^[1]。探寻新型的具有开发价值的

收稿日期: 2014-06-13

基金项目: 国家“十二五”农村领域科技计划项目(2013AA102203-05); 江西省科技支撑计划项目(2012BBF60061)

作者简介: 雷莉(1990-),女,硕士研究生,研究方向为粮食油脂及植物蛋白工程

通讯作者: 赵强(1981-),男,博士,助理研究员,研究方向为蛋白质化学与营养,微胶囊技术

蛋白资源及改良现有蛋白质的功能特性,是满足食品工业加工需要亟待解决的问题。白木通(*Akebiatrifoliata* (Thunb.) Koidz. var. *australis* (Diels) Rehd)属于木通科木通属植物,作为一种新型油料籽作物,白木通籽中油脂含量为 39.33%、粗蛋白含量为 17.89%^[2],经提取油脂后,其饼粕中含有约 42% 的蛋白^[3],其在食品、饲料工业领域有着潜在的开发价值与应用前景。本实验室前期研究表明,白木通籽分离蛋白拥有贮存蛋白的共性^[2],然而白木通籽分离蛋白的加工性质不理想,应用被限制。

高压微射流技术(High pressure microfluidization, HPM)是一种新兴的高压均质技术,能对流体混合物

料进行强烈的剪切、撞击、压力瞬间释放、高频振荡、膨爆和气穴等一系列综合作用,从而起到很好的超微化,微乳化和均一化效果^[4],与传统高压均质技术相比其处理压力更高、流体速度更快、碰撞能力更大、产品颗粒更细,被认为是一种食品加工中最有潜力和发展前途的物理改性手段。据文献报道,高压微射流处理能不同程度改善小麦面筋蛋白^[4]、大豆分离蛋白^[5]和红豆分离蛋白^[6]等的功能性质,目前还没有关于动态高压微射流对白木通籽分离蛋白处理的报道。本实验以白木通籽为原料,制备了白木通籽分离蛋白(API),着重研究了动态高压微射流处理对白木通籽分离蛋白二级结构及流变性质的影响,为白木通籽分离蛋白的研究提供理论依据,使其能更好的在食品工业中得到应用。

1 材料与方法

1.1 原料

1.1.1 材料与试剂

白木通籽,庐山东林寺种植基地;5-5'-二硫代-2-硝基苯甲酸(DTNB),Sigma公司;乙二胺四乙酸(EDTA),索来宝化学试剂公司;三羟甲基胺基甲烷(Tris)、甘氨酸、尿素、巯基乙醇、正己烷、盐酸、氢氧化钠等试剂,均为分析纯。

1.1.2 主要仪器与设备

DJM 胶体磨,上海东华高压均质机厂;M-110EH 微射流均质机,美国MFIC公司;PSANANO2590 纳米粒度仪,英国马尔文公司;新世纪 T6 紫外分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;Nicolet 5700 傅里叶变换红外光谱仪,美国 Thermo Nicolet 公司;DHR-2 流变仪,美国 TA 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 白木通籽脱脂粉末的制备

采用 2% NaOH 溶液浸泡干燥的白木通籽 8 h,脱皮后烘干,粉碎,按固液比 1:3 加入正己烷室温下磁力搅拌脱脂 2 h,重复五次,回收正己烷后得白木通籽脱脂粉末。

1.2.2 白木通籽分离蛋白(API)的制备

采用碱提酸沉法制备白木通籽分离蛋白:白木通籽脱脂粉分散于去离子水中(V:m=10:1),用 1 M NaOH 溶液调 pH 至 10.0,室温下磁力搅拌提取 1.5 h 后离心(4800 r/min, 15 min)得上清液,残渣重复提取 2 次。合并三次离心所得上清液,用 1 M HCl 溶液调节上清液 pH 至 4.5,4 °C 静置 2 h 后离心(4800 r/min, 15 min)

