

商用白色玉米朊的性质分析及其质量评价

徐斌¹, 史嘉辰¹, 韩及华¹, 薛丁萍¹, 李运通¹, 李波², 吴其飞¹

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013) (2. 江苏科技大学粮食学院, 江苏镇江 201003)

摘要: 为弥补我国白色玉米朊生产企业及使用单位无检验标准可依的不足, 本研究采用化学分析与仪器分析的方法, 对商用白色玉米朊的化学组成、重金属含量、色素含量、溶解性, 分子量分布和蛋白质结构进行了全面的质量评价。结果表明, 白色玉米朊产品中蛋白质与重金属含量均满足国家药典标准。色素含量仅为黄色玉米朊的 22.18%, 且无明显变性现象。相比黄色玉米朊, 白色玉米朊产品分子量与之相近, 但二级结构中的 α -螺旋含量由 56.37% 上升至 60.42%, β -折叠含量由 10.51% 降低至 5.92%, 三级结构则无明显变化。造成以上结果的原因主要是, 脱色处理使白色玉米朊产品中的 β -玉米朊、色素和变性蛋白含量降低, α -玉米朊含量显著提高。因此, 白色玉米朊的生产企业和使用单位可根据实际情况, 建立多层次的白色玉米朊质量评价体系。而本研究为玉米朊相关的理论研究提供了参考。

关键词: 白色玉米朊; 脱色; 质量评价; 化学分析; 仪器分析

文章编号: 1673-9078(2019)02-61-67

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.2.009

Evaluation of Properties and Quality of Commercial White Zein Products

XU Bin¹, SHI Jia-chen¹, HAN Ji-hua¹, XUE Ding-ping¹, LI Yun-tong¹, LI Bo², WU Qi-fei¹

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

(2. School of Grain Science and Technology, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 201003, China)

Abstract: In order to fill the gap in this inspection standards for the production and application of white zein products in China, this research evaluated comprehensively the quality of commercial white zein *via* chemically and instrumentally analyzing the chemical composition, heavy metal content, pigment content, zein solubility, molecular weight distribution and protein structure. The results showed that the contents of protein and heavy metals in the white zein met the requirements of the Chinese Pharmacopoeia and National Standards. The pigment content of white zein was only 22.18% of that of yellow zein, and there was no obvious denaturation in white zein. Compared with yellow zein, the white zein had a similar molecular weight and tertiary structure but altered secondary structure (α -helix content, increased from 56.37% to 60.42%; β -sheet content, decreased from 10.51% to 5.92%). These results were mainly due to the decolorization treatment which had reduced the contents of β -zein, pigment and denatured protein whilst increased the content of α -zein. Therefore, a multi-level quality evaluation system should be established by manufacturers and users according to the actual conditions. This study provides a reference for theoretical research related to zein.

Key words: white zein; decolorization; quality assessment; chemical analysis; instrumental analysis

玉米朊是玉米中主要的贮藏蛋白, 占总蛋白含量的 40%~50%, 具有良好的疏水性、阻氧性和成膜性, 在食品、药品和化妆品等领域具有广阔的应用前景。但是, 通过主流玉米朊生产工艺所获得的产品为黄色, 同时还有部分产品含有异味物质(二阿魏酰胺丁二胺)^[1], 极大限制了玉米朊的应用。因此, 有不少企业使用活性炭脱色生产白色玉米朊, 得到的白色玉米朊感

收稿日期: 2018-10-17

基金项目: 江苏省重点研发计划项目 (BE2016348)

作者简介: 徐斌 (1969-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 面条加工及粮食副产物深加工技术与装备开发

通讯作者: 吴其飞 (1972-), 男, 副研究员, 研究方向: 粮食副产物精深加工技术与装备开发

官好、纯度高。现有文献报道大多集中在这类白色玉米朊得率和色素含量的测定, 而没有对白色玉米朊产品质量进行全面评价。

目前, 生产与应用玉米朊的企业和单位对白色玉米朊质量的评价主要是以《中国药典》为依据, 以产品性状、蛋白质含量、粗脂肪含量、水分含量、灰分含量、重金属含量以及微生物限度作为评价指标。该方法存在两处不足: 一是评价指标不够全面, 缺少玉米朊含量、变性程度、高级结构等评价指标; 二是评价体系建立在黄色玉米朊的基础上, 并未对白色玉米朊进行分级; 因此, 迫切需要建立一套更科学、更完备的白色玉米朊质量评价体系, 以满足用户不同的需求。2011年, Sessa 等^[2]对白色玉米朊产品质量进行了

