

碱与热处理对大米蛋白质结构与功能性质的影响

Effects of pH and heat treatments on structure and functional properties of rice proteins

刘芳 许宙 陈茂龙 程云辉

LIU Fang XU Zhou CHEN Mao-long CHENG Yun-hui

(长沙理工大学化学与生物工程学院, 湖南 长沙 410114)

(College of Chemical and Biological Engineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha, Hunan 410114, China)

摘要:以大米蛋白质为原料,研究碱处理和热处理对大米蛋白质结构与功能性质的影响。研究发现:经不同 pH 处理 40 min 后,大米蛋白质功能性质均有一定程度改善,其中经 pH 12.0/40 min 处理的大米蛋白质溶解性、乳化性与乳化稳定性、起泡性分别提高了 2.46、2.85、1.12、2.51 倍;同时, >100 kDa 的组分含量减少,此时蛋白质分子中的 α -螺旋、 β -转角含量分别减少了 26.99%、10.54%,而 β -折叠、无规卷曲含量分别增加了 14.65%、20.23%。采用 50~90 °C/40 min 的条件对大米蛋白质进行热处理,其结构性质和溶解性、表面疏水性皆无明显变化;但乳化性与乳化稳定性、起泡性则随着热处理温度升高而提高,90 °C 热处理可达到最大值,分别是原大米蛋白质的 2.41、1.09、1.62 倍。结果表明经单独碱处理、热处理后,大米蛋白质的结构发生了改变,但溶解度改善效果不明显。

关键词:大米蛋白质;碱溶性谷蛋白;碱处理;热处理;结构;功能性质

Abstract: In this study, rice protein was used as raw material to study the effect of pH treatment and heat treatment on the structure and functional properties of rice protein. Studies have found that the functional properties of rice proteins have been improved to some extent after being treated with different pH values for 40 minutes. The solubility, emulsifying and emulsifying stability, foaming property and surface hydrophobicity of RP treated at pH 12.0/40 min were 5.16%, 0.626% and 12.64%, and 135%, respectively, with 2.46, 2.85, 1.12, and 2.51 times higher than that of the RP. At this time, the fraction of >100 kDa was reduced, the content of α -helix and

β -turn in protein molecules decreased by 26.99% and 10.54%, respectively, while the β -sheets and random coil were increased by 14.65% and 20.23%. Heat treatment with only 50~90 °C/40 min conditions showed no significant changes in the structure, solubility, and surface hydrophobicity; however, the emulsifying, emulsification stability, and foaming property increased as the temperature increased, and the maximum values were obtained at 90 °C, which were 2.41, 1.09, and 1.62 times that of the untreated rice protein, respectively. The results showed that the structure of rice protein changed after alkali treatment and heat treatment, but the solubility improvement effect was not obvious.

Keywords: rice protein; alkali soluble gluten; alkali treatment; heat treatment; structure; functional properties

大米蛋白质的氨基酸组成平衡合理,接近 FAO/WHO 所推荐的营养配比模式,第一限制性氨基酸赖氨酸含量高于其他谷类,其精氨酸含量也较高,这都是其他植物蛋白质甚至很多动物蛋白质无法比拟的^[1-3];同时,大米蛋白质的低过敏性也是有别于其他植物蛋白的一个显著特点。但因作为贮藏性蛋白质的谷蛋白在大米蛋白质中含量高达 80%,导致其溶解性及其他功能性质皆较差,从而限制了大米蛋白质在食品领域的广泛应用。

蛋白质糖基化改性技术因只需通过 2 种天然生物分子加热就可自发进行,而成为近年大米蛋白质改性的研究热点^[4-6]。本课题组前期研究发现对大米蛋白质-接枝物功能性质的改善,不仅仅完全决定于蛋白质糖基化反应的成功与否,碱处理、热处理和 pH 与温度协同处理可能皆有不同程度的贡献,目前还没有研究团队针对大米蛋白质糖基化产物功能性质改善的决定性因素开展深入研究。

本研究拟以实验室自制的大米蛋白质为研究对象,通过考察单独碱处理、热处理前后大米蛋白质分子量分布、化学

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:31771901)

