

# 过氧自由基氧化对大米蛋白结构的影响

吴伟, 李彤, 蔡勇建, 吴晓娟, 林亲录

(中南林业科技大学食品科学与工程学院, 稻谷及副产物深加工国家工程实验室, 湖南长沙 410004)

**摘要:** 采用不同浓度 2,2'-盐酸脒基丙烷 (AAPH) 在有氧条件下热分解产生的过氧自由基代表脂质氧化过程中的脂质自由基, 研究过氧自由基氧化对大米蛋白结构的影响。结果表明, 当 AAPH 浓度从 0 增加至 25 mmol/L, 大米蛋白羰基和二硫键含量分别由 3.77 和 13.88 nmol/mg 增加至 7.26 和 15.73 nmol/mg, 游离巯基由 7.32 nmol/mg 下降至 1.97 nmol/mg, 表明过氧自由基诱使大米蛋白发生了氧化; 傅里叶红外分析表明蛋白质氧化导致大米蛋白  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠含量下降,  $\beta$ -转角和无规卷曲含量上升。随着大米蛋白氧化程度的增加, 大米蛋白粒径从 126 nm 增加到 216 nm, 表面疏水性从 1053 下降到 568, 内源荧光最大荧光峰位蓝移, 内源荧光强度下降, 并且在分子量分布图中高分子量聚集体含量逐渐增加。表明过氧自由基氧化修饰导致大米蛋白结构改变和形成氧化聚集体。

**关键词:** 过氧自由基; 大米蛋白; 聚集; 蛋白质氧化

文章编号: 1673-9078(2016)11-1111-116

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.11.017

## Effect of Oxidative Modification by Peroxyl Radical on the Structure of Rice Protein

WU Wei, LI Tong, CAI Yong-jian, WU Xiao-juan, LIN Qin-lu

(School of Food Science and Engineering, Center South University of Forestry and Technology, National Engineering Laboratory for Rice and By-product Deep Processing, Changsha 410004, China)

**Abstract:** The peroxyl radicals derived from the thermal decomposition of different concentrations of 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) under aerobic conditions were selected to be representative of lipid peroxidation-derived lipid radicals, and the effect of oxidative modification by peroxyl radicals on the structure of rice protein was studied. The results showed that when the concentration of AAPH increased from 0 to 25 mmol/L, the protein carbonyl and disulfide contents of rice protein increased from 3.77 and 13.88 nmol/mg to 7.23 and 15.73 nmol/mg, respectively, while the free sulfhydryl content of rice protein decreased from 7.32 to 1.97 nmol/mg, indicating that the peroxyl radical induced the oxidation of rice protein. Fourier transform infrared spectroscopy indicated that the oxidation of the protein led to a decrease in  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet motifs, and an increase in  $\beta$ -turn and random-coil motifs. As the extent of rice protein oxidation increased, the particle size of rice protein increased from 126 nm to 216 nm and the surface hydrophobicity decreased from 1053 to 568. Meanwhile, the wavelength of the maximum emission peak of intrinsic fluorescence was blue-shifted, and the intrinsic fluorescence intensity was decreased. Besides, the content of high-molecular aggregates in the molecular weight distribution of rice protein gradually increased. The results indicated that the oxidation of rice protein induced by peroxyl radicals changed the structure of rice protein, and formed oxidative aggregates.

**Key words:** peroxyl radical, rice protein, aggregation, protein oxidation

我国是全球最大的稻谷生产国, 近年来稻谷年产量已突破 2 亿 t。除了满足居民日常食用和用作食品加工原料外, 我国稻谷年产量的 40% 需入库贮藏, 且贮藏周期多在一年以上<sup>[1]</sup>。稻谷在贮藏过程中发生一系列的物理、化学和生理变化, 导致稻谷陈化和稻米蒸煮食用品质下降<sup>[2]</sup>。研究稻谷陈化机理、制定有效

收稿日期: 2015-12-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31201319); 湖南省教育厅项目 (14C1181); 粮油深加工与品质控制 2011 湖南省协同创新项目

