

酶法改性对核桃谷蛋白微观结构及功能特性的影响

Effect of enzymatic modification on microstructure and functional properties of walnut glutenin

薛雨菲¹ 张 玥¹ 程怡媚¹ 马舒婕¹

XUE Yu-fei¹ ZHANG Yue¹ CHENG Yi-mei¹ MA Shu-jie¹

孙 乾¹ 李 芳² 孔令明¹

SUN Qian¹ LI Fang² KONG Ling-ming¹

(1. 新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052;

2. 新疆轻工职业技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830021)

(1. College of Food and Pharmaceutics, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China;

2. Xinjiang Institute of Light Technology, Urumqi, Xinjiang 830021, China)

摘要:利用荧光光谱、紫外光谱、圆二色谱等仪器对核桃谷蛋白、酶法改性核桃蛋白的微观结构进行分析,从蛋白质分子间、蛋白质分子内以及多肽等角度测定、观察、分析其改性机理。结果表明,酶法改性蛋白的氮溶指数分别提高了 133.01%, 96.75%, 持水性分别提高了 23.19%, 22.25%, 持油性分别降低了 27.03%, 29.11%, 乳化特性分别提高了 31.81%, 41.55%, 利用 TG 酶改性后起泡特性提高了 28.21%。

关键词:核桃;谷蛋白;酶法改性;光谱分析;功能特性

Abstract: In order to make better use of walnut glutenin and increase its functional properties, the microstructure of walnut glutenin and proteins modified by enzyme method were analyzed by means of enzymatic modification, fluorescence spectrum, ultraviolet spectrum, circular dichroism and other instruments. The modification mechanism was observed and analyzed from the aspects of protein intermolecular, protein intramolecular and polypeptide. The solubility of enzymatic modified proteins was increased by 133.01% and 96.75%, and the water holding capacity was increased by 23.19% and 22.25%. Moreover, the oil retention was decreased by 27.03% and 29.11%, and the emulsifying property was increased by 31.81% and 41.55% respectively.

The foaming properties were improved by 28.21% after modification with transglutaminase (TG) enzyme.

Keywords: walnut gluten; enzymatic modification; spectral analysis; functional characteristics

中国核桃产量已居世界首位,除鲜食外,大部分的核桃被用作榨油,但榨油后副产物的综合利用,以及优质核桃蛋白的规模化、集约化深加工仍存在一定的不足。核桃蛋白中的谷蛋白与醇溶蛋白占总蛋白的 70%~80%,且谷蛋白只溶于稀酸或稀碱溶液中,不溶于水或油,相对活性差,导致核桃蛋白在食品领域中的应用较少^[1]。

酶解可使深藏于蛋白质内部的亲水性基团逐渐暴露而改善蛋白质的功能特性^[2-3]。谷氨酰胺转氨酶(transglutaminase, TG)的交联化能促进蛋白质分子向超大型、网状化形成,从而使得蛋白分子具有更为强劲的凝胶化性能^[4]。Hu 等^[5]在研究中指出,酶法可改善蛋白质的乳化活性,但相应的乳化稳定性却有一定程度的下降。酶法改性能使改性后的大豆蛋白在乳化稳定性^[6]、起泡性、凝胶性以及热稳定性上有较为显著的改变,因此对蛋白质进行酶法改性并分析蛋白质分子的构象,对解释蛋白质结构与其功能特性的关系,以及扩大在食品等领域的应用具有一定的重要意义^[7]。

试验拟选用 TG 酶改性核桃蛋白,辅以光谱图分析,探究蛋白亲疏水性的变化,定性定量分析蛋白的二级、三级结构以及基团变化,旨在为酶法改性核桃蛋白使核桃饼粕中的优质蛋白得到更为全面的利用。

基金项目:新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(编号:2017B01003)

作者简介:薛雨菲,女,新疆农业大学在读硕士研究生。

通信作者:孔令明(1976—),男,新疆农业大学教授,博士。

E-mail:Klingming@126.com

收稿日期:2019-03-25

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

核桃饼粕:新疆中亚食品研发中心有限公司;