弃去上清液,沉淀水洗 2 次,调 pH 至 7.0 后在 4 °C 冰箱去离子水透析 24 h,真空冷冻干燥得到 API 粉末,4 °C 下贮存备用。

1.2.3 动态超高压微射流处理

称取 2.0 g API 样品,分散于 200 mL 去离子水中,配制成 10 g/L 的蛋白溶液。调节溶液的 pH 值为 7.0。过胶体磨 3 次后,设定好微射流的压力 50、90、130、170 MPa 均质一次。冷冻干燥后得到 API 微射流均质处理样品,4 °C 下贮存备用。

1.2.4 粒度的测定

取经以上不同压力均质后的 10 g/L API 溶液,经过一定的稀释,在纳米粒度仪上测定蛋白分散液的粒度分布,结果由仪器自带的软件计算而得。

1.2.5 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析

SDS-PAGE 分析参考 Zhao 等人^[7]使用的方法,采用 5% 的浓缩胶和 12.5% 的分离胶。蛋白样品溶解于 SDS-PAGE 缓冲液中(pH 8.6, 0.125 mol/L Tris-HCl 缓冲液中含有 1.0% (m/V) SDS, 0.05% (m/V) 溴酚蓝, 30% (V/V) 蔗糖以及 5% (V/V) 2-β-巯基乙醇)。沸水加热 10 min,离心(10000 r/min, 10 min),上样量 10 μL,进行恒流凝胶电泳,跑两块胶时浓缩胶中电流 15 mA,分离胶 25 mA,直到染料的前沿迁移至凝胶的底部结束电泳。凝胶染色采用 0.25% 考马斯亮蓝(R-250),脱色采用含甲醇和醋酸的去离子水溶液。

1.2.6 溶解性的测定

蛋白质溶解性的测定根据 Zhao^[7]报道的方法,稍作改动。称取 0.25 g 样品溶于 25 mL 去离子水中,搅拌 30 min,1 mol/L HCl 或 1 mol/L NaOH 调节 PH 值 7.0,再搅拌 30 min,常温下离心(5000 r/min, 15 min)。取适量上清液稀释后,福林酚法测定上清液中的蛋白质含量,以牛血清白蛋白为标准蛋白做标准曲线。溶解性表示为可溶性上清液中的蛋白浓度占总蛋白浓度的百分比。

1.2.7 巯基含量的测定

巯基含量的测定采用 Elman 法,参考 Zhao 等人^[8]的操作。具体过程如下:称取 30 mg 分离蛋白样品至 10 mL 溶解液中(Tris-Gly 缓冲液溶解暴露巯基,Tris-Gly-8 M Urea 溶液溶解总巯基),加入 0.1 mL DTNB 溶液,室温暗处震荡 1 h,离心(4800 r/min, 10 min),上清液在 412 nm 处测定吸光度。巯基含量计算公式为:

$$\mu\text{mol SH/g} = 73.53 \times A_{412} \times D/C \quad (1)$$

注: D 为稀释倍数 1.01; C 为蛋白浓度(mg/mL); A₄₁₂ 为

吸光值

1.2.8 傅里叶红外光谱(FT-IR)分析

将高压微射流处理前后的样品与 KBr 经干燥处理后,称取约 5 mg 样品与 200 mg KBr 研磨均匀,然后压片,测定 FT-IR。扫描范围 4000~400 cm⁻¹,分辨率 4 cm⁻¹。谱图分析采用 Omnic 8.0 software 软件和 Peakfit 4.12 软件进行分析。首先 Omnic 8.0 software 对谱图进行坐标转换,再用 Peakfit 4.12 在酰胺 I 带 1600~1700 cm⁻¹ 范围内进行两点基线校正,平滑处理,去卷积,做二阶导数谱同时采用 Gaussian 法进行多次曲线拟合,使残差 r² 最小;最后对 FSD 谱进行峰归属,从而计算各子峰面积的相对百分含量。