作者简介: 吴伟 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 粮食、油脂与植物蛋白工程

调控措施与解决稻谷贮藏后蒸煮食用品质降低的问题已成为粮食储藏领域的研究热点<sup>[2,3]</sup>。近年来研究发现稻谷贮藏过程中蛋白质、淀粉和脂质等组分的变化是导致陈化稻米蒸煮食用品质下降的主要原因。稻米蒸煮食用品质主要与大米淀粉颗粒的吸水、膨润和糊化作用有关, 稻谷贮藏过程中淀粉含量和结构的变化幅度较小, 对稻米蒸煮食用品质影响甚微; 分布在大米淀粉颗粒周围的大米蛋白在稻谷陈化过程中结构变化显著, 陈化可导致大米蛋白游离巯基氧化形成二硫键, 使得大米蛋白分子量增加、溶解性下降, 进而通过改变稻米淀粉颗粒的吸水、膨润和糊化作用影响稻米的

蒸煮食用品质<sup>[2,4]</sup>。由此可见,稻谷贮藏过程中稻米蒸煮食用品质的降低与大米蛋白结构变化有关,而大米蛋白结构的变化主要受脂质氧化反应的调控<sup>[5]</sup>。稻谷在贮藏过程中脂质容易发生水解反应,形成的多不饱和脂肪酸极易发生脂质氧化反应,形成的脂质自由基和活性脂质氧化产物具有氧化修饰蛋白质的能力<sup>[6]</sup>。然而,目前还不清楚脂质自由基和活性脂质氧化产物分别在多大程度引起稻谷贮藏过程中大米蛋白氧化。本研究以大米蛋白为原料,采用 2,2'-盐酸脒基丙烷(AAPH)在有氧条件下热分解产生的过氧自由基代表脂质自由基,建立过氧自由基-大米蛋白氧化体系,探究过氧自由基氧化对大米蛋白性质的影响,为全面研究稻谷贮藏过程中脂质氧化反应诱使大米蛋白结构变化及其对米饭食用品质的影响奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

新收获金优 207(籼米):湖南粮食集团有限责任公司;5,5'-二硫代二硝基苯甲酸(DNTB)、1-苯氨基萘-8-磺酸:美国 Sigma-Aldrich 公司;其他试剂为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

Sorvall LYNX 6000 高速落地离心机:美国 Thermo Fisher 公司;SHA-2A 水浴恒温振荡器:北京中兴伟业仪器有限公司;FD5-4 冷冻干燥机:美国 GOLD-SIM 公司;Nano ZS 纳米粒度分析仪:英国 Malvern 公司;F-7000 荧光光谱仪:日本日立公司;IRTracer-100 傅里叶红外光谱仪:日本岛津公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 大米蛋白的制备

以新收获金优 207 籼米为原料,磨粉过 80 目,将米粉以 1:7(m/V)料液比与去离子水混合,在 40 °C 条件下用 2 mol/L NaOH 调 pH 值至 9.0,搅拌 4 h 后将悬浮液在 4 °C 条件下 8000 r/min 离心 20 min,取上清液用 2 mol/L HCl 调 pH 至 4.0,静置 20 min 后在 4 °C 条件下 8000 r/min 离心 15 min,水洗沉淀三次,取蛋白沉淀分散于 4 倍体积的去离子水中,用 2 mol/L NaOH 调 pH 至 7.0,随后冷冻干燥得到大米蛋白。

#### 1.3.2 过氧自由基氧化大米蛋白的制备

将制备的大米蛋白溶解于 0.01 mol/L、pH 7.4 的磷酸盐缓冲溶液中,蛋白浓度为 10 mg/mL,其中含有 0.5 mg/mL NaN<sub>3</sub>。将一定质量的 AAPH 溶解于大米蛋

白溶液中(浓度依次为 0、0.04、0.2、1、5 和 25 mmol/L),25 °C 密封避光条件下振荡反应 24 h,将反应液置于冰浴中使之温度迅速下降至 4 °C 以下,随后将反应液在 4 °C 条件下 10000 r/min 离心 15 min 移除少量冷却过程中出现的不溶性物质(非蛋白质沉淀)。最后在 4 °C 去离子水中透析 72 h 去除未反应的 AAPH,透析过程中每隔 6 h 更换一次去离子水,最后冷冻干燥得到过氧自由基氧化大米蛋白,并置于 4 °C 条件下贮存备用。