分析,其中包括对产品纯度、脱色程度、蛋白质分子量及其二级结构等方面的研究,这些研究为进一步完善玉米朊产品质量评价体系提供了参考。

本文采用传统化学分析方法与现代仪器分析手段,对玉米朊的化学组成、重金属含量、色素含量、变性程度、蛋白质分子量及其结构进行了系统分析,所得研究成果不仅对指导玉米朊企业生产,严把质量关具有重要意义;同时也为玉米朊的相关理论研究提供了参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄色玉米朊、白色玉米朊,高邮市日星药用辅料

有限公司; β -胡萝卜素标品,梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;砷标准溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$),北京仪化通标科技有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

J-815 分光偏振仪,日本 JASCO 公司;Nexus 670 傅里叶变换红外光谱仪,美国 Nicolet 公司;BR4 冷冻离心机,法国 Jouan 公司;UV-1801 紫外/可见分光光度计,北京瑞利分析仪器公司;HB43-S 型卤素水分快速测定仪,梅特勒-托利多公司;分析天平 BSA124S,德国赛多利斯公司。

1.3 试验方法

1.3.1 玉米朊的制备

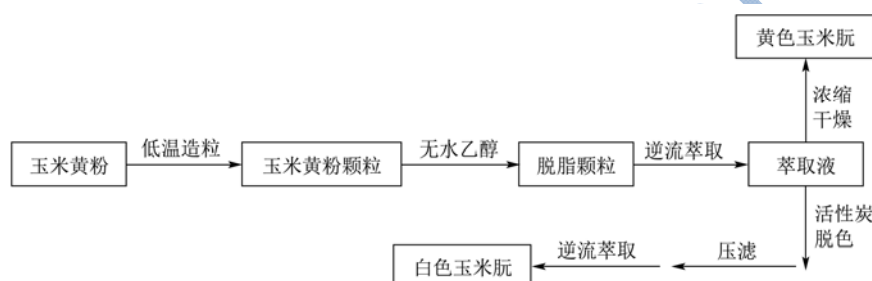


图1 玉米朊制备流程图

Fig.1 The preparation flow of zein

玉米朊的制备参照专利方法^[3],首先将原料玉米黄粉制粒,然后用无水乙醇脱脂,再向脱脂后的玉米黄粉颗粒中加入5倍体积的90%乙醇溶液,室温下逆流浸提12h,得到玉米朊萃取液。若将萃取液直接进行浓缩干燥,则得到黄色玉米朊产品;若先将萃取液进行活性炭脱色,然后压滤分离活性炭,再对脱色液进行浓缩干燥,则得到白色玉米朊产品。具体制备工艺如图1所示。

1.3.2 理化指标测定

玉米朊水分含量采用水分快速测定仪测定(方法1560.11)。

玉米朊粗蛋白、粗脂肪、灰分含量测定分别参考AACC 46-30、AACC 30-25和AACC 08-01方法。

1.3.3 卫生指标测定

玉米朊铅含量测定,参考《美国药典/国家处方集》(USP38-NF33 S2)重金属(铅)限量试验法第二法^[4]。

玉米朊砷含量测定,参考《美国药典》第26版中砷盐检测方法第二法^[5]。

1.3.4 特征性指标测定

玉米朊色素含量测定^[6],以 β -胡萝卜素质量浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线,并得到回归曲线方程为 $Y=0.1376X-0.0075$ ($R^2=0.999$),色素

浓度在1.0~6.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间呈良好的线性关系。相同条件下,分别称取白色玉米朊和黄色玉米朊样品各2.000g,用90%乙醇溶液定容至50mL,并在448nm下测定其吸光值,根据标准曲线计算样品中的色素含量。

玉米朊溶解性试验,移取40mL 90%乙醇溶液于50mL 奈氏管中,并加入1.000g玉米朊样品震荡,使其充分溶解;重复该操作,向奈氏管中继续加入玉米朊,共计3.000g。涡旋混合5min,然后室温下静置1h,观察沉淀物的发生情况。