核桃谷蛋白(WG):实验室自制;

大豆油:新疆友好集团股份有限公司;

复合蛋白酶:120 U/mg, 南宁庞博生物工程有限公司;

谷氨酰胺转氨酶:100 U/g, 北京索来宝科技有限公司;

透析袋:截留相对分子质量 8 000~14 000, 北京卓立汉光仪器有限公司;

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、NaOH、HCl:分析纯, 天津致远化学试剂有限公司;

1-苯胺基-8-萘磺酸(ANS)、5-5'-二巯代-2-硝基苯甲酸(DTNB)、乙二胺四乙酸(EDTA):分析纯, 美国 Sigma 公司;

其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

便携式数显 pH 计:Testo205 型, 德图仪表(深圳)有限公司;

电子天平:PL203 型, 梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

电热恒温水浴锅:DZKW-S-6 型, 北京市永光明医疗仪器有限公司;

低速离心机:TDL-5-A 型, 上海安亭科学仪器厂;

紫外—可见分光光度计:TU-1810PC 型, 北京普析通用仪器有限责任公司;

电热鼓风干燥箱:DHG-9140A 型, 上海一恒科学仪器有限公司;

真空冷冻干燥机:ALPHA 1-2 型, 德国 Marin Christ 公司;

定时恒温磁力搅拌器:RSH-1DR 型, 上海贝仑仪器设备有限公司;

漩涡振荡器:GL-866 型, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司;

圆二色谱仪:J-810 型, 日本 JASCO 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 核桃谷蛋白及改性蛋白的制备

(1) 核桃谷蛋白工艺提取:根据文献[8]进行修改。

核桃饼粕→脱脂核桃粕→加去离子水→离心→沉淀→加 NaCl→离心→沉淀→加 70% 乙醇→离心→沉淀→加 NaOH 调 pH 值→离心→上清液→加 HCl 调 pH 至等电点→离心→沉淀→水洗至中性→真空冷冻干燥→核桃谷蛋白

(2) 脱酰胺谷蛋白工艺流程:

WG→制备溶液(蛋白质浓度 6%~8%, 质量分数)→搅拌→调 pH 7.0→加酶(40 ℃, 40 min, 酶用量 0.3%)→灭酶(90 ℃水浴 10 min)→冷却→水洗至中性→真空冷冻干燥→脱酰胺酶解核桃谷蛋白(CPMP)

(3) 交联化工艺流程:

WG→加磷酸缓冲液溶解(蛋白质浓度 6%~8%, 质量分数)→搅拌→加酶→混匀振荡反应→灭酶(90 ℃水浴 10 min)→冷却→水洗至中性→真空冷冻干燥→TG 酶改性核桃谷蛋白(TGMP)

1.3.2 荧光分光光度分析 根据文献[9]修改如下:将蛋白稀释于 pH 7.0 的磷酸盐缓冲液中, 使其质量浓度为 0.3 mg/mL。调整激发波长为 310 nm, 发射波长为 450 nm, 选择发射波长的测定范围为 400~500 nm。激发和发射狭缝均为 5 nm, 扫描速率 1 200 nm/min, 扫描电压 450 mV。每个样品重复做 3 次扫描。

1.3.3 紫外分光光度分析 将蛋白稀释于 pH 7.0 的磷酸盐缓冲液中, 使其质量浓度为 0.1 mg/mL。取约 5 mL 样液倒入 1 cm 石英比色皿中, 用分光光度计测定样品吸光度值, 扫描波长 200~400 nm。每个样品重复做 3 次扫描。

1.3.4 巯基与二硫键测定

(1) 游离巯基含量:取 30 mg 蛋白样品分散于 Ellman's 试剂中, 4 800 r/min 离心 15 min, 412 nm 处测量, 每个样品重复做 3 次测定。