作者简介:刘芳,女,长沙理工大学在读研究生。

通信作者:程云辉(1964—),女,长沙理工大学教授,博士。

E-mail: Chengyh6488@sina.com

收稿日期:2018-04-03

键等结构性质和溶解性、乳化性与乳化稳定性等功能性质的变化,深入探讨碱处理、热处理对大米蛋白质结构及功能性质的影响,以期对大米蛋白质资源的高值化利用提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

桃花香米:金健米业股份有限公司;

大米蛋白质:实验室自制;

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

蛋白质分子量标准:天根生物科技有限公司;

细胞色素 C、牛碳酸酐酶、牛血清白蛋白、乙醇脱氢酶:美国 Sigma 公司。

1.2 仪器与设备

电子分析天平:FA2004N 型,上海精密科学仪器有限公司;

pH 计:FiveEasyPlus™ 型,瑞士 Mettler toledo 公司;

紫外可见分光光度计:UV1800 型,日本岛津公司;

高剪切乳化均质器:LR 型,无锡市群光化工设备有限公司;

荧光分光光度计:Ls45 型,美国珀金埃尔默公司;

离心机:TDL-36C 型,上海安亭科学仪器有限公司;

磁力搅拌器:85-1 型,江苏省金坛市医疗仪器厂;

高效液相色谱仪:Waters2690 型,美国 Waters 公司;

电泳仪:DYY-6C 型,北京市六一仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 大米蛋白质(rice protein, RP)的制备 采用碱溶酸沉法,具体操作如下:称取 20 g NaOH 溶于 10 L 去离子水中,待 NaOH 完全溶解后加入 1 kg 大米粉(过 120 目筛),室温下搅拌 2 h,经 3 500 r/min 离心 30 min,收集上清液,用 2 mol/L HCl 调节 pH 至等电点(pI=4.8),于 3 500 r/min 离心 30 min,收集沉淀,水洗沉淀 3 次(3 500 r/min, 10 min)至 pH 为中性,冷冻干燥。

1.3.2 碱处理大米蛋白质的制备 称取适量大米蛋白质,按照底物质量分数为 1% 加入去离子水,室温下用 2 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值分别为 8.0、9.0、10.0、11.0、12.0,充分搅拌至 pH 值稳定后继续搅拌 40 min,浓缩并冻干备用。

1.3.3 热处理大米蛋白质的制备 称取适量大米蛋白质,按照底物质量分数为 1% 加入去离子水,室温下搅拌 2 h,使其充分溶解,置于恒温水浴锅中反应 40 min,温度分别为 50、60、70、80、90 °C,反应结束后立即冰浴至室温,浓缩并冻干备用。

1.3.4 大米蛋白质结构性质的测定

(1) 分子量测定:在高效液相系统中进行。色谱柱为 Waters 高效液相凝胶柱(BioSuit™ 250, 5 μm HR SEC 7.8 mm×300 mm column)。流动相使用 0.1 mol/L Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液(pH 6.7)包含 0.1 mol/L Na₂SO₄ 和 0.05% NaN₃,经 0.45 μm 滤膜过滤后再经超声进

行脱气。洗脱流速为 1.0 mL/min,检测波长为 280 nm,柱温 30 °C。上样量为 20 μL,恒流洗脱。标准蛋白质分别是:细胞色素 C(12.5 kDa)、牛碳酸酐酶(29.0 kDa)、牛血清白蛋白(66.0 kDa)、乙醇脱氢酶(150.0 kDa)。

(2) 红外光谱测定:按样品与溴化钾的比例 1:100 加入一定量的样品和溴化钾,充分研磨使其混合均匀,置于压片磨具中制成均匀透亮的薄片,再用傅立叶红外分光光度仪作全波长(4 000~400 cm⁻¹)扫描分析,在分辨率为 2 cm⁻¹ 条件下测定吸光度,扫描信号累加 32 次。

(3) 二级结构测定:参照 Aoki 的圆二色谱法。将大米蛋白质样品溶于 0.01 mol/L pH 7.0 的 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液中,配制成浓度为 0.1 mg/mL 的溶液,室温下用圆二色谱仪进行远紫外光谱分析,扫描范围 190~250 nm,数据间隔为 0.5 nm/s,采 CDPPro 软件包中 SELCON3 算法进行二级结构含量计算。