1.3.5 蛋白质解析

SDS-PAGE 电泳^[7],分别称取白色玉米朊和黄色玉米朊样品各0.500g,用0.055mol/L Tris 缓冲溶液定容至25mL,此时溶液浓度为2mg/mL。缓冲液组成为:2% SDS,0.0625mol/L Tris,10%甘油和0.01%溴酚蓝;混合液煮沸15min,1000r/min离心10min。上样量为10 μL ,浓缩胶浓度为2.5%,分离胶浓度为12%。结束后,用0.1%考马斯亮蓝G-250染色,再用40%甲醇和10%乙酸脱色,最后成像保存。

FT-IR 分析^[2],分别称取白色、黄色玉米朊样品各0.001g置于研钵内,加入0.1g溴化钾研磨混匀,然后压制薄片,进行FT-IR分析。设置仪器光谱测试范围为:400~4000 cm^{-1} ,分辨率1.9 cm^{-1} ,扫描64次。

圆二色光谱 (CD) 分析^[7], 取适量白色玉米朊和黄色玉米朊样品溶于 90%乙醇溶液, 配置成 1.00 mg/mL (近紫外用) 和 0.02 mg/mL (远紫外用) 的溶液, 并过 0.22 μm 的滤膜备用。设置仪器光谱扫描波长: 近紫外为 250~320 nm, 远紫外为 200~250 nm, 带宽 0.1 nm, 并在 25±1 °C 下重复扫描 3 次, 响应时间 0.5 s, 扫描速度 20 nm/min, 灵敏度 20 m deg/cm。用 1 cm 石英比色皿测定, 所得圆二色性以平均残基摩尔椭圆率 θ (deg·cm²·dmol⁻¹) 表示, 其计算公式为:

$$\theta = \Delta\epsilon \times MRW / (C \times 1 \times 10)$$

式中: Δε 是 CD 光谱仪数据输出值, ×10⁻³ deg; MRW 是玉米朊平均残基分子量, 取值 110; 1 是比色皿的池宽, cm; C 是样品浓度, g/mL。

通过 Dichroweb 在线软件计算玉米朊样品中 α-螺旋、β-折叠和不规则卷曲结构含量。

1.4 数据分析

表 1 玉米朊样品中主要成分

Table 1 Main components in zein

样品名称	水分/%	粗蛋白/%	粗脂肪/%	灰分/%
黄色玉米朊	6.51 ± 0.00 ^b	96.62 ± 0.62 ^a	0.62 ± 0.04 ^b	0.16 ± 0.01 ^a
白色玉米朊	4.56 ± 0.01 ^a	98.67 ± 0.66 ^b	0.37 ± 0.02 ^a	0.14 ± 0.01 ^a

注: 同列中的不同字母表示显著性差异, p<0.05; 粗蛋白、粗脂肪和灰分均以干基计。

2.1.2 重金属含量

水源和土壤是玉米及玉米朊中重金属 (铅, 砷等) 的主要来源, 检验玉米朊产品中重金属含量是否超标是评价其产品质量的一个重要指标。图 2 和图 3 为玉米朊中铅含量的检测结果。本试验玉米朊中铅含量的高低, 通过其在比色试管中溶液颜色的深浅来判断, 颜色越深则铅含量越高。由图 3 可见, 两种玉米朊样品中铅含量均在 2 μg/g 左右且差别不大, 符合《中国药典》(2015 版)^[8] 和《美国药典/国家处方集》(USP38-NF33 S2) 对玉米朊中铅限量规定 (≤20 μg/g)。

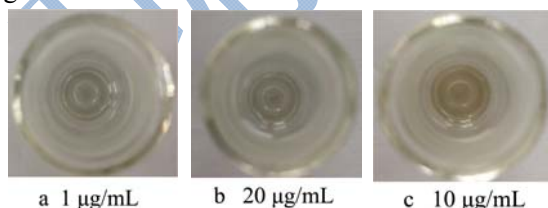


图 2 不同含量的标准铅溶液

Fig.2 Different content of standard lead solution

图 4 和图 5 为玉米朊中砷含量的检测结果。本试验玉米朊中砷含量的高低, 通过其在比色试管中溶液颜色的深浅来判断, 同样是颜色越深则砷含量越高。由图 5 可见, 黄色玉米朊中砷含量略高于白色玉米朊,