(2) 总巯基含量:称取 30 mg 蛋白溶于 10.0 mL 混合试剂(精确称取 20.84 g Tris、13.51 g 甘氨酸、2.98 g EDTA 二钠和 960.96 g 碳酰二胺, 加去离子水定容至 1 000 mL)中, 412 nm 处测量, 每个样品重复做 3 次测定。按式(1)计算巯基含量。

$$SH = 73.53 \times A_{412} \times \frac{D}{C}, \quad (1)$$

式中:

SH——巯基含量, $\mu\text{mol/g}$;

73.53——消光转化系数, $\mu\text{mol/L}$;

A_{412} ——412 nm 处测得的吸光度;

D——上清液稀释倍数;

C——上清液中蛋白含量, mg/mL。

(3) 二硫键:取 50 mg 蛋白样品分散于 100 μL Tris-base 缓冲液中, 再加入到 NTSB 溶液中, 室温下静置 1 h, 10 000 r/min 离心 10 min, 412 nm 处测量, 对照组加入 NTSB 溶液。

1.3.5 圆二色光谱分析 精确称取 WG 样品溶解于 pH 7.0 的磷酸缓冲液中, 使蛋白浓度为 0.3 mg/mL。在 25 ℃条件下放置 3 h, 采用圆二色谱仪测定 WG 的圆二色性。取约 5 mL 样液置于 2 mm 石英比色皿中, 扫描波长 190~250 nm, 扫描速率 100 nm/min, 响应温度 25 ℃,

灵敏度 100 mdeg/cm, 分辨率 0.5 nm。所测出的图谱需扣除缓冲液的空白差, 每个样液重复扫描 8 次取平均值, 蛋白的二级结构采用 JASCO 结构软件进行分析, 圆二色性以残基摩尔椭圆率表示 ($^{\circ} \cdot \text{cm}^2/\text{dmol}$)。

1.3.6 氮溶指数的测定 参照文献[10]并做一定修改, 精确称量 2 g 冻干后的酶解产物, 分散于去离子水中, 定容至 50 mL。室温下振荡 2 h, 4 500 r/min 离心 20 min, 取 5 mL 上清液用凯氏定氮法测定蛋白质含量, 每个样品重复做 3 次测定。按式(2)计算氮溶指数。

$$NSI = 10 \times \frac{N_1}{N_2} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

NSI——酶解产物的氮溶指数, %;

N_1 ——5 mL 上清液中的可溶性氮, mg;

N_2 ——2 g 样品中的总氮, mg;

1.3.7 持水性的测定 参考 Paredeslopez 等^[11]的方法并略作修改, 准确称取 0.10 g WG 和改性蛋白置于离心管中, 加入 10 mL 去离子水, 4 500 r/min 离心 15 min。称取样品和离心管质量, 每个样品重复做 3 次测定。按式(3)计算持水性。

$$WHC = \frac{M_2 - M_1}{M_0}, \quad (3)$$

式中:

WHC——持水性, g/g;

M_0 ——样品质量, g;

M_1 ——离心管与样品总质量, g;

M_2 ——离心管与沉淀物质量, g。

1.3.8 持油性的测定 依照 Pedroche 等^[12]的方法并略作修改, 准确称取 0.10 g WG 和改性蛋白置于离心管中, 加入大豆油 5 mL, 漩涡式震动 60 s, 3 300 r/min 离心 15 min, 吸纸吸去残留油脂, 每个样品重复做 3 次测定。按式(4)计算持油性。

$$FBI = \frac{M_2 - M_1}{M_0}, \quad (4)$$

式中:

FBI——持油性, g/g;

M_0 ——样品质量, g;

M_1 ——离心管与样品总质量, g;

M_2 ——吸油后离心管与样品总质量, g。

1.3.9 乳化及乳化稳定性的测定

(1) 乳化性: 根据文献[13]略作修改。取 5 mL 样液于 25 mL 蒸馏水和 20 mL 大豆油混合液中, 漩涡震荡 60 s, 2 500 r/min 离心乳化 5 min, 读取乳化层高度, 测定 3 次取平均值。按式(5)计算乳化性。

$$E_A = \frac{H_1}{H} \times 100\%, \quad (5)$$

式中:

E_A ——乳化性, %;

H_1 ——离心管中乳化层高度, cm;

H ——离心管中液体总高度, cm。

(2) 乳化稳定性: 称取 5 g 样品溶于 100 mL 蒸馏水中, 调节至 pH 7.0, 加入 50 mL 大豆油, 高速搅拌器中 10 000 r/min 均质 2 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min 后, 测出此时的乳化层高度, 并且记录 30 min 后的乳化层高度。测定 3 次取平均值。按式(6)计算乳化稳定性。

$$E_S = \frac{H_0}{H_1} \times 100\%, \quad (6)$$

式中:

E_S ——乳化稳定性, %;

H_0 ——0 min 乳化层高度, cm;

H_1 ——30 min 乳化层高度, cm。

1.3.10 起泡性与泡沫稳定性的测定 根据文献[14]修改如下, 按 1% 的质量浓度将样品溶解于 pH 7.0 的 10 mmol/L 磷酸缓冲溶液中, 取 10.0 mL 置于 25 mL 离心管中, 10 000 r/min 均质 2 min; 快速记录均质停止时的总体积和放置 30 min 后的总体积, 测定 3 次取平均值。按式(7)、(8)分别计算起泡性与泡沫稳定性。

$$F_A = \frac{V_0}{V_1} \times 100\%, \quad (7)$$

$$F_S = \frac{V_1}{V_2} \times 100\%, \quad (8)$$

式中:

F_A ——起泡性, %;

F_S ——泡沫稳定性, %;

V_0 ——初始样液体积, mL;

V_1 ——均质放置 0 min 后样液总体积, mL;

V_2 ——均质放置 30 min 后样液总体积, mL。

1.4 数据处理

所有试验重复 3 次, 运用 Excel 2003 进行图形绘制, 光谱图采用系统自带软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 荧光光谱分析

由图 1 可知, 在 310 nm 的激发波长处所产生的荧光光谱主要是由于谷蛋白中存在一定量的色氨酸所造成的, 谱图上显示的荧光峰实质为色氨酸基团由于光激发产生的电子跃迁所导致, 峰的位置为 428~432 nm。利用 CPMP 与 TGMP 适度地酶解蛋白, 使蛋白分子水解成多肽以及肽链, 打开了蛋白质卷曲的结构, 分子链逐渐展开, 侧链的改变会影响蛋白质三级结构的变化^[15]。改变蛋白质内部结构以及蛋白质所处的微环境, 都可以使蛋白质中氨基酸发生相应变化, 一部分色氨酸从疏水性区域游离到亲水性区域, 其氨基酸残基暴露在极性环境下, 导致其荧光强度下降; 另一部分色氨酸逐渐被包埋于分

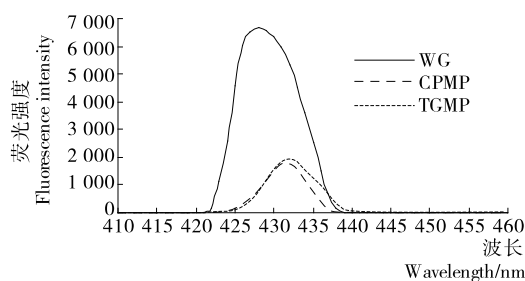


图1 核桃谷蛋白与改性蛋白的荧光光谱

Figure 1 Fluorescence spectra of WG and modified protein

子内部,其所处的微环境极性降低,也导致了荧光强度下降^[16]。亲水性基团的暴露,疏水基团的包埋,使得亲水性极大增强,溶解度极大提高。

2.2 紫外光谱分析

由图2可知,WG的最大紫外吸收波长为284 nm,反映了WG的紫外吸收主要是其蛋白内的色氨酸和酪氨酸残基发生必变所引起的。WG的最高紫外吸收峰出现在284 nm处的0.470,而CPMP是0.498,其高低顺序依次为TGMP>CPMP>WG。所有改性蛋白的吸收峰均出现在275~279 nm,蛋白紫外吸收峰出现了蓝移,说明色氨酸、酪氨酸等残基基团所处微环境的极性状态发生了改变,这种改变也相应会引起肽键的断裂^[17]。