#### 1.3.3 大米蛋白羰基含量的测定

根据 Wu 等<sup>[6]</sup>方法采用 2,4-二硝基苯肼比色法测定过氧自由基氧化大米蛋白羰基含量,以 22000 mol/(L·cm)消光系数计算每毫克蛋白质羰基衍生物的摩尔数。

#### 1.3.4 大米蛋白游离巯基及二硫键的测定

参考 Wu 等<sup>[6]</sup>方法。将 0.08 g 大米蛋白溶解于 20 mL、0.1 mol/L 含有 1 mmol/L 乙二醇四乙酸和 1% 十二烷基硫酸钠的 pH 8.0 磷酸盐缓冲液,室温下磁力搅拌 2 h 后 15000 r/min 离心 20 min。取上清液测定游离巯基和总巯基。

#### 1.3.5 大米蛋白二级结构的测定

取 1~2 mg 大米蛋白和 200 mg KBr 混合,研磨均匀后制作透明薄片室温环境进行傅里叶红外扫描,扫描条件:分辨率 4 cm<sup>-1</sup>,扫描范围 400~4000 cm<sup>-1</sup>,每个样品扫描 32 次。利用软件自带傅里叶红外解卷积技术提高分辨率,以 Peakfit 4.12 软件对谱图进行分峰处理。

#### 1.3.6 大米蛋白表面疏水性的测定

将过氧自由基氧化大米蛋白样品溶解于 0.01 mol/L、pH 7.0 磷酸盐缓冲液中,磁力搅拌 2 h 后室温条件 10000 r/min 离心 20 min 收集上清液。以考马斯亮蓝法测定上清液中蛋白浓度,用 0.01 mol/L、pH 7.0 磷酸盐缓冲液稀释蛋白浓度在 0.005~0.5 mg/mL 之间。取不同浓度稀释样品 4 mL,加入 50 μL、0.008 mol/L 1-苯氨基萘-8-磺酸,在 395 nm 激发波长和 473 nm 发射波长下测定荧光强度(灵敏度设定为 6)。以荧光强度对蛋白质浓度作图,外推至蛋白质浓度为 0,曲线初始阶段的斜率即为蛋白质表面疏水性指数。

#### 1.3.7 大米蛋白内源荧光的测定

将过氧自由基氧化大米蛋白样品溶解于 0.01 mol/L、pH 7.0 的磷酸盐缓冲液中,调整蛋白浓度到 0.1 mg/mL。在激发波长 280 nm 条件下得到 300~500 nm 之间的发射光谱(灵敏度为 6),以 0.01 mol/L、pH 7.0 的磷酸盐缓冲液为空白。

#### 1.3.8 大米蛋白粒径的测定

将过氧自由基氧化大米蛋白样品溶解于 0.01

mol/L、pH 7.0 磷酸盐缓冲液中，磁力搅拌 2 h 后室温条件 10000 r/min 离心 20 min 收集上清液，以上清液制备 1 mg/mL 蛋白液，采用纳米粒度分析仪测定大米蛋白粒径分布。

### 1.3.9 大米蛋白分子质量分布的测定

将过氧自由基氧化大米蛋白样品分散于去离子水中配制成蛋白浓度为 1 mg/mL 的溶液，室温下磁力搅拌 2 h 后 10000 r/min 离心 10 min，取上清液通过孔径 0.45 μm 的醋酸纤维素膜，收集滤液进样分析。采用 Water 2690 型液相色谱系统，色谱柱：TSKgel SW G4000SWXL，检测器：Waters 996 光电二极管阵列检测器，流动相：含 0.05 mol/L NaCl 的 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.2)，紫外检测波长：280 nm，流速：1 mL/min，柱温：25 °C。

### 1.4 数据处理与统计分析

采用 Microsoft Excel 2003 和 Origin 7.5 进行数据分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 过氧自由基氧化对大米蛋白氧化程度的影响

表 1 不同浓度 AAPH 制备大米蛋白羰基、游离巯基和二硫键含量

Table 1 Protein carbonyl, free sulfhydryl, and disulfide contents of rice protein treated with different concentrations of AAPH