试验重复三次, 样品的检测结果以平均值±标准差表示。采用 SPSS22.0 和 Excel 软件进行数据分析和作图。

2 结果与讨论

2.1 理化与卫生指标分析

2.1.1 化学组成

玉米朊主要组成成分的含量如表 1 所示。黄色玉米朊经脱色后, 蛋白质含量由 96.62% 上升至 98.67%, 粗脂肪和灰分含量降低, 其中粗脂肪含量下降幅度明显。试验结果表明, 采用活性炭脱色技术生产白色玉米朊, 不仅能达到脱色的目的, 同时也可提高产品纯度。这是因为活性炭具有石墨微晶结构, 微孔空隙发达且吸附能力强, 对玉米朊、色素和脂肪等物质均有不同程度地吸附, 即活性炭脱色玉米朊的过程同时也是一个除杂的过程。

但两种玉米朊样品中砷含量均低于 2 μg/g, 符合《美国药典》对玉米朊中砷限量规定 (≤3 μg/g)。

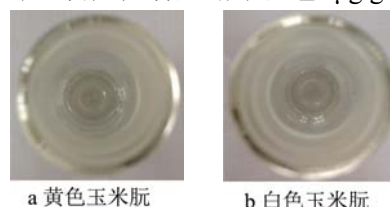


图 3 玉米朊样品中的铅含量

Fig.3 Lead content of zein solution

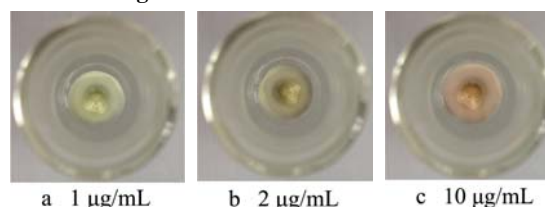


图 4 不同含量的标准砷溶液

Fig.4 Different content of standard arsenic solution

综合分析玉米朊样品的理化指标与卫生指标可知, 白色玉米朊的蛋白含量达到了国家药典规定氮含量的要求 (13.1%~17.0%), 粗脂肪和灰分含量也远低于国家药典规定的含量 (8.0%, 0.3%); 同时, 重金属含量也符合相关规定。因此, 白色玉米朊产品的质量已达到基本要求。

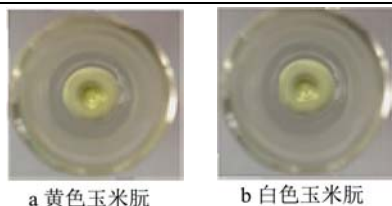


图5 玉米胚样品中的砷含量

Fig.5 Arsenic content of zein solution

2.2 特异性指标分析

2.2.1 色素含量

玉米胚中的色素主要是由 β -胡萝卜素、玉米黄素和叶黄素等几种类胡萝卜素组成。以 β -胡萝卜素为基准物质,根据标准曲线计算得到黄色玉米胚和白色玉米胚样品的色素含量分别 $8.06 \times 10^{-2} \mu\text{g}/\text{mg}$ 和 $1.79 \times 10^{-2} \mu\text{g}/\text{mg}$,即白色玉米胚色素含量仅为黄色玉米胚的22.18%。结果表明,经脱色处理得到的白色玉米胚产品色度明显改善,色泽洁白。

2.2.2 溶解性

玉米胚在提取和脱色过程中,经过长时间的乙醇溶液浸泡及加热脱溶操作,会使玉米胚蛋白变性而出现凝聚现象,变性后的玉米胚复溶于乙醇溶液后会产生沉淀。因此,通过对玉米胚样品进行溶解性试验,可以直观地反应出玉米胚产品的变性程度。其结果如图6所示,采用90%的乙醇溶液分别复溶白色玉米胚和黄色玉米胚样品,均未观察到明显沉淀。这表明两种玉米胚样品蛋白均无明显变性。



图6 玉米胚样品溶解情况

Fig.6 The dissolution of zein samples

通过特征性指标分析可知,白色玉米胚产品的色泽洁白,色素含量低,且生产过程中未发生变性,可以满足使用企业和单位的需求。此外,特征性指标的分析步骤简单,试验操作方便,所需仪器价格适宜,但反映的产品质量较为全面,可作为相关企业的质检依据。