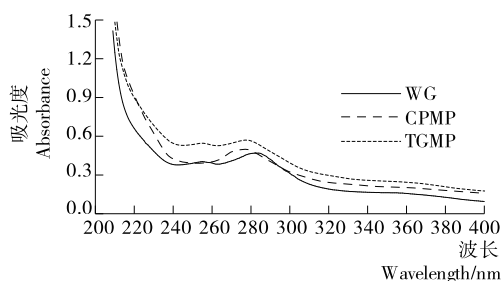


图2 核桃谷蛋白与改性蛋白的紫外光谱

Figure 2 UV-visible spectroscopy of WG and modified protein

2.3 巯基与二硫键分析

由图3可知,WG的游离巯基和二硫键含量分别为22.78,7.02 $\mu\text{mol/g}$ 。WG的大部分巯基都游离在蛋白质表面,而改性蛋白的巯基相对WG均是包埋在分子内部。在蛋白质空间结构中,巯基和二硫键是维持蛋白分子空间结构稳定以及改变一定功能特性的重要化学键^[18],这些化学键的断裂、结合、重组都可使蛋白质的更高级结构产生一定的变化,而这些变化往往又与蛋白质的功能特性紧密结合。

2.4 圆二色光谱分析

如图3所示,210 nm处的负峰显示了蛋白质具有 α -螺旋结构,而 α -螺旋结构过于稳定,在一定程度上会阻

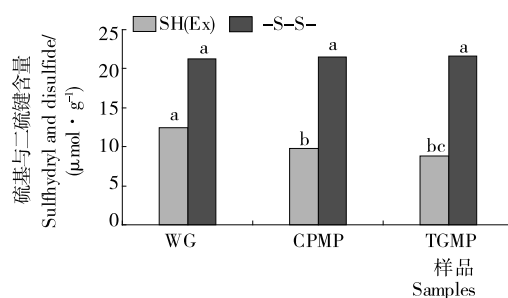
字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图3 核桃谷蛋白与改性蛋白的巯基与二硫键含量

Figure 3 SH and disulfide bond of WG and modified protein

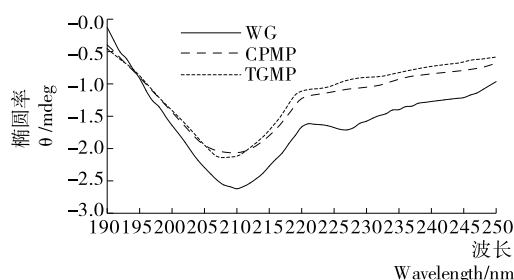


图4 核桃谷蛋白与改性蛋白的圆二色光谱

Figure 4 Circular dichroism spectroscopy of WG and modified protein

止蛋白的构象发生改变,蛋白质趋于稳定状态,不利于蛋白质功能特性的改变^[19];相比 α -螺旋结构, β 折叠与无规则卷曲结构使得蛋白稳定性较差。

由表1可知,未改性的WG二级结构主要为 β 折叠,且 α -螺旋结构占17.62%,为改性蛋白的1.27倍。经酶法改性的CPMP与TGMP虽有一定变化趋势,但表现不明显; β 转角结构在整体上变化不明显,无规则卷曲结构在一定程度上有所变化。

2.5 功能指标的测定

由表2可知,通过改性前后的数据对比分析,CPMP与TGMP的氮溶指数分别为40.61%,34.29%,氮溶指数提高了133.01%,96.75%,持水性提高了23.19%,22.25%,与沈敏江等^[20]的研究结果一致。Tsumura等^[21]研究发现,酶法改性可有效改善大豆蛋白的功能特性,主要与蛋白质的水解和交联有关;沈敏江等^[20]研究发现氮溶指数由8.74%上升至78.16%。