AAPH 浓度 (/mmol/L)	羰基 (/nmol/mg)	游离巯基 (/nmol/mg)	二硫键 (/nmol/mg)
0	3.77±0.12 <sup>a</sup>	7.32±0.22 <sup>a</sup>	13.88±0.25 <sup>a</sup>
0.04	4.04±0.10 <sup>b</sup>	7.00±0.26 <sup>a</sup>	13.94±0.26 <sup>a</sup>
0.2	4.35±0.14 <sup>c</sup>	5.36±0.21 <sup>b</sup>	14.04±0.23 <sup>a</sup>
1	4.93±0.16 <sup>d</sup>	3.54±0.20 <sup>c</sup>	14.20±0.18 <sup>a</sup>
5	5.63±0.19 <sup>e</sup>	2.71±0.21 <sup>d</sup>	14.67±0.13 <sup>b</sup>
25	7.26±0.16 <sup>f</sup>	1.97±0.20 <sup>e</sup>	15.73±0.17 <sup>c</sup>

注：同一栏中不同字母表示在  $p < 0.05$  水平上有显著差异。

过氧自由基氧化大米蛋白羰基含量如表 1 所示，当 AAPH 浓度为 0 时羰基含量最低为 3.77 nmol/mg，随着 AAPH 浓度增加，羰基含量逐渐上升，表明过氧自由基诱使大米蛋白发生了氧化。AAPH 热降解形成的过氧自由基主要通过氧化蛋白质主肽链和侧链基团导致蛋白质羰基化，AAPH 诱使蛋白质羰基化的类似研究在大豆蛋白<sup>[6,7]</sup>和花生蛋白<sup>[8]</sup>中也有报道。

氨基酸侧链基团中对氧化修饰最敏感的是蛋白质

巯基<sup>[6]</sup>，蛋白质羰基含量无法反应巯基的氧化程度，游离巯基和二硫键含量可表征大米蛋白巯基的氧化程度，结果如表 1 所示，随着 AAPH 浓度的增加，大米蛋白游离巯基含量逐渐减少，二硫键含量持续增加。蛋白质巯基的氧化状态可分为可逆氧化状态和不可逆氧化状态，可逆氧化状态主要是形成二硫键，不可逆氧化状态主要是形成亚磺酸等非二硫共价键，表 1 中游离巯基下降幅度大于二硫键增加幅度，说明一部分游离巯基氧化形成二硫键，另外一部分游离巯基发生了不可逆氧化。

### 2.2 过氧自由基氧化对大米蛋白二级机构的影响

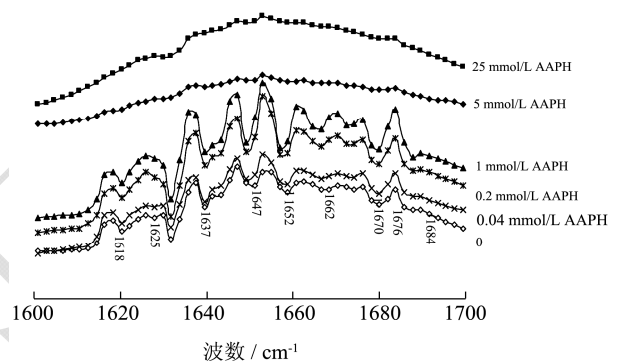


图 1 过氧自由基氧化对大米蛋白去卷积酰胺 I 带的影响

Fig.1 Effect of oxidative modification by peroxy radicals on the deconvolution amide I band of rice protein

表 2 过氧自由基氧化对大米蛋白二级结构含量的影响

Table 2 Effect of oxidative modification by peroxy radicals on the secondary structure of rice protein

AAPH 浓度 (/mmol/L)	$\alpha$ -螺旋	$\beta$ -折叠	无规卷曲	$\beta$ -转角
0	19.46	25.94	9.32	45.28
0.04	16.94	25.31	10.91	46.84
0.2	16.66	23.07	12.52	47.75
1	16.25	21.11	13.23	49.41
5	15.02	15.53	14.34	55.11
25	14.13	13.74	15.15	56.98