2.3 蛋白质特性分析

2.3.1 分子量分布

图7为两种玉米胚样品的电泳图,两种玉米胚样品泳道中均出现了四个条带,其中位于19 ku (Z19)和22 ku (Z22)附近的两个条带颜色明显,与Matsushima^[9]和Shi^[10]等人的研究结果一致,玉米胚中大部分蛋白质集中在这里,应该属于 α -玉米胚^[11,12](占玉米胚总量75%~80%);位于40 ku附近的两个条带颜色非常浅,该分子量的蛋白质在玉米胚中所占比例很小,应该是 α -玉米胚二聚物^[13]。根据上述结果可知,活性炭脱色处理并未改变玉米胚的分子量分布。

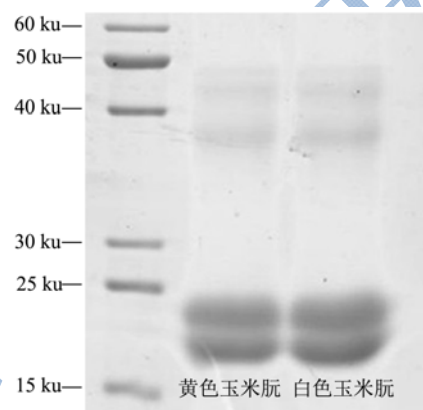


图7 玉米胚样品电泳图

Fig.7 Electrophoresis of zein samples

2.3.2 蛋白质结构

根据文献报道,玉米胚的二级结构主要包括 α -螺旋, β -折叠, β -转角和无规卷曲^[14,15]。酰胺I带(1600~1700 cm^{-1})的特征峰中主要为 α -螺旋(1650 cm^{-1})和 β -折叠(1630 cm^{-1} 处)^[16]。由玉米胚样品的FT-IR图(图8)可见,白色玉米胚酰胺I带特征峰从1646 cm^{-1} 蓝移至1648 cm^{-1} 。对比纯蛋白质的平均 α -螺旋结构吸收峰1654 cm^{-1} ^[17],白色玉米胚可能是由于含有相对较少的 β -折叠结构而使吸收峰位置发生了一定程度的蓝移(更接近于1650 cm^{-1})。Sessa等研究指出,黄色玉米胚中 β -玉米胚(β -折叠比 α -螺旋含量高)含量较大,因此处于1650 cm^{-1} 的吸收峰会有一定程度的红移;但随着脱色程度的增加, β -折叠含量随 β -玉米胚含量的降低而降低,该吸收峰将发生一定程度的蓝移。

酰胺II带的特征峰在1530 cm^{-1} 和1515 cm^{-1} 处,该峰主要是由N-H键弯曲振动和C-N键伸缩振动引起^[18]。由图8可知,白色玉米胚的酰胺II带特征峰发生了轻微变化,在1530 cm^{-1} 处发生蓝移(由1534 cm^{-1} 蓝移至1538 cm^{-1}),而在1515 cm^{-1} 处几乎没发生移动。

酰胺III带的特征峰位于1238 cm^{-1} 到1244 cm^{-1} 之间,是由N-H面内弯曲振动和C-N键伸缩振动共同引起的,对蛋白质二级结构的变化非常敏感,主要受

无规卷曲和 β -折叠结构影响^[19-21]。由图8可知,白色玉米朮酰胺III带的特征峰由 1236 cm^{-1} 蓝移至 1238 cm^{-1} 。综合而言,白色玉米朮 FT-IR 谱图中酰胺 I、II 和 III 带的特征吸收峰均发生一定程度蓝移,与黄色玉米朮相比,白色玉米朮的杂质含量降低,纯度提高。