1.2.9 流变性质的测定

用去离子水将高压微射流处理前后的蛋白样品配制成质量浓度为 50 g/L 的溶液,分散均匀。采用 DHR-2 型流变仪进行测定。实验用 40 mm 平板夹具,间隙设为 1 mm。在 1% 应变条件下,测定不同剪切速率 (0.1~100 s⁻¹) 下样品的粘度以及剪切应力的变化。

1.2.10 实验数据处理

采用 origin 8.5 软件对实验数据进行统计分析,其中每组实验或分析重复数为 3 次。

2 结果与讨论

2.1 高压微射流对白木通籽分离蛋白粒度的影响

影响

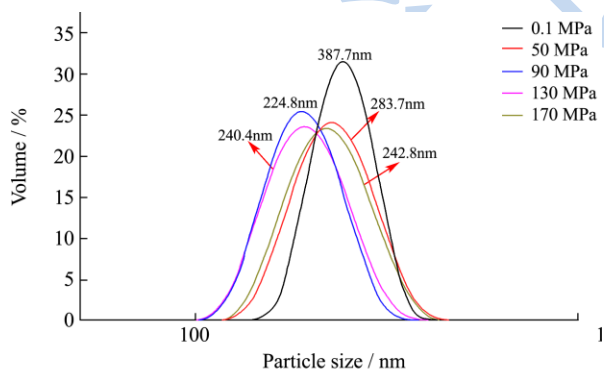


图 1 高压微射流处理前后蛋白的粒径分布

Fig.1 Effect of HPM treatment on particle size distribution

API 溶液的粒度变化可反映高压微射流对蛋白微结构的影响。如图 1 所示,高压微射流处理前后,API 溶液的粒径分布均呈多峰分布,处理后分布变得更为均匀;在高压微射流处理后,样品粒径变得更小,粒径分布峰均向小粒子峰移动,且随着压力的增大 (0.1~90 MPa),相对于未处理的蛋白样品移动越大,并在 90 MPa 时达到最大;随后,在处理压力为 130

MPa 时,相对于 90 MPa 移动幅度稍有减小,但 170 MPa 时移动减小程度非常明显。究其原因,API 溶液通过高压微射流均质机时,加速进入反应器后,在极小的空间被强烈的垂直撞击,撞击过程中瞬间生成巨大能量,产生了压力降,使蛋白颗粒高度破碎^[6],API 中的蛋白聚集体解聚成更小的蛋白分子;同时,压力过高,能量密度和能量输入过高,被破碎的小分子颗粒可能重新聚合导致粒径变大^[9]。

2.2 SDS-PAGE 分析

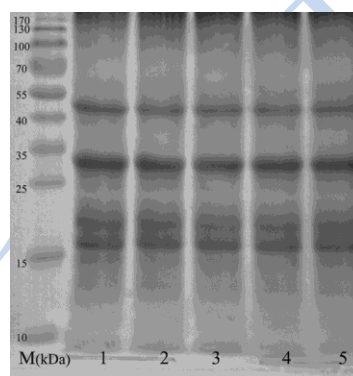


图 2 高压微射流处理前后蛋白的 SDS-PAGE 图

Fig.2 SDS-PAGE profiles of API before and after HPM treatment

注: 1~5 分别为 0.1~170 MPa 样品。

高压微射流处理前后蛋白的 SDS-PAGE 分析见图 2。从图中可清楚地观察到每个样品中主要含有三条亚基带,即 50 kDa、31 kDa 以及 17~20 kDa,这与 Du 等人^[3]的电泳结果相似。同时,在所有的 5 个样品中,蛋白条带几乎相同,这个现象与 Hu 等^[10]利用微射流改性花生蛋白的研究发现一致,说明微射流均质改性不能对 API 的亚基产生显著地影响。