(4) 表面疏水性测定:采用 8-苯氨基-1-萘磺酸钠(ANS)荧光探针法^[7]测定样品的表面疏水性。在室温下将样品制成 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL 不同浓度的样品溶液,经离心(8 000 r/min, 10 min)后的上清液蛋白浓度采用 Folin 酚法测定,取 4.0 mL 不同浓度的样品溶液分别加入 20 μL ANS (8 mmol/L),振荡混匀,避光静置 3 min。以 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液为空白对照,用荧光分光光度计测定样品荧光强度,激发波长和发射波长分别设定为 390、470 nm。疏水性指数即为荧光强度-蛋白浓度曲线的初始斜率。

1.3.5 大米蛋白质功能性质的测定

(1) 溶解性:称取一定量样品(精确至 0.000 1 g)溶解于 0.05 mol/L pH 8.0 的缓冲液中,底物质量分数为 2%,用 0.1 mol/L HCl 或 NaOH 维持 pH 为 8.0,室温搅拌 1 h 后于 3 500 r/min 离心 30 min,取上清液定容,用福林酚法进行测定。溶解度按式(1)计算。

$$S = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

S——溶解度,%;

m₁——上清中蛋白质含量,%;

m₂——样品中总的蛋白质含量,%。

(2) 乳化活性与乳化稳定性:参照 Pearce & Kinsella 的浊度法^[8],并稍作修改。在 0.1 mol/L pH 8.0 的磷酸缓冲液中加入一定量的样品,配置成蛋白浓度为 2 g/100 mL 的样品液,样品液与大豆油按 3:1 的质量比置于高速均质机中,以 10 000 r/min 分散 30 s。在均质 0.10 min 后分别取 50 μL 样品(取样点固定在离烧杯底部 0.5 cm 处),与 5 mL 0.1 g/100 mL SDS 溶液进行混合,振荡混匀后用分光光度计于 500 nm 处测定其吸收值 A₀、A₁₀。用 0 min 测定的吸光度值表示乳化活性,乳化稳定性按式(2)计算。

$$ES = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} \times \Delta t, \quad (2)$$

式中:

ES——乳化稳定性, %;

A_0 ——均质结束时的吸光值;

A_{10} ——均质 10 min 后的吸光值;

Δt ——间隔时间, 10 min。

(3) 起泡性(Foaming, FA)与起泡稳定性(Foaming stability, FS): 在 0.1 mol/L pH 8.0 的磷酸缓冲液中加入一定量的样品, 配置成蛋白浓度为 2 g/100 mL 的样品液, 搅拌均匀后取 40 mL 该样品液于 100 mL 量筒中, 用高速均质机剪切 40 s(10 000 r/min), 立即观察泡沫体积 V_0 , 并记录静置 30 min 后泡沫的体积 V_{30} 。起泡性及起泡稳定性按式(3)、(4)计算。

$$FA = \frac{V_0}{40} \times 100\%, \quad (3)$$

$$FS = \frac{V_{30}}{V_0} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

FA——起泡性, %;

FS——起泡稳定性, %;

V_0 ——均质结束时泡沫的体积, mL;

V_{30} ——静置 30 min 后泡沫的体积, mL。

1.3.6 试验设计与统计分析 所有样品进行平行试验, 重复 3 次; 样品的测定均重复 3 次, 结果取平均值; 应用统计软件 SPSS 对结果进行方差分析($P < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 碱处理、热处理对大米蛋白质结构性质的影响

2.1.1 对大米蛋白质分子量分布的影响 由表 1 可知: 与 RP 相比, 当碱处理的 pH 值范围为 8.0~11.0 时, >50 kDa

的组分含量增加; 当处理 pH 值为 12.0 时, >100 kDa 的组分含量由原 RP 的 9.69% 下降至 0.90%, 50~100 kDa 的组分含量由 24.75% 下降至 5.14%, 而 10~20 kDa 的组分含量由 16.67% 增加至 55.03%, 可能是随着处理 pH 值的提高, 大米蛋白质的结构展开, 分子之间形成次级键而发生交联聚集使得高分子量组分比例增加; 但当处理 pH 值超过 12 时, 分子之间的次级键被破坏, 且蛋白质会被逐渐水解成分子量较小的多肽, 从而使得低分子量组分含量增加^[9-11]。