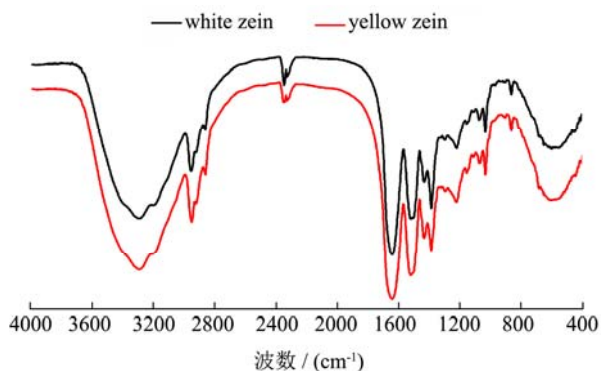


图8 玉米朮样品的 FT-IR 图

Fig.8 FT-IR of zein samples

相关研究表明,在 CD 图谱中 α -螺旋显示为 190 nm 处的正峰及 208 nm 和 222 nm 左右的双负槽; β -折叠显示为 190 nm 处的正峰和 215 nm 处的负槽^[22]。因此,通过相关 CD 图谱分析和数据拟合,可计算出玉米朮二级结构中 α -螺旋和 β -折叠等组分的含量^[23]。由玉米朮样品的远紫外 CD 光谱图(图9)可知,白色玉米朮和黄色玉米朮所得峰形相似,在 190 nm 处的正峰及 208 nm 和 222 nm 左右的负峰位置均未发生变化(蓝移或者红移),但是,白色玉米朮的正峰(190 nm)和负峰(208 nm 和 222 nm)峰高绝对值明显大于黄色玉米朮。结合 K2D 软件的拟合结果表明^[24],与黄色玉米朮相比,白色玉米朮中 α -螺旋含量由 56.37% 上升至 60.42% , β -折叠含量由 10.51% 降低至 5.92% ,无规则卷曲结构的含量则保持在 33.54% 左右,其二级结构组成与 Cabra^[25]和 Kretschmer^[26]的研究结果相类似。可能是由于活性炭脱色过程中部分 β -玉米朮与色素被同时吸附带走,导致了上述白色玉米朮二级结构的改变。

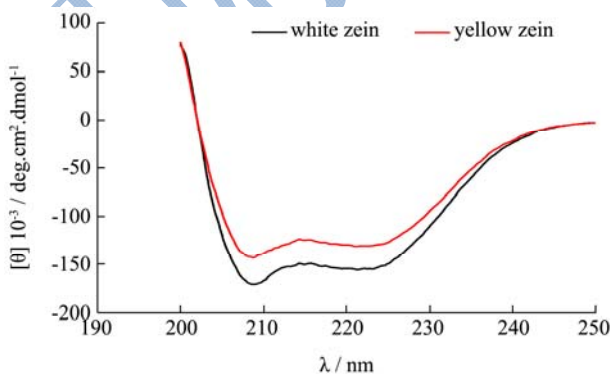


图9 玉米朮样品远紫外 CD 图

Fig.9 Far-UV CD spectra of zein samples

玉米朮中的芳香族氨基酸(色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸)及二硫键等均具有紫外生色团残基,当玉米朮分子处于不对称环境时,这些氨基酸在近紫外区($250\sim 320\text{ nm}$)能够表现出 CD 信号^[27]。色氨酸在 290 nm 和 305 nm 处有特征峰;酪氨酸在 275 nm 和 282 nm 处有特征峰;苯丙氨酸在 255 、 260 、 270 nm 有弱的但比较尖锐的峰带;二硫键的变化信息也反映在整个近紫外 CD 光谱上^[28];此外,近紫外 CD 光谱的形状与大小还受到芳香族氨基酸的种类,所处环境及空间位置结构的影响。因此,近紫外的 CD 光谱可作为一种灵敏的光谱探针,用以研究蛋白质三级结构的精细变化。玉米朮样品的近紫外 CD 光谱如图10所示,由于玉米朮分子中几乎不含有色氨酸,所以 $290\sim 320\text{ nm}$ 波长范围内没有明显峰值; 260 nm 和 270 nm 附近的正峰是苯丙氨酸(占总氨基酸的 6.80%)的峰带; 275 nm 左右的正峰是酪氨酸(占总氨基酸的 5.10%)的峰带^[29,30]。对比白色玉米朮和黄色玉米朮的近紫外 CD 光谱,两者峰型相似,峰值差异小,表明脱色过程并未对玉米朮的三级结构造成影响。Cabra^[31]等的研究表明,玉米朮是由球状、扁长的蛋白单体形成椭圆聚集体,是一系列重复、包裹的 α -螺旋组成紧密结构,几乎不存在三级结构。所以,白色玉米朮和黄色玉米朮的差异不大。