参考 Sun 等<sup>[9]</sup>方法对不同浓度 AAPH 制备大米蛋白去卷积酰胺 I 带谱图 (见图 1) 进行鉴定： $\alpha$ -螺旋，1647、1652  $\text{cm}^{-1}$ ； $\beta$ -折叠，1618、1625、1637  $\text{cm}^{-1}$ ； $\beta$ -转角，1676、1684  $\text{cm}^{-1}$ ；无规卷曲，1662、1670  $\text{cm}^{-1}$ ，得出如表 2 所示的二级结构含量。随着 AAPH 浓度的增加， $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠含量降低，无规卷曲和  $\beta$ -转角含量增加，说明蛋白质氧化改变了大米蛋白的二级结构，使得有序的  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠结构逐渐向无序的无

规卷曲和  $\beta$ -转角结构转变。Sun 等<sup>[9]</sup>采用傅里叶红外研究蛋白质氧化对肌原纤维蛋白二级结构的影响时发现,肌原纤维蛋白  $\alpha$ -螺旋含量随着蛋白质氧化程度增加而下降,并认为是蛋白质氧化导致大米蛋白结构展开,  $\alpha$ -螺旋发生解螺旋,有序结构下降。

### 2.3 过氧自由基氧化对大米蛋白表面疏水性的影响

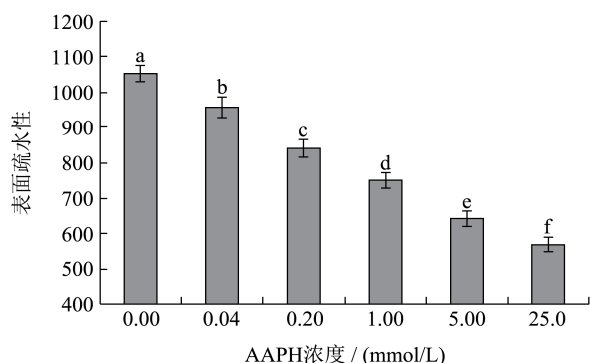


图2 过氧自由基氧化对大米蛋白表面疏水性的影响

Fig.2 Effect of oxidative modification by peroxy radicals on the surface hydrophobicity of rice protein

注:柱状图中相同字母表示在  $p \geq 0.05$  水平上没有显著差异。

过氧自由基氧化对大米蛋白表面疏水性的影响如图2所示,随着AAPH浓度的增加,大米蛋白表面疏水性逐渐下降,表明过氧自由基氧化诱使大米蛋白表面疏水性下降。Wu等<sup>[6]</sup>研究过氧自由基氧化修饰大豆蛋白结构变化时发现随着AAPH浓度的增加,大豆蛋白表面疏水性逐渐下降,并认为下降的主要原因是过氧自由基诱使氨基酸残基氧化,使蛋白质去折叠导致疏水基团外露,而暴露的疏水基团通过疏水相互作用形成聚集体;Chen等<sup>[7]</sup>在研究过氧自由基氧化修饰花生蛋白结构变化时也有类似的发现。由此可见,过氧自由基氧化大米蛋白表面疏水性下降可能是由于大米蛋白形成聚集体造成的。

### 2.4 过氧自由基氧化对大米蛋白内源荧光的影响

过氧自由基氧化对大米蛋白内源荧光的影响如图3所示。天然大米蛋白最大荧光峰位在359 nm处,随着蛋白质氧化程度的增加,大米蛋白最大荧光峰位逐渐蓝移,AAPH浓度为25 mmol/L时,大米蛋白最大荧光峰位为349 nm,表明大米蛋白色氨酸残基从蛋白质外部的亲水环境转移到了蛋白质内部的疏水环境中

<sup>[6]</sup>,进而说明过氧自由基氧化使得大米蛋白形成聚集体。此外,随着AAPH浓度的升高,大米蛋白内源荧光强度逐渐下降,当浓度达到25 mmol/L时,最大荧光峰位处荧光强度降低至天然大米蛋白的67%,表明过氧自由基破坏了部分大米蛋白色氨酸残基结构,这是由于过氧自由基很容易通过夺氢反应将色氨酸残基转化为亚稳态的色氨酸自由基,继而与分子氧接合形成色氨酸过氧自由基,最终转化成为犬尿氨酸,从而使内源荧光强度下降<sup>[10]</sup>。