2.3 高压微射流处理对 API 溶解性的影响

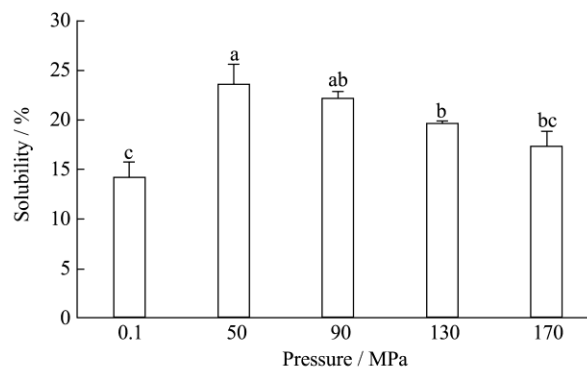


图 3 高压微射流处理前后蛋白溶解性的变化

Fig.3 Effect of HPM on the solubility of API

注: 上标字母 a-c 表示差异显著(p<0.05)。

高压微射流处理前后蛋白溶解性的变化见图 3。从图中可知,相比于未处理前,在 pH 7.0 时尽管 API

的溶解性较差 (~15%), 微射流处理后的 API 的溶解性得到显著性的提升, 这主要是由于微射流均质处理所产生的高速撞击、高频振动、瞬时压降及强烈剪切等作用, 使得 API 的分子结构展开, 从而暴露出更多的极性基团致使蛋白表面电荷增加, 使得溶解性得到改善, 这已在相关许多的植物蛋白高压均质增溶改性研究中得到了验证^[4, 6, 10]。随着处理压力的提高, API 溶解性显著的升高 ($p < 0.05$), 在 50 MPa 处达到最大为 23.58%, 随后压力升到 170 MPa, 溶解性反而有所下降。该现象表明, 适度的微射流压力可造成蛋白分子的解聚而改善其溶解性; 但压力一旦过大, 势必展开的蛋白分子通过疏水作用形成不溶的高分子聚集体, 造成溶解性不升反降, 此结果与前面的粒度分析结果相一致。文献报道大于 150 MPa 压力处理就会导致大豆蛋白组分溶解性骤降^[11]、100 MPa 的处理压力能使卵黄蛋白溶解性降低^[12], 推测是展开的蛋白分子所暴露的疏水基团和巯基导致蛋白分子聚集而使溶解性下降。结合以上结果可知, 工业上常规使用的均质机 (40~60 MPa) 可能会提高 API 的溶解性。

2.4 高压微射流处理对 API 巯基含量的影响

API 高压微射流处理前后巯基含量的变化见图 4。总巯基含量包括暴露在分子表面和包含在分子内部的巯基两部分。图 4 中 API 的总巯基含量随处理压力的增大显著性递减 ($p < 0.05$), 其含量分别为 9.68 $\mu\text{mol/g}$ 、8.56 $\mu\text{mol/g}$ 、6.535 $\mu\text{mol/g}$ 、5.49 $\mu\text{mol/g}$ 、4.88 $\mu\text{mol/g}$ 。暴露巯基在高压均质处理后含量也均减少, 但表现为先减小后增大, 分别是 2.56 $\mu\text{mol/g}$ 、1.74 $\mu\text{mol/g}$ 、1.5 $\mu\text{mol/g}$ 、1.59 $\mu\text{mol/g}$ 、1.75 $\mu\text{mol/g}$ 。由此说明 API 中巯基主要存在于分子内部。微射流处理后, 蛋白总巯基以及暴露巯基的含量随着处理压力的增大均有不同

程度的减少, 且总巯基含量减少程度更为明显。这与 Hu^[10]、Wang^[13]等人的相关研究结果相似。可能的原因是, 在高压微射流处理过程中, API 受到高压的瞬时压缩作用, 体积缩小, 原二级结构被破坏, 导致无序结构增多, 疏水键及部分离子结合的键被切断, 巯基暴露出来, 进而形成一种趋于更稳定的结构; 同时, 实验是在有氧条件下进行的, 暴露出来的巯基可能被氧化, 游离巯基(-SH)部分氧化形成了二硫键(-S-S-), 导致 API 溶液的总巯基含量减小。