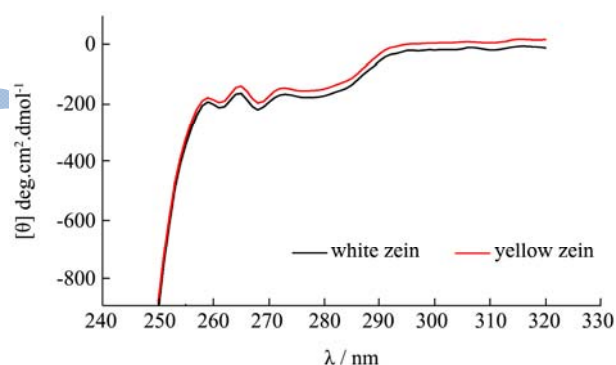


图10 玉米朮样品近紫外 CD 图

Fig.10 Near-UV CD spectra of zein samples

通过 SDS-PAGE、FT-IR 和 CD 等一系仪器分析,不但可以分析白色玉米朮的结构,而且可以进一步证明白色玉米朮的纯度较高,为后人建立系统科学的白色玉米朮评价方法提供了理论指导。

3 结论

3.1 化学分析结果表明,玉米朮的蛋白质含量、脂肪含量、灰分含量以及铅,砷等重金属含量的检测均满足了中国药典对玉米朮产品理化指标的基本要求。在此基础上,本研究增加了色素含量测定与溶解性试验,作为白色玉米朮产品的特征性指标,进一步完善了白

色玉米朊的质量评价。

3.2 仪器分析结果表明,白色玉米朊主要是由 α -玉米朊组成,与黄色玉米朊分子量分布基本一致。相比于黄色玉米朊,白色玉米朊的酰胺I、II和III带处的特征吸收峰均发生一定程度的蓝移,且白色玉米朊中 α -螺旋含量上升, β -折叠含量降低。这些结果进一步证明,白色玉米朊产品中 β -玉米朊和色素含量降低,产品纯度提高。

3.3 综上,白色玉米朊生产企业与使用单位,可根据实际需要,采用一般化学分析、紫外-可见光谱分析以及溶解性试验、蛋白质结构分析等多个层次进行白色玉米朊产品的质量评价。

参考文献

- [1] Bauer J L, Harbaumpiyada B, Stöckmann H, et al. Antioxidant activities of corn fiber and wheat bran and derived extracts [J]. *Lwt-food Science and Technology*, 2013, 50(1): 132-138
- [2] D J Sessa, K K Woods. Purity assessment of commercial zein products after purification [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2011, 88(7): 1037-1043
- [3] 董英,徐春芳,徐斌,等.一种高纯度 α -玉米朊的制备方法:中国,CN1899076 [P] 2007-1-24
DONG Ying, XU Chun-Fang, XU Bin, et al. A preparation method of high-purity α -zein: China, CN1899076 [P] 2007-1-24
- [4] The United States Pharmacopeial Convention, Inc. The United States Pharmacopoeia 38/ National Formulary 33 [S]. Rockville MD: The United States Pharmacopeial Convention, 2015
- [5] The United States Pharmacopeial Convention, Inc. The United States Pharmacopoeial [S]. Rockville MD: The United States Pharmacopeial Convention, Inc., 2003
- [6] 薛丁萍,徐斌,韩及华,等.玉米朊脱色用活性炭的筛选及其脱色工艺的优化[J].*中国粮油学报*,2014,29(8):11-16
XUE Ding-ping, XU Bin, HAN Ji-hua, et al. Screening of activated carbon for zein decolorization and optimization of decolorization process [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2014, 29(8): 11-16
- [7] 罗晶,涂瑾,黄婷玉,等.玉米醇溶蛋白的磷酸化修饰及结构研究[J].*现代食品科技*,2015,31(8):88-94
LUO Jing, TU Jin, HUANG Ting-yu, et al. Phosphorylation of zein and its structure [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(8): 88-94
- [8] 国家药典委员会,中华人民共和国药典 2015 年版[S]
National Pharmacopoeia Commission, The Chinese Pharmacopoeia [S]
- [9] Matsushima N, Danno G, Takezawa H, et al. Three-dimensional structure of maize α -zein proteins studied by small-angle X-ray scattering [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1997, 1339(1): 14-22
- [10] Shi K, Huang Y, Yu H, et al. Reducing the brittleness of zein films through chemical modification [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(1): 56-61
- [11] De Folter J W J, Van Ruijven M W M, Velikov K P. Oil-in-water pickering emulsions stabilized by colloidal particles from the water-insoluble protein zein [J]. *Soft Matter*, 2012, 8(25): 6807-6815
- [12] Qixin Zhong, Shinya Ikeda. Viscoelastic properties of concentrated aqueous ethanol suspensions of α -zein [J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 28(1): 46-52
- [13] Qin Wang, Phillip Geil, Graciela Padua. Role of hydrophilic and hydrophobic interactions in structure development of zein films [J]. *Journal of Polymers and Environment*, 2004, 12(3): 197-202
- [14] Lopes J L S, Miles A J, Whitmore L, et al. Distinct circular dichroism spectroscopic signatures of polyproline II and unordered secondary structures: Applications in secondary structure analyses [J]. *Protein Science*, 2015, 23(12): 1765-1772
- [15] Selling G W, Hamaker S A H, Sessa D J. Effect of solvent and temperature on secondary and tertiary structure of zein by circular dichroism [J]. *Cereal Chemistry*, 2007, 84(3): 265-270
- [16] Forato L A, Bicudo T D C, Colnago L A. Conformation of α zeins in solid state by Fourier transform IR [J]. *Biopolymers*, 2003, 72(6): 421-426
- [17] Goormaghtigh E, Cabiaux V, Ruyschaert J M. Determination of Soluble And Membrane Protein Structure by Fourier Transform Infrared Spectroscopy [M]. *Physicochemical Methods in the Study of Biomembranes*. Springer US, 1994
- [18] Silverstein R M. Spectrometric Identification of Organic Compounds [M]. John Wiley & Sons, Inc, 1998
- [19] G Anderle and R Mendelsohn. Thermal denaturation of globular proteins. Fourier transform-infrared studies of the amide III spectral region [J]. *Biophysical Journal*, 1987, 52(1): 69-74
- [20] Kaiden K, Matsui T, Tanaka S. A study of the amide III Band