由表 2 可知: RP 中 >50 kDa 的组分含量增加随着处理温度升高呈增加趋势; 当热处理温度达到 90 °C 时, >100 kDa 的组分含量增加至 30.11%, 原因是热处理导致 RP 中 α -酸性亚基和 β -碱性亚基形成 α - β 二聚体, 二聚体又不断聚集形成新的聚集物^[12]。

2.1.2 对大米蛋白质化学键的影响 从图 1 可见, RP 在 1 626, 1 535, 1 225 cm^{-1} 处有较强吸收峰, 分别是由酰胺 I 带、酰胺 II 带、酰胺 III 带伸缩振动产生的。碱处理、热处理对大米蛋白质化学键的影响结果一致, 仅当处理 pH 值为 12.0 或处理温度为 90 °C 时, 由 C—H 弯曲振动在 1 390 cm^{-1} 处产生的吸收峰强度减弱, 表明大米蛋白质内部的氢键被破坏; 由酰胺 III 带在 1 225 cm^{-1} 产生的吸收峰移动至 1 277 cm^{-1} , 这与酰胺基团转变成羧基密切相关; 在 881 cm^{-1} 处有吸收峰出现, 这是由羰基 α 位的 C—H 键弯曲振动产生的。

2.1.3 对大米蛋白质二级结构的影响 由表 3 可知, RP 二级结构中 α -螺旋 47.30%, β -转角 26.30%, β -折叠仅为 8.77%。碱处理 pH 值为 8.0~10.0 时, 随着处理 pH 值提高, α -螺旋、 β -转角含量减少, β -折叠、无规卷曲含量增加, 表

表 1 碱处理对大米蛋白质分子量分布的影响

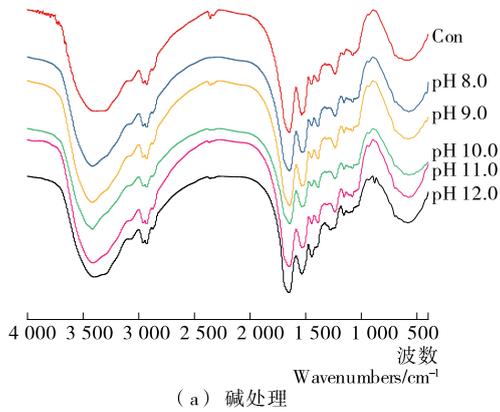
Table 1 Molecular weight distribution of alkali treatment rice protein %

处理 pH 值	分子量/kDa					
	>100	50~100	20~50	10~20	5~10	<5
RP	9.69	24.75	39.14	16.67	4.64	5.12
8.0	32.41	25.59	24.18	7.92	4.70	5.20
9.0	31.34	25.31	24.25	8.34	5.02	5.73
10.0	37.11	24.06	22.07	7.40	4.46	4.90
11.0	38.51	22.67	21.63	7.93	4.12	5.14
12.0	0.90	5.14	26.55	55.03	7.75	4.64

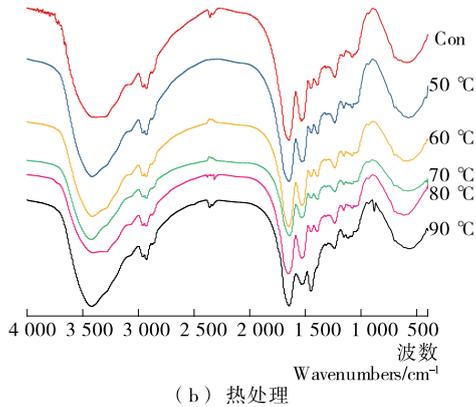
表 2 热处理对大米蛋白质分子量分布的影响

Table 2 Molecular weight distribution of heat treatment rice protein %

处理温度/°C	分子量/kDa					
	>100	50~100	20~50	10~20	5~10	<5
未处理	9.69	24.75	39.14	16.67	4.64	5.12
50	11.53	27.55	38.69	10.98	4.44	6.81
60	12.52	28.65	38.61	10.13	4.04	6.05
70	12.47	28.07	37.80	10.52	4.37	6.77
80	13.75	30.74	38.24	9.79	3.66	3.82
90	30.11	25.29	25.46	9.62	4.09	5.42



(a) 碱处理



(b) 热处理

图1 碱处理、热处理大米蛋白质的红外光谱图

Figure 1 Infrared spectrum of rice protein of alkali treatment and heat treatment