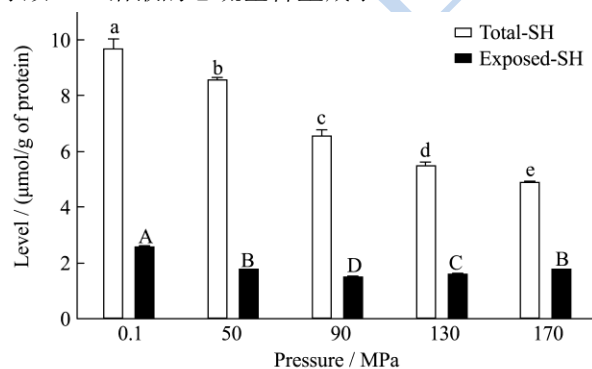


图 4 高压微射流处理前后巯基含量的变化

Fig.4 Effect of HPM on total sulfhydryl (Total-SH) and exposed sulfhydryl (Exposed-SH)

注: 总巯基含量、暴露巯基含量分别用小写字母 a-e 与大写字母 A-D 表示显著性差异 ($p < 0.05$)。

2.5 红外光谱分析结果

API 经高压微射流处理, 其蛋白构象发生变化, 二级结构的变化可以通过红外光谱法检测得到。参考相关文献^[7-8], 对高压微射流处理前后 API 的酰胺 I 带各吸收峰进行归属

并分析结构组成分析, 结果见图 5 及表 1。

表 1 酰胺 I 带各吸收峰归属及红外光谱估算分析 API 的二级结构组成

Table 1 Estimation of the secondary structural compositions of APIs using the attribution of absorption peaks of the amide I band and FT-IR approximation analysis

处理压力 /MPa	β -sheet				β -turn			Random coil
	1613~1616 cm^{-1}	1627~1631 cm^{-1}	1673~1675 cm^{-1}	总计	1659~1664 cm^{-1}	1688 cm^{-1}	总计	1645 cm^{-1}
0.1	12.45	22.96	13.48	48.89	20.46	6.57	27.03	24.08
50	12.74	21.66	14.52	48.92	20.62	7.58	28.20	22.88
90	12.48	21.72	14.53	48.73	20.72	7.70	28.42	22.85
130	11.42	21.42	14.85	47.69	21.42	7.88	29.30	23.01
170	12.23	22.03	13.86	48.12	21.05	7.50	28.55	23.33

从结果可以看出, 蛋白在处理, 其二级结构组成发生了不同程度的变化, 在峰归属为 β -sheet 结构的三种峰位中, 1627~1631 cm^{-1} 峰的面积在均质处理后变小, 1673~1675 cm^{-1} 峰位的面积增加, 1613~1616

cm^{-1} 峰位的面积先增加后减小; 同时, Random coil 结构减少; 对于 β -turn 结构, 其相对含量都有所上升, 说明经过压力处理, 蛋白质结构发生伸展和重组。当压力为 130 MPa 时, 整个结构变化最大。实际上, β -turn

结构被认为是蛋白质高度有序结构的产物，并且反向平行的 β -sheet 结构易于在聚集的蛋白质分子中形成。这表明蛋白经微射流处理，其构象稳定性有所提高，这与前面所提到的巯基变化结果相吻合。