- by FT-IR spectrometry of the secondary structure of albumin, myoglobin, and γ -globulin [J]. Applied Spectroscopy, 1987, 41(2): 180-184
- [21] Cai S, Singh B R. Identification of β -turn and random coil amide III infrared bands for secondary structure estimation of proteins [J]. Biophysical Chemistry, 1999, 80(1): 7-20
- [22] Soliman E A, Furuta M. Influence of γ -irradiation on mechanical and water barrier properties of corn protein-based films [J]. Radiation Physics & Chemistry, 2009, 78(7): 651-654
- [23] 徐斌.微波辐射对小麦胚芽的稳定化作用机制及其应用研究[D].镇江:江苏大学,2011
- XU Bin. Research on the mechanism of wheat germ stabilization by microwave treatment and its application [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2011
- [24] Whitmore Lee, Wallace B A. Protein secondary structure analyses from circular dichroism spectroscopy: Methods and reference databases [J]. Biopolymers, 2008, 89(5): 392-400
- [25] Cabra V, Arreguin R, Galvez A, et al. Characterization of a 19 ku α -zein of high purity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(3): 725-729
- [26] Kretschmer C B. Infrared spectroscopy and optical rotatory dispersion of zein, wheat gluten and gliadin [J]. The Journal of Physical Chemistry, 1957, 61(12): 1627-1631
- [27] 林凯蕾.圆二色光谱预测蛋白质二级结构组成方法评析[D].上海:复旦大学,2012
- LIN Kai-lei. Evaluation of the method of predicting protein secondary structure by circular dichroism spectroscopy [D]. Shanghai: Fudan University, 2012
- [28] Kelly S M, Price N C. The application of circular dichroism to studies of protein folding and unfolding [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology, 1997, 1338(2): 161-185
- [29] 黄汉昌,姜招峰,朱宏吉.紫外圆二色光谱预测蛋白质结构的研究方法[J].化学通报,2007,70(7):501-506
- HUANG Han-chang, JIANG Zhao-feng, ZHU Hong-ji. The methods of protein conformation predicted by UV-circular dichroism [J]. Chemistry, 2007, 70(7): 501-506
- [30] Bugs M, Forato L B R, Fischer H, et al. Spectroscopic characterization and structural modeling of prolamin from maize and pearl millet [J]. European Biophysics Journal, 2004, 33(4): 335-343
- [31] Selling G W, Hamaker S A H, Sessa D J. Effect of solvent and temperature on secondary and tertiary structure of zein by circular dichroism [J]. Cereal Chemistry, 2007, 84(3): 265-270