表3 碱处理对大米蛋白质二级结构的影响

Table 3 Effect of alkali treatment on secondary structure of rice protein %

处理 pH 值	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规卷曲
未处理	47.30	8.77	26.30	17.48
8.0	33.79	11.75	23.51	30.65
9.0	33.02	11.84	24.33	30.81
10.0	20.81	24.26	18.94	35.79
11.0	20.37	23.67	18.72	37.24
12.0	20.31	23.42	18.76	37.51

明一定程度的碱处理使得蛋白质结构由有序向无序状态转变;当碱处理 pH 高于 10.0 时, α -螺旋、 β -转角、 β -折叠、无规卷曲的含量变化较小。

由表 4 可知,随着热处理温度的升高,蛋白质聚集程度呈递增趋势,与原 RP 相比,RP 经 90 °C/40 min 处理后, α -螺旋、 β -转角含量下降了 26.59%,7.27%,而 β -折叠、无规卷曲增加了 15.29%,18.76%,表明热处理使得蛋白质中 α -螺旋、 β -转角结构向 β -折叠、无规卷曲结构进行了转化。在二级结构中, α -螺旋是最为紧密的,一定温度的热处理可以降低 α -螺旋的含量,使得蛋白质分子有序结构向无序结构转化,结构变得松散。

2.1.4 对大米蛋白质表面疏水性的影响 蛋白质表面疏水

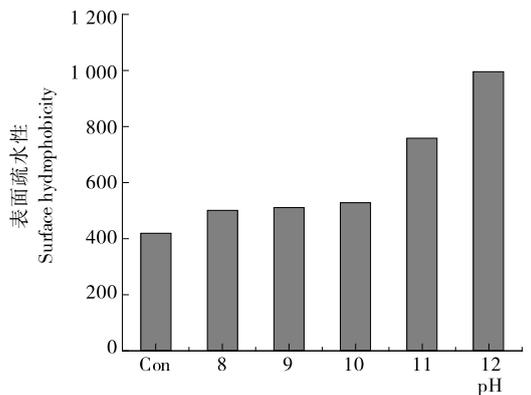
表 4 热处理对大米蛋白质二级结构的影响

Table 4 Effect of heat treatment on secondary structure of rice protein %

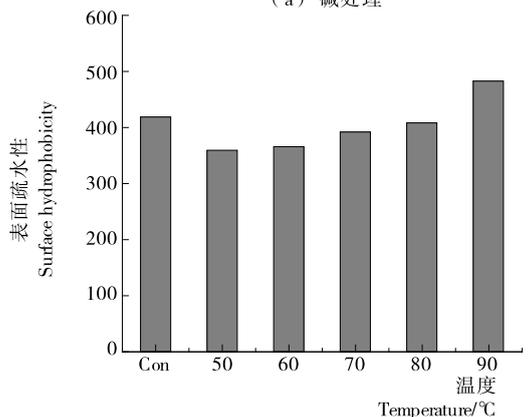
处理温度/°C	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规卷曲
未处理	47.30	8.77	26.30	17.44
50	44.25	11.42	23.62	20.71
60	44.19	11.13	23.15	21.53
70	43.92	11.76	23.43	20.89
80	44.09	11.13	23.05	21.73
90	20.71	24.06	19.03	36.20

性的变化可以直接反映蛋白质分子结构的改变,由图 2(a)可知:与原 RP 相比,当碱处理 pH 值在 8.0~10.0 时,经碱处理后的 RP 其疏水性值有轻微提高,但变化幅度不明显;当处理 pH 值高于 10.0 时,随着处理 pH 值提高,RP 的疏水性值显著增大,分别为 758.21,995.72。这是因为一定程度的碱处理不会改变蛋白质结构,因此表面疏水性变化较小;当处理 pH 值超过一定范围后,蛋白质二硫键遭到破坏、亚基发生解离,使得包埋在分子内部的疏水基团暴露在分子表面,导致疏水性值增加^[13]。

由图 2(b)可见,热处理对 RP 表面疏水性的影响没有碱处理的效果明显,随着热处理温度升高,RP 的疏水性值先减小后增加,且变化程度较小,原因是 RP 在较温和的热处理



(a) 碱处理



(b) 热处理

图2 碱处理、热处理对大米蛋白质表面疏水性的影响
Figure 2 Effect of alkali treatment and heat treatment on surface hydrophobicity of rice protein