CPMP与TGMP的持油性均出现了一定的下降,可能是因为酶法改性较为温和,在暴露亲水基团的同时也在释放疏水性基团,而预先暴露出来的亲水性氨基酸阻止了疏水性氨基酸的暴露,导致疏水性氨基酸不能完全暴露,持油性较差。TG酶的催化作用会导致蛋白质的二级和三级结构发生变化,随着多肽的产生和肽链的舒展,更多的疏水基团与疏水区域的暴露会直接增加蛋白

表 1 核桃谷蛋白与改性蛋白二级结构变化对比

Table 1 Comparative analysis of secondary structure changes between WG and modified proteins

样品	二级结构分布和含量/%			
	α -螺旋	β -折叠	β -转角	不规则卷曲
WG	17.62±0.11	35.71±0.26	20.65±0.11	26.02±0.05
CPMP	16.85±0.01	36.46±0.05	21.58±0.17	25.11±0.03
TGMP	16.73±0.08	36.21±0.02	21.82±0.08	25.24±0.05

表 2 改性前后功能特性比较

Table 2 Comparison of functional properties before and after modification

样品	氮溶指数/%	持水性/(g·g ⁻¹)	持油性/(g·g ⁻¹)	乳化性/%	乳化稳定性/%	起泡性/%	起泡稳定性/%
WG	17.43±0.58	4.27±0.03	4.81±0.02	31.91±0.11	64.58±0.09	102.61±0.54	97.52±1.02
CPMP	40.61±0.28	5.26±0.09	3.51±0.07	42.06±0.31	113.04±0.24	102.64±0.11	90.71±0.26
TGMP	34.29±0.32	5.22±0.05	3.41±0.04	45.17±0.22	109.81±0.89	131.56±0.18	89.13±0.21

的持油性,但提高幅度并不明显;而因为 TG 酶所产生的交联化作用,其空间网络结构逐渐紧密,且 TG 酶也相应发生脱酰胺化,因此也会提升蛋白的持水性。杨森等^[22]认为,在水油两相比中,适当提高油相比比例可以提高大豆分离蛋白的凝胶持水性,提高大豆分离蛋白的乳化性状;而在大豆蛋白的相应产品中,TG 酶常被用作一种凝胶乳化剂以提升产品的乳化能力和胶凝程度^[23]。

在乳化特性与起泡特性上,采用酶法改性处理 WG 能够提高氮溶指数,同时对乳化特性有一定程度的提高。Guan 等^[24]指出,一般情况下,蛋白质的溶解性较好,蛋白的其他功能特性也相应较好;而沈敏江等^[20]则认为,使用酶法改性 WG,虽然其乳化性有一定提升,但乳化稳定性却呈现出显著下降,并指出可能是因为酶解破坏了核桃蛋白的内部结构,导致非极性基团逐渐暴露,因为酶解也会相应生成多肽和小分子肽,这些肽类黏滞在油分子表面,阻止了核桃蛋白的乳化稳定性。

由表 2 还可知,CPMP 与 TGMP 的起泡特性无明显变化。Kong 等^[25]发现有限的酶解可使蛋白质分子向多肽转变,而多肽链相比蛋白质具有较高的表面活性,而这种活性会促使核桃蛋白功能特性有所改善。Gan 等^[26]则发现 TG 酶对小麦蛋白的改性会显著提高蛋白的乳化性、起泡性以及凝胶性,且提高幅度均在 55% 以上,但其稳定性却都有略微的降低。这是由于 TG 酶能够对蛋白质中的谷氨酸以及赖氨酸残基产生交联化,这种交联化反应使得蛋白质分子间以及蛋白质分子内都逐渐发生交联,交联促进了蛋白分子的紧密结构,优化了蛋白的空间网络结构,这些原因均改善了蛋白功能特性。