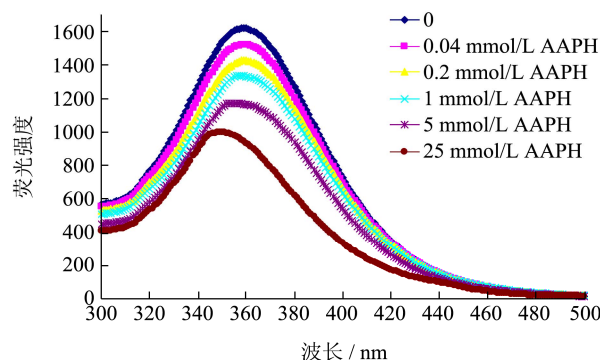


图3 过氧自由基氧化对大米蛋白内源荧光的影响

Fig.3 Effect of oxidative modification by peroxy radicals on the intrinsic fluorescence of rice protein

### 2.5 过氧自由基氧化对大米蛋白粒径分布的影响

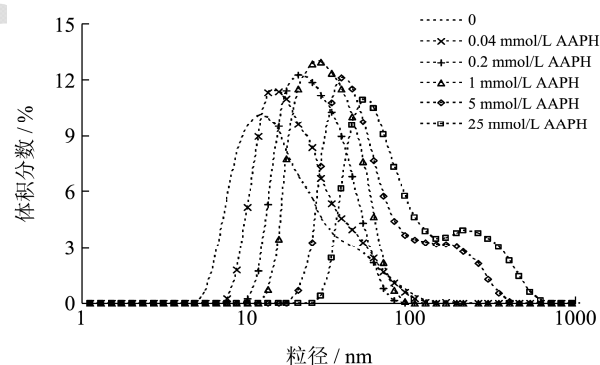


图4 过氧自由基氧化对大米蛋白粒径分布的影响

Fig.4 Effect of oxidative modification by peroxy radicals on the particle size distribution of rice protein

注:柱状图中相同字母表示在  $p \geq 0.05$  水平上没有显著差异。

过氧自由基氧化对大米蛋白粒径的影响如图4所示,随着AAPH浓度的增加,大米蛋白粒径逐渐增大,表明过氧自由基氧化诱使大米蛋白形成了氧化聚集体。Ye等<sup>[8,11]</sup>发现过氧自由基氧化可诱使花生蛋白共价交联而形成氧化聚集体,造成过氧自由基氧化花生蛋白的粒径增加;吴伟等<sup>[12]</sup>发现蛋白质氧化使得大豆