条件下结构不会发生改变,但当热处理温度为 90 °C 时,蛋白质内部的二硫键被氧化,分子大幅度展开,包埋在分子内部的疏水基团暴露^[14]。

2.2 碱处理、热处理对大米蛋白质功能性质的影响

2.2.1 对大米蛋白质溶解度的影响

由图 3(a)可知,碱处理 pH 值为 8.0~11.0 时,RP 溶解度无明显变化;当碱处理 pH 值为 12.0 时,溶解度由原 RP 的 2.09% 提高至 5.16%,可能是蛋白质在强碱性条件下发生水解所致。蛋白质分子间作用力被水溶液破坏的因素通常包括静电引力和氢键作用力,但是当蛋白质处于强酸或强碱环境中,其构象发生改变,氢键发生断裂,某些极性基团解离,会使蛋白质分子表面基团带有相同电荷,从而增大了大米蛋白质的溶解性^[15]。

由图 3(b)可知,热处理温度为 50~80 °C 时,溶解度随着热处理温度升高而增大,80 °C 时溶解度为 3.04%;当处理温度高于 80 °C 时,溶解度变化程度较小,可认为单独的热处理对大米蛋白质溶解度的改善效果并不明显。

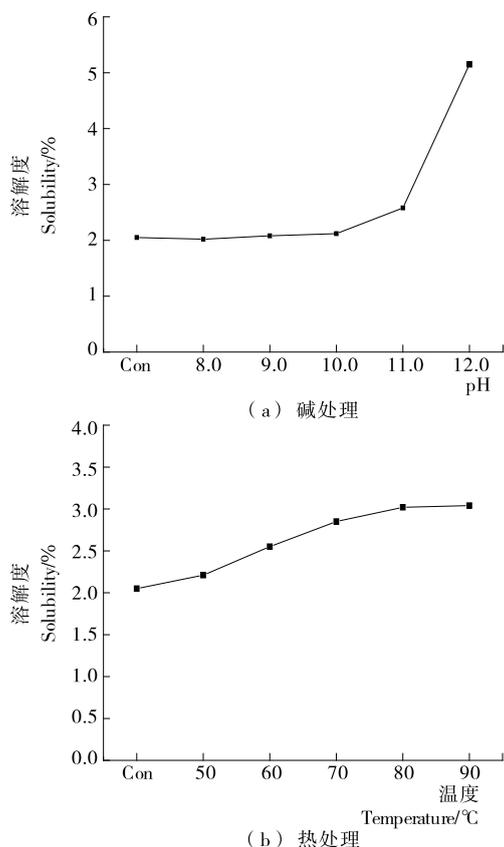


图 3 碱处理、热处理对大米蛋白质溶解度的影响

Figure 3 Effect of alkali treatment and heat treatment on rice protein solubility

2.2.2 对大米蛋白质乳化性(EA)与乳化稳定性(ES)的影响

由图 4(a)可知,随着碱处理 pH 值提高,EA 呈现先增加后下降趋势;处理 pH 值为 10.0 时,EA 取得最大值(0.660),是原 RP 的 2.42 倍,这是因为溶解度的增加使得大米蛋白质易于吸附在油-水界面,而过高 pH 值的碱处理使其亲水性增强,乳化性能因而降低。ES 随着处理 pH 值提高呈现递增趋势,在处理 pH 12.0 取得最大值(12.64%),是 RP 的 1.12

倍,表明碱处理对 RP 的 ES 影响较小。

由图 4(b)可知,热处理温度为 50~80 °C 时,随着处理温度升高,RP 的 EA 逐渐增大;当热处理温度高于 80 °C 后,随着温度升高,EA 无明显变化;与原 RP 相比,热处理后 RP 的 ES 无明显变化。Mellema 等^[16]研究发现 85 °C/20 min 热处理可使预酸化乳清蛋白质产生广泛聚集而改善其乳化性质。