2.6 高压微射流处理对 API 流变性质的影响

2.6.1 表观粘度与剪切速率的关系

图 6 为 API 溶液在不用压力处理下，蛋白溶液的表现粘度与剪切速率的关系。

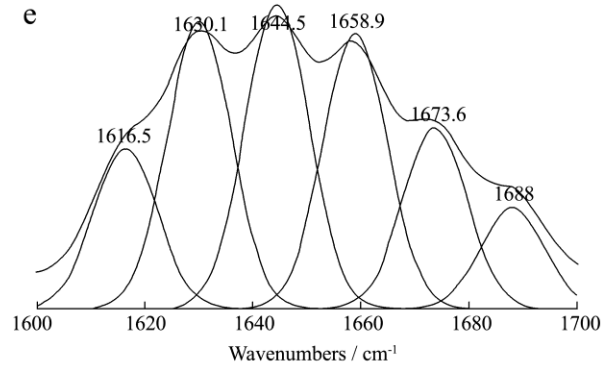
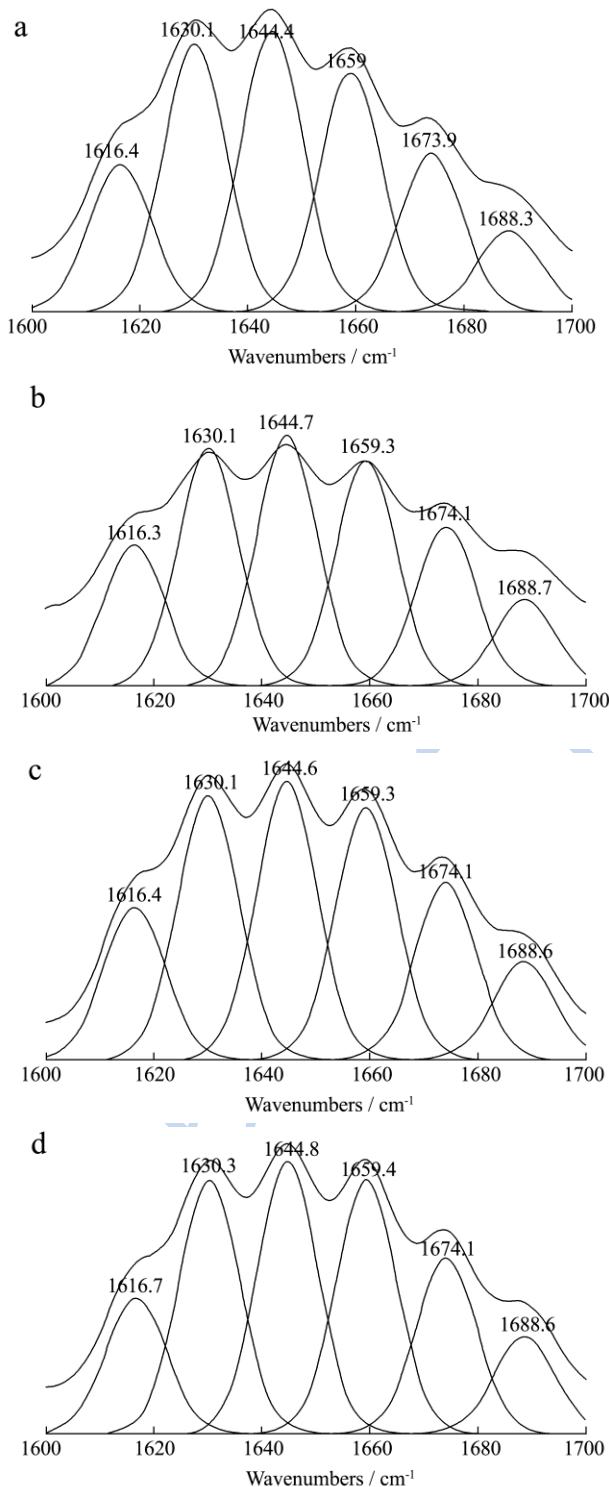


图 5 不同压力处理 API 酰胺 I 带的红外光谱去卷积及拟合图

Fig.5 Deconvoluted FT-IR spectra and curve fitting results of the API amide I band, after treatment at different pressures

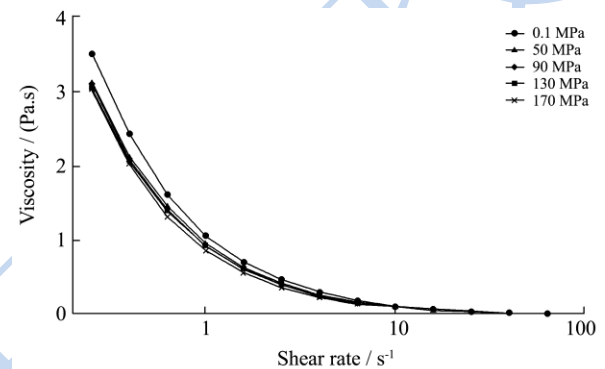


图 6 不同处理压力下样品表现粘度-剪切速率之间的关系

Fig.6 Relationship between apparent viscosity and shear rate of samples treated at different pressures