3 结论

研究发现,经复合蛋白酶与 TG 酶改性后的核桃蛋白其溶解度有较大幅度的提升,持水能力也表现出一定

的升高,但持油性却有一定的下降;乳化特性与起泡特性也有相应的变化。结合光谱图的分析,更加明确了核桃蛋白在酶法改性时,蛋白的亲水性以及疏水性会发生相应的变化,蛋白中氨基酸残基的极性状态也会发生相应的变化,其内部的色氨酸与外部环境(pH、温度等)的改变,也会引发蛋白质高级结构的改变;也为核桃的定性分析提供了相应的理论依据。蛋白的游离巯基是决定亲水性的主要原因,蛋白分子内部以及分子间化学键的变化,能反作用于其所形成的高级结构变化,而结构表征性的变化又会影响到蛋白外在的功能特性的变化。但目前试验仍处于对结构表征的论述,未从蛋白组学的角度出发,对作用于氨基酸位点上的深层次机理加以阐述,且在实际应用中还有待于更深入的开发和完善。

参考文献

[1] 宋春丽, 赵新淮. 食品蛋白质的糖基化反应: 美拉德反应或转谷氨酰胺酶途径[J]. 食品科学, 2013, 34(9): 369-374.

[2] MA Tie-zheng, WANG Qiang, WU Hai-wen. Optimization of extraction conditions for improving solubility of peanut protein concentrates by response surface methodology[J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(9): 1 450-1 455.

[3] EALLEN F, JACKP D. Food protein functionality: A comprehensive approach[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(8): 1 853-1 864.

[4] 董建云, 钟昔阳, 罗水忠, 等. 谷氨酰胺转氨酶对小麦蛋白凝胶性的影响研究[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(12): 5-11.

[5] HU Xiao-zhong, XU Xue-bing, FAN Jun-feng, et al. Functional properties of microbial transglutaminase modified soybean glycinin and conglycinin[J]. International Journal of Food Engineering, 2011, 7(2): 156-158.