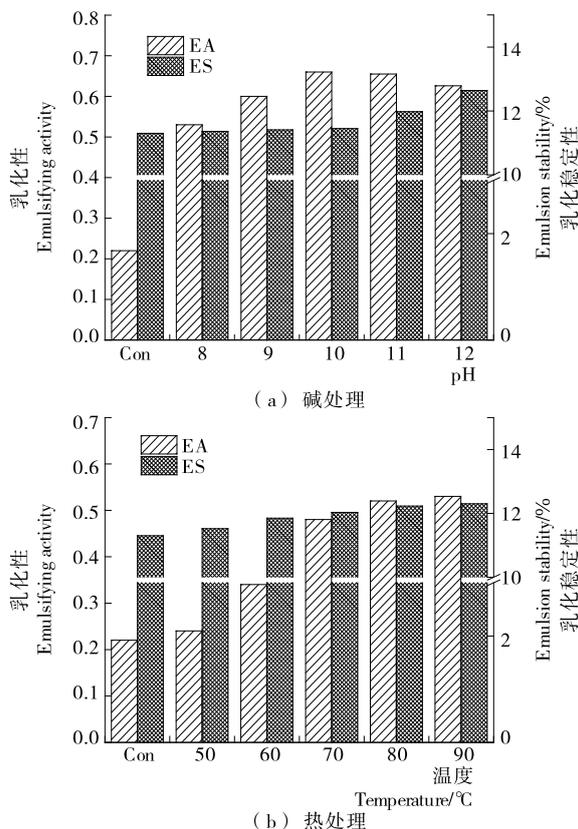


图 4 碱处理、热处理对大米蛋白质乳化性及乳化稳定性的影响

Figure 4 Effect of alkali treatment and heat treatment on the emulsifying and emulsifying stability of rice protein

2.2.3 对大米蛋白质起泡性(FA)与起泡稳定性(FS)的影响

蛋白质具有良好起泡性和起泡稳定性的关键条件是蛋白质的溶解性好且可以形成黏性膜^[17]。由图 5(a)可知,随着碱处理 pH 值提高 FA 呈递增趋势;当处理 pH 值为 12.0 时,FA 取得最大值(135%),是原 RP 的 2.51 倍。随着处理 pH 值提高 FS 呈先增加后减小的趋势;当处理 pH 值为 11.0 时,取得最大值(72.81%),是原 RP 的 1.42 倍。FA 变化趋势与溶解性变化趋势一致,这是因为随着蛋白质溶解性增大,蛋白质的内聚层迅速展开至气-液界面,从而提高了大米蛋白质的起泡性质^[18]。

由图 5(b)可知,当热处理温度在 50~70 °C 时,FA 和 FS 随温度升高显著增加;当温度高于 70 °C 时,FA 继续增加,但变化幅度较小,此时 FS 随着温度升高反而降低。热处理过程中引起 FA 和 FS 变化的主要原因可能是热处理影响了蛋白质的聚集和解离程度,从而导致分子机械强度以及柔韧性

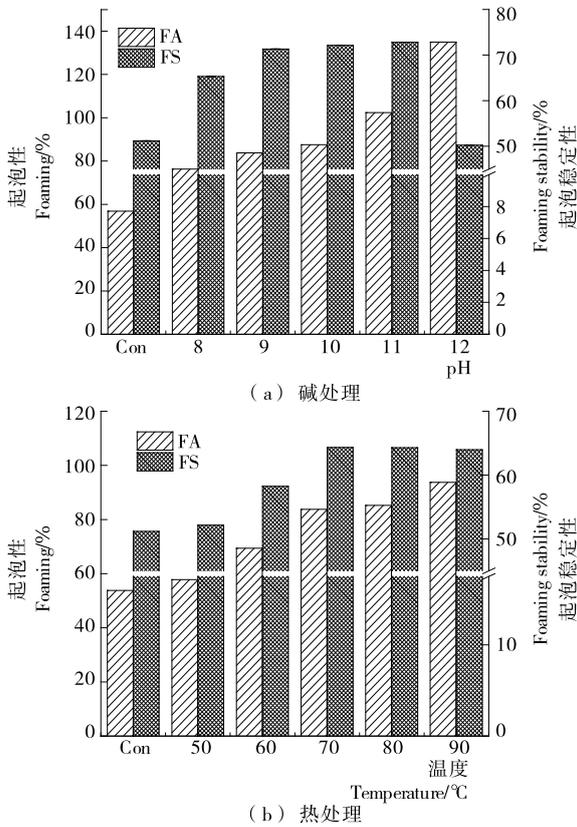


图5 碱处理、热处理对大米蛋白质乳化性与乳化稳定性的影响

Figure 5 Effect of alkali treatment and heat treatment on the foaming and foaming stability of rice protein