$\beta$ -伴球蛋白形成聚集体, 导致粒径增加。因而, 可以推测氧化大米蛋白粒径增加可能是由于过氧自由基氧化诱使大米蛋白形成了聚集体。

## 2.6 过氧自由基氧化对大米蛋白亚基组分分布的影响

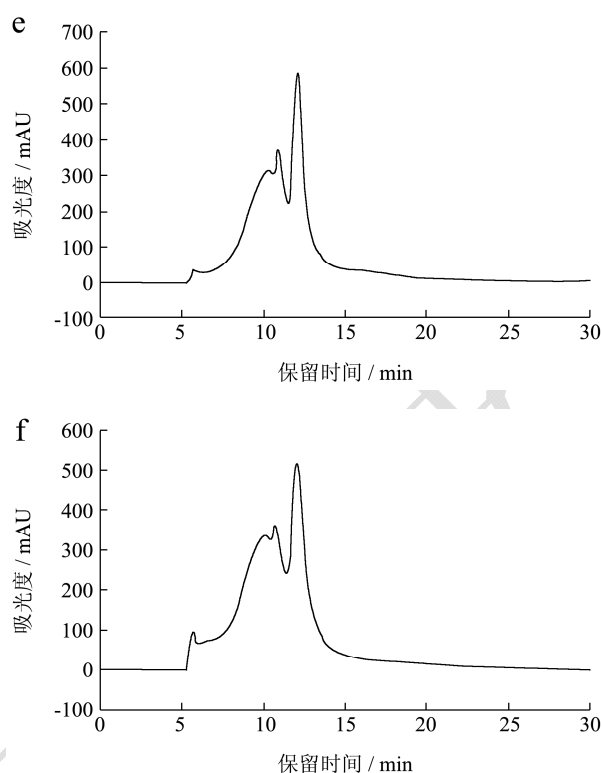
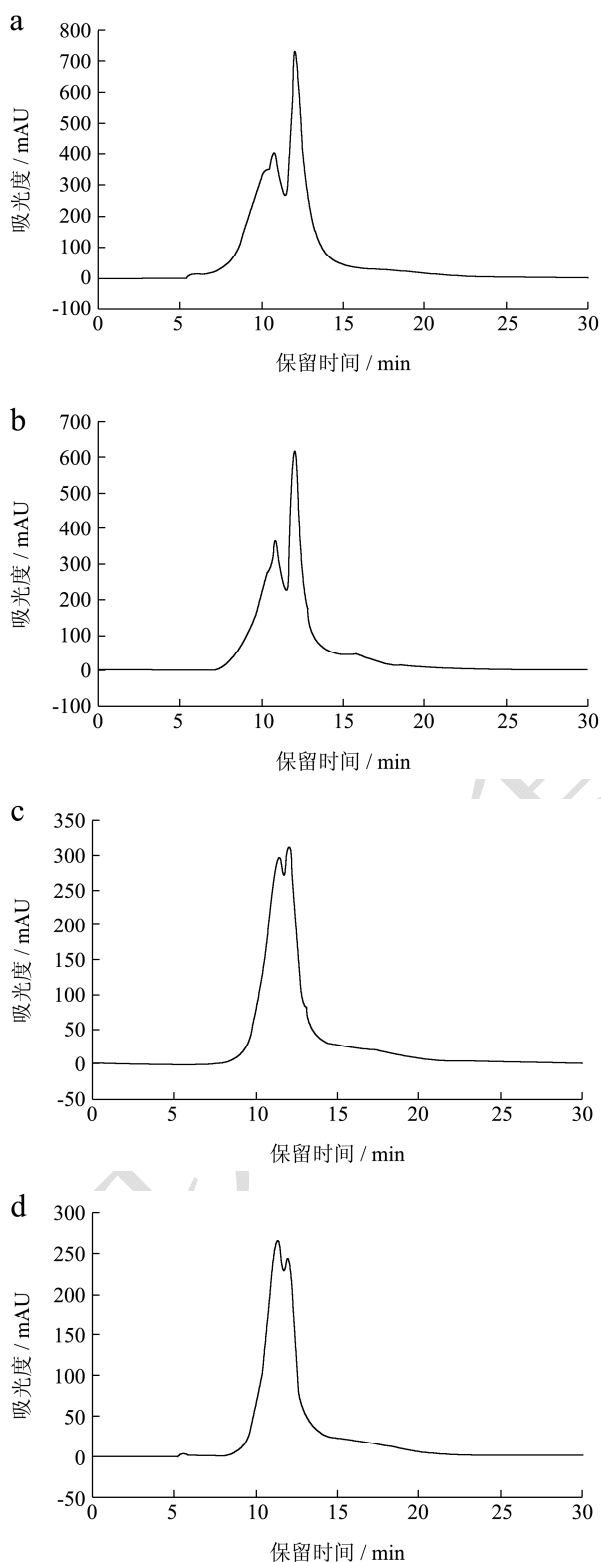


图5 不同浓度 AAPH 制备大米蛋白分子量分布

Fig.5 Molecular weight distribution of rice protein treated with different concentrations of AAPH

注: a~f 分别代表 AAPH 浓度为 0、0.04、0.2、1、5 和 25 mmol/L AAPH。

不同浓度 AAPH 制备大米蛋白分子量分布如图 5 所示, 天然大米蛋白分子量分布图中出现两个峰, 保留时间分别为 10.91 min 和 12.10 min 处, 其中保留时间 10.91 min 峰对应大米蛋白及其天然聚集体, 保留时间 12.10 min 峰对应大米蛋白及其天然亚基, 随着 AAPH 浓度的增加, 保留时间 10.91 min 峰面积比例持续增加, 而保留时间 12.10 min 峰面积比例逐渐下降, 表明过氧自由基导致大米蛋白形成聚集体。当 AAPH 浓度为 5 mmol/L 时, 大米蛋白分子量分布图在保留时间 5.70 min 出现新的峰, 对应高分子量大米蛋白聚集体, 并且当 AAPH 浓度增加到 25 mmol/L 时, 保留时间 5.70 min 峰面积比例也随之增加, 表明过氧自由基氧化修饰使得大米蛋白形成氧化聚集体。