图 6 中显示，随剪切速率的增大，API 的表现粘度下降，但当剪切速率接近 10 s^{-1} 时，粘度的变化不明显，这是假塑性流体所特有的剪切变稀现象。实验过程中，大分子流体初始静止时分子彼此缠结，受剪切力作用，缠结点被解开，蛋白分子沿流动方向排列成线，流层间的剪切应力减小，粘度下降。随着剪切速率的增大，上述排列趋于完善，当剪切速率增大到某一值后分子间排列完毕，粘度趋于稳定。

另一方面，由图 6 可以看出，高压处理后的分离蛋白剪切变稀更为明显。这可能是因为高压处理后，蛋白颗粒变小且分布更为均匀，随着剪切速率增加，蛋白聚集体表面的亲水性增大，氢键等弱键的断裂导致蛋白质聚集体的解离降低了溶液流动的阻力。

2.6.2 剪切应力与剪切速率的关系

温度 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 时，API 经高压微射流处理前后的剪切应力与剪切速率的关系如下图 7 所示。

由图中可知，剪切应力随着剪切速率的增大而升高。

剪切速率与剪切应力之间的关系可用幂定律方程描述：

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad (2)$$

注： τ 为剪切应力； $\dot{\gamma}$ 为剪切速率；K为粘性常数； n 为流动特性指数，表示流体偏离牛顿流体的程度；当 τ 和 $\dot{\gamma}$ 呈线性增长关系，即 $n=1$ 时，该溶液表现为牛顿流体；当 τ 和 $\dot{\gamma}$ 呈现非线性增长关系时，这类溶液表现为非牛顿液体。

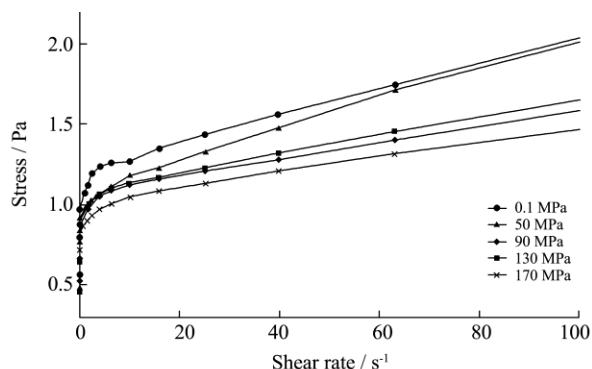


图7 不同处理压力下样品剪切应力与剪切速率之间的关系

Fig.7 Relationship between shear stress and shear rate of samples treated at different pressures

用幂定律对图7中的各曲线进行拟合，得到下表

2。

表2 高压微射流处理前后 API 溶液 K 和 n 值

Table 2 K and n values of API solutions before and after treatment of HPM

不同压力/MPa	K	n	R ²
0.1	1.00596	0.13294	0.93174
50	0.88682	0.15405	0.92406
90	0.87783	0.11594	0.94301
130	0.87313	0.12529	0.92806
170	0.85975	0.09961	0.96756

由上表2可知，K值逐渐减小，n值的变化无明显趋势，但蛋白的n值均小于0.2，说明API偏离牛顿流体程度较大，是假塑性流体。高压处理后，API的n值几乎都小于改性前，50 MPa除外，流动指数n值减小表明溶液的流型发生了变化^[14]，意味着API溶液经高压处理越易变稀，假塑程度越大。同时，本实验中高压微射流处理对API的流动特性的显著影响，表现为当处理压力为50 MPa时，n值达到最大值0.15405；170 MPa时，n值为最小值0.09961，这与蛋白的粒径分布结果相吻合。