发生变化。

3 结论

本研究考察了碱处理和热处理对大米蛋白质结构与功能性质的影响,采用 pH 8.0,9.0,10.0,11.0,12.0 的条件处理大米蛋白质 40 min 时,其功能性质都有不同程度提高;当处理 pH 值为 8.0~11.0 时,大米蛋白质二级结构展开,分子之间产生交联聚集,>100 kDa 的组分含量增加;而当处理 pH 值为 12.0 时,大米蛋白质中的肽键被水解,<20 kDa 的组分含量增加,此时蛋白质结构展开,结构由有序向无序状态转变。采用 50~90 °C/40 min 的条件进行热处理,大米蛋白质结构和功能性质的变化与处理温度相关,只有处理温度达到 90 °C 时,>100 kDa 的组分含量才有增加,且大米蛋白质的机械强度和分子柔韧性也得到了一定程度的改善。结果表明经单独碱处理、热处理后,大米蛋白质的结构发生了改变,但溶解度改善效果不明显。后续研究将进一步考察 pH 协同热处理对大米蛋白质功能性质的影响,以探索碱处理、热处理和 pH 协同温度处理对大米蛋白质溶解度改善的贡献度。

参考文献

[1] 史苏华. 米渣谷蛋白-卡拉胶糖基化改性及共价接枝物乳化性能研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2011: 1-5.

[2] 蒋旭. 大米蛋白提取方法的研究及规模化放大制备[D]. 南昌: 南昌大学, 2016: 3-5.

[3] 银波, 李亦蔚, 汪霞丽, 等. 大米蛋白改性技术的研究进展[J]. 食品与机械, 2011, 27(3): 147-151.

[4] LI Yue, ZHONG Fang, JI Wei, et al. Functional properties of Maillard reaction products of rice protein hydrolysates with mono-, oligo- and polysaccharides [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(1): 53-60.

[5] PIRESTANI S, NASIRPOUR A, KERAMAT J, et al. Preparation of chemically modified canola protein isolate with gum Arabic by means of Maillard reaction under wet-heating conditions[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 155: 201-207.

[6] 李超, 程云辉, 黄强, 等. 微波场中大米蛋白-糊精接枝反应的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 263-267.

[7] KATO A, NAKAI S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins[J]. Biochim Biophys Acta, 1980, 624(1): 13-20.

[8] PEARCE K N, KINSELLA J E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1978, 26(3): 716-723.

[9] 易翠平, 姚惠源, 谢定. 碱处理对大米蛋白一级和二级结构的影响[J]. 中国粮油学报, 2007, 22(6): 1-4.

[10] 丁文慧. 碱提对米渣分离蛋白结构与功能性质的影响及改性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2015: 17-24.

[11] 袁江兰, 常静, 李传雯, 等. 大米谷蛋白的碱致变性和结构表征[J]. 食品科学, 2017, 38(21): 43-48.

[12] 任健, 李爽. 热处理对葵花籽分离蛋白结构及表面疏水性的影响[J]. 中国油脂, 2016, 41(9): 24-27.

[13] 易翠平, 姚惠源, 谢定. 碱处理对大米蛋白分子间作用力的影响[J]. 中国粮油学报, 2007, 22(4): 1-4.

[14] LAGRAIN B, THEWISSEN B G, BRIJS K, et al. Mechanism of gliadin-glutenin cross-linking during hydrothermal treatment[J]. Food Chemistry, 2008, 107(2): 753-760.

[15] 许凤. 米糠蛋白的提取及 pH、离子强度对理化特性和结构的影响[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2015: 30-32.

[16] MELLEMA M, ISENBART J G. Effect of acidification and heating on the rheological properties of oil-water interfaces with adsorbed milk proteins[J]. Journal of Dairy Science, 2004, 87(9): 2769-2778.

[17] 郭凤仙. 热处理对大豆分离蛋白结构及功能特性的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2009: 9-11.

[18] TANG S, HETTIARACHCHY N S, SHELLHAMMER T H. Protein extraction from heat-stabilized defatted rice bran 1: Physical processing and enzyme treatments[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2002, 50(25): 7444-7448.