[6] 张海均, 程仲毅, 姚开. 转谷氨酰胺酶聚合改性大豆分离蛋

- 白的功能特性研究[J]. 食品科技, 2013, 38(2): 233-236, 241.
- [7] TANG Chuan-he, CHEN Zhong, LI Lin, et al. Effects of transglutaminase treatment on the thermal properties of soy protein isolates[J]. Food Research International, 2006, 13(39): 704-711.
- [8] SZE-TAO K W C, SATHE S K. Walnuts (*Juglans regia*, L.): Proximate composition, protein solubility, protein amino acid composition and protein in vitro, digestibility[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2000, 80(9): 1 393-1 401.
- [9] MARIA J S, MARÍA J M, ANA M R P. Influence of Maillard conjugation on structural characteristics and rheological properties of whey protein dextran systems[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 39(11): 223-230.
- [10] LIAO Lan, ZHAO Mou-ming, REN Jiao-yan, et al. Effect of acetic acid deamidation-induced modification on functional and nutritional properties and conformation of wheat gluten[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(3): 409-417.
- [11] PAREDESLOPEZ O, ORDORICAFALOMIR C, OLIVARESVAZQUEZ M R. Chickpea protein isolates: Physicochemical, functional and nutritional characterization[J]. Journal of Food Science, 2010, 56(3): 726-729.
- [12] PEDROCHE J, YUST M M, LQARI H, et al. Brassica carinata protein isolates: Chemical composition, protein characterization and improvement of functional properties by protein hydrolysis[J]. Food Chemistry, 2004, 88(3): 337-346.
- [13] 赵新淮, 侯瑶. 大豆蛋白限制性酶解对乳化性质和吸油性的影响[J]. 农业机械学报, 2009, 40(12): 159-163.
- [14] AGYARE K K, ADDO K, XIONG You-ling. Emulsifying and foaming properties of transglutaminase-treated wheat gluten hydrolysate as influenced by pH, temperature and salt[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(1): 72-81.
- [15] 王中江, 江连洲, 魏冬旭, 等. pH 值对大豆分离蛋白构象及表面疏水性的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(11): 47-51.
- [16] 魏冬旭, 江连洲, 王辰, 等. pH 值对大豆 11S 球蛋白结构和表面疏水性的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(11): 1-5.
- [17] 周昊, 王成章, 叶建中, 等. 高静压处理改善白果蛋白致敏性和功能特性[J]. 农业工程学报, 2016, 32(8): 292-298.
- [18] MAO Xiao-ying, HUA Yu-fei. Composition, structure and functional properties of protein concentrates and isolates produced from walnut (*Juglans regia* L.)[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(2): 1 561-1 581.
- [19] SHU Yang, XUE Wei-wei, XU Xiao-ying, et al. Interaction of erucic acid with bovine serum albumin using a multi-spectroscopic method and molecular docking technique[J]. Food Chemistry, 2015, 173(4): 31-37.
- [20] 沈敏江, 王文辉, 刘丽, 等. 核桃蛋白有限酶解增溶改性的工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(8): 93-98.
- [21] TSUMURA K, SAITO T, TSUGE K, et al. Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis[J]. LWT-Food Science and Technology, 2005, 38(3): 255-261.
- [22] 杨森, 唐传核. 微生物转谷氨酰胺酶对大豆分离蛋白乳液凝胶性能的影响[J]. 现代食品科技, 2012, 28(1): 5-8.
- [23] 吴琼, 陈丽娜, 代永刚, 等. 响应面优化转谷氨酰胺酶改性大豆分离蛋白工艺[J]. 食品科学, 2011, 32(4): 7-10.
- [24] GUAN Xiao, YAO Hui-yuan, CHEN Zheng-xing, et al. Some functional properties of oat bran protein concentrate modified by trypsin[J]. Food Chemistry, 2007, 101(1): 163-170.
- [25] KONG Xiang-zhen, ZHOU Hui-ming, QIAN Hai-feng. Enzymatic hydrolysis of wheat gluten by proteases and properties of the resulting hydrolysates [J]. Food Chemistry, 2007, 102(3): 759-763.
- [26] GAN Chee-yuen, CHENG Lai-hoong, EASA A M. Physicochemical properties and microstructures of soy protein isolate gels produced using combined cross-linking treatments of microbial transglutaminase and Maillard cross-linking[J]. Food Research International, 2008, 41(6): 600-605.

(上接第 17 页)

- [25] 柳青. 具有潜在益生特性乳酸菌的筛选鉴定及其特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2018: 16.
- [26] 南晓芳. 豆豉和腐乳中耐盐乳酸菌的筛选、鉴定及其功能特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016: 21-22.
- [27] LEITE A M O, MIGUEL M A L, PEIXOTO R S, et al. Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains [J]. Journal of Dairy Science, 2015, 98(6): 3 622-3 632.
- [28] 张刚. 乳酸细菌: 基础、技术和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 41-47.
- [29] 华鹤良. 乳酸菌的分离鉴定及其抗菌肽与发酵性能研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2014: 36.
- [30] 杨小慧. 白酒窖池中益生性乳酸菌的分离筛选及其胞外多糖生物活性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2018: 21.
- [31] WEI Chia-li, CHAO Song-lei, TSAI Wen-bin, et al. Analysis of bacterial diversity during the fermentation of inyu, a high-temperature fermented soy sauce, using nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and the plate count method[J]. Food Microbiology, 2013, 33(2): 252-261.
- [32] 王焕. 鸡源益生菌 BL-Y-1 菌株分离鉴定、发酵条件及其耐受性研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2009: 37-38.
- [33] SVETOSLAV D T, JEAN G L, BERNADETTE D G M. Evaluation of the probiotic potential and effect of encapsulation on survival for *Lactobacillus plantarum*, ST16Pa isolated from papaya[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(3): 973-984.