3 结论

3.1 高压微射流处理API，其溶解性显著提高，在50 MPa, pH7.0时达最大为23.58%，随后压力升到170 MPa，溶解性反而有所下降；其流变性质也发生了变化，随剪切速率的增大，API的表现粘度下降，当剪切速率接近10 s⁻¹时，粘度的变化不明显，压力处理后的分离蛋白剪切变稀更为明显，API流动特性指数

n值均小于0.2，是假塑性流体。

3.2 高压微射流处理API，其粒度减小，亚基变化不明显，总巯基和暴露巯基含量均降低；在二级结构组成方面，不稳定的 β -sheet、Random coil结构减少，而稳定的 β -turn结构增加，蛋白质结构发生伸展或重组，当压力为130 MPa时，整体变化最大。

参考文献

- [1] Enujiugha V N, O Ayodele Oni. Evaluation of nutrients and some anti nutrients in lesser known, underutilized oilseeds [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2003, 38(5): 525-528
- [2] 蒋岩,杜研学,熊华,等.白木通籽油理化性质与热氧化稳定性[J].食品科学,2011,32(15):34-38
JIANG Yan, DU Yan-xue, XIONG Hua, et al. Physico-chemical properties and thermal oxidation stability of akebia trifoliata var.australis seed oil [J]. Food Science, 2011, 32(15): 34-38
- [3] Du Y, Jiang Y, Zhu X, Xiong H, et al. Physicochemical and functional properties of the protein isolate and major fractions prepared from Akebia trifoliata var. australis seed [J]. Food Chemistry, 2012, 133(3): 923-929
- [4] 刘国琴,阎乃珺,陈璐瑶.动态高压微射流对小麦面筋蛋白功能性质影响的研究[J].现代食品科技,2013,29(5):936-940
LIU Guo-qin, YAN Nai-jun, CHEN Lu-yao. Effects of dynamic high pressure on the functional properties of wheat gluten [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(5): 936-940
- [5] Lan Shen, Chuan-He Tang. Microfluidization as a potential technique to modify surface properties of soy protein isolate [J]. Food Research International, 2012, 48(1): 108-118
- [6] 黄科礼,尹寿伟,杨晓泉.微射流处理对红豆分离蛋白结构及功能特性的影响[J].现代食品科技,2011,27(9):1062-1065
HUANG Ke-li, YIN Shou-wei, YANG Xiao-quan. Effects of high pressure microfluidization on the structure and functional properties of red beans protein isolate [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(9): 1062-1065
- [7] Zhao Q, Selomulya C, Xiong H, et al. Comparison of functional and structural properties of native and industrial process-modified proteins from long-grain indica rice [J]. Journal of Cereal Science, 2012, 56(3): 568-575
- [8] Zhao Q, Xiong H, Selomulya C, et al. Effects of spray drying and freeze drying on the properties of protein isolate from rice dreg protein [J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(7): 1759-1769

- [9] Rastogi N, K Raghavarao, V Balasubramaniam, et al. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2007, 47(1): 69-112
- [10] Hu X, M Zhao, J Shi, et al. Effects of combined high-pressure homogenization and cross-linking on physicochemical, functional and conformation properties of peanut proteins [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(16): 8886-8894
- [11] Floury J, A Desrumaux, J Legrand. Effect of ultra-high-pressure homogenization on structure and on rheological properties of soy protein-stabilized emulsions [J]. *Journal of Food Science*, 2002, 67(9): 3388-3395
- [12] Yan W, L Qiao, X Gu, et al. Effect of high pressure treatment on the physicochemical and functional properties of egg yolk [J]. *European Food Research and Technology*, 2010, 231(3): 371-377
- [13] Wang X S, C H Tang, B S Li, et al. Effect of high-pressure treatment on some physicochemical and functional properties of soy bean isolates [J]. *Food Hydrocolloids*, 2008, 22(4): 560-567
- [14] Liu J, Ru Q, Ding Y. Glycation a promising method for food protein modification: physicochemical properties and structure, a review [J]. *Food Research International*, 2012, 49: 170-183