## 3 结论

以大米蛋白为原料, 采用不同浓度的 AAPH 热降解形成的过氧自由基氧化修饰得到不同氧化程度的大米蛋白, 研究过氧自由基氧化对大米蛋白结构的影响。结果发现, 随着 AAPH 浓度的增加, 大米蛋白羰基和二硫键含量增加, 游离巯基含量减少, 表明过氧自由基诱使大米蛋白发生了氧化。随着大米蛋白氧化程度

的增加,大米蛋白二级结构中的 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠结构下降,粒径、 $\beta$ -转角和无规卷曲结构上升,表明过氧自由基氧化修饰改变了大米蛋白二级结构。随着AAPH浓度的增加,大米蛋白内源荧光最大荧光峰位蓝移,内源荧光强度下降,表面疏水性和粒径增加,并且在分子量分布图中高分子量聚集体含量逐渐增加,表明过氧自由基氧化导致大米蛋白形成了氧化聚集体。

### 参考文献

- [1] 吴伟,李彤,蔡勇建,等.三种稻米在贮藏过程中蒸煮特性变化的比较[J].食品与机械,2014,30(3):122-126  
WU Wei, LI Tong, CAI Yong-jian, et al. Comparison of cooking quality of three kind of rice during storage [J]. Food and Machinery, 2014, 30(3): 122-126
- [2] Zhou Z K, Wang X F, Si X, et al. The ageing mechanism of stored rice: A concept model from the past to the present [J]. Journal of Stored Products Research, 2015, 64: 80-87
- [3] 李彤,吴晓娟,吴伟,等.稻谷陈化影响稻米蒸煮食用品质研究进展[J].粮食与油脂,2013,26(8):1-4  
LI Tong, WU Xiao-juan, WU Wei, et al. Research progress on effects of ageing on cooking and eating quality of rice [J]. Cereals and Oils, 2013, 26(8): 1-4
- [4] Smanalieva J, Salieva K, Borkoev B, et al. Investigation of changes in chemical composition and rheological properties of Kyrgyz rice cultivars (*Ozgon rice*) depending on long-term stack-storage after harvesting [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 63(1): 626-632
- [5] Chrastil J. Protein-starch interactions in rice grains. Influence of storage on oryzenin and starch [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1990, 38(9): 1804-1809
- [6] Wu W, Lin Q L, Hua Y F, et al. Study on mechanism of soy protein oxidation induced by lipid peroxidation products [J]. Advance Journal of Food Science and Technology, 2013, 5(1): 46-53
- [7] Chen N N, Zhao M M, Sun W Z, et al. Effect of oxidation on the emulsifying properties of soy protein isolate [J]. Food Research International, 2013, 52: 26-32
- [8] Ye L, Liao Y, Zhao M M, et al. Effect of protein oxidation on the conformational properties of peanut protein isolate [J]. Journal of Chemistry, 2013(ID 423254): 1-6
- [9] Sun W Z, Zhou F B, Sun D W, et al. Effect of oxidation on the emulsifying properties of myofibrillar proteins [J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6: 1703-1712
- [10] Simat T J, Steinhart H. Oxidation of free tryptophan and tryptophan residues in peptides and proteins [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(2): 490-498
- [11] Ye L, Liao Y, Sun W Z, et al. Effect of protein oxidation on the stability of peanut beverage [J]. CyTA-Journal of Food, 2015, 13(1): 49-55
- [12] 吴伟,蔡勇建,梁盈,等.不同预处理对低温脱脂豆粕中大豆 $\beta$ -伴球蛋白功能性质的影响[J].现代食品科技,2014,30(8): 25-30  
WU Wei, CAI Yong-jian, LIANG Ying, et al. Effect of pretreatment of defatted soybean meal on functional properties of  $\beta$ -conglycinin [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(8): 25-30