

超声波处理对小麦胚芽球蛋白理化和功能性质的影响^{*}

贾俊强 马海乐 赵伟睿 王振斌 何荣海 骆琳

(江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013)

【摘要】 采用超声波处理小麦胚芽球蛋白以提高其功能性质。研究了超声波处理对小麦胚芽球蛋白理化和功能性质的影响。结果表明:经超声波处理后,小麦胚芽球蛋白的巯基和二硫键含量、紫外光谱和荧光光谱均发生了显著的变化。随着超声波功率的增加,小麦胚芽球蛋白的疏水性、起泡性、起泡稳定性、乳化性和乳化稳定性都降低;当超声波功率大于900 W时,由于小麦胚芽球蛋白重新伸展,疏水基团暴露增多,引起疏水性、起泡性、起泡稳定性、乳化性和乳化稳定性增加。此外,超声波功率对小麦胚芽球蛋白的溶解度有显著影响,随着超声波功率的增加其溶解度明显增加。因此,通过选择适宜的超声波功率水平能够改善小麦胚芽球蛋白的理化和功能性质。

关键词: 小麦胚芽球蛋白 理化性质 功能性质 超声波处理 试验

中图分类号: TS201.1; S122

文献标识码: A

Effect of Ultrasound Treatment on Physicochemical and Functional Properties of Wheat Germ Globulin

Jia Junqiang Ma Haile Zhao Weirui Wang Zhenbin He Ronghai Luo Lin

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

Abstract

In order to improve the functional properties of wheat germ globulin, the ultrasound treatment method is adopted. Effect of ultrasound treatment on physicochemical and functional properties of wheat germ globulin is studied. Results show that free sulfhydryl and disulfide bond contents, ultraviolet spectrum, and fluorescence spectra of wheat germ globulin are changed significantly after ultrasound treatment. The hydrophobicity, foaming capacity, foaming stability, emulsifying activity and emulsifying stability of wheat germ globulin decrease with the increase of ultrasonic power. When the ultrasonic power is more than 900 W, the hydrophobicity, foaming capacity, foaming stability, emulsifying activity and emulsifying stability of wheat germ globulin are improved due to wheat germ globulin unfolding and exposed hydrophobic group increasing. Moreover, ultrasonic power has significant influence on the solubility of wheat germ globulin, which is gradually increased with the increase of ultrasonic power. Thus, ultrasound treatment could be used to modify the physicochemical and functional properties of wheat germ globulin by appropriate selection of ultrasonic power level.

Key words Wheat germ globulin, Physicochemical properties, Functional properties, Ultrasound treatment, Experiment

引言

小麦胚芽含有丰富的优质蛋白质、脂肪、维生

素、淀粉等物质。小麦胚芽蛋白中,球蛋白占总蛋白的质量分数为15.6%,其氨基酸组成合理,符合FAO规定的成年人对氨基酸的需求模式^[1],同时也

收稿日期:2008-07-17 修回日期:2008-08-15

^{*} 国家“863”高技术研究发展计划资助项目(2007AA10Z321)和江苏省普通高校研究生科研创新计划资助项目(CX07B-183z)

作者简介:贾俊强,博士生,主要从事食品生物技术研究,E-mail: junqiangjia2008@163.com

通讯作者:马海乐,教授,博士生导师,主要从事食品工程新技术及食品活性物质分离纯化研究,E-mail: mhl@ujs.edu.cn

具有良好的免疫活性^[2]。

蛋白质的功能特性,如溶解性、起泡性和乳化性等,在提高食品品质方面尤为重要。因此,提高蛋白质的功能特性是国内外学者研究的热点。目前改善蛋白质功能特性的方法有超高压处理^[3]、酶法水解^[4]和热诱导聚合^[5]等,这些方法分别存在设备要求高、成本高和操作条件不易控制等缺点。超声波技术具有作用时间短、操作简单易控制及能耗较低等优点,已应用于魔芋胶的降解^[6],改善乳清蛋白的溶解性和起泡性^[7]以及提高大豆分离蛋白凝胶性能^[8]等。然而,关于用超声波处理小麦胚芽球蛋白改善其理化和功能性质的研究尚未见报道。本文研究经超声波处理的小麦胚芽球蛋白的巯基和二硫键含量、紫外光谱、荧光光谱、表面疏水性、起泡性能以及乳化性能的变化,以揭示超声波技术能够改善小麦胚芽球蛋白的理化和功能性质,为小麦胚芽球蛋白的深加工提供一定的理论参考。

1 试验材料和方法

1.1 材料和仪器设备

脱脂小麦胚芽,安阳满天雪蛋白有限公司;淀粉酶(酶活力 2 000 U/g),国药集团化学试剂公司;1-苯胺基-8-萘磺酸(ANS)和 5.5'-二硫双-2-硝基苯甲酸(DTNB),Sigma 公司;三(羟甲基)氨基甲烷(tris)、甘氨酸(Gly)等试剂均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。GA99-II D 型超声细胞粉碎机,无锡上佳生物科技公司;WFJ7200 型分光光度计,上海尤尼柯仪器有限公司;LD5-2A 型离心机,北京医用离心机厂;PHS-3C 型精密 pH 计,上海精密科学仪器有限公司;Cary 100 型紫外分光光度计和 Cary Eclipse 型荧光分光光度计,美国 Varian 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 小麦胚芽球蛋白的提取

取脱脂小麦胚芽粉 100 g 溶于 1 L 蒸馏水中,在 50℃ 下用淀粉酶(加酶量为 1 g)水解 2 h 后,3 500 r/min 离心 10 min,除去上清液;沉淀悬浮于 1 L 质量分数 2% NaCl 溶液,50℃ 下搅拌 2 h,3 500 r/min 离心 10 min 后取上清液,将上清液 pH 值调至 4.2,静置 30 min 后,3 500 r/min 离心 10 min 得到沉淀,经透析后冷冻干燥备用。

1.2.2 小麦胚芽球蛋白的超声波处理参数

取 80 mL 的样品溶液,超声波功率分别为 300、600、900、1 200、1 500、1 800 W,在冰浴中超声波处理 5 min,处理后的样品分别进行理化性质和功能性质分析。

1.2.3 巯基和二硫键含量测定

对 Beveridge 等^[9]的方法略有修改。取 2 g 小麦胚芽球蛋白溶于 1 L pH 值 8.0 的 Tris-Gly 缓冲溶液中,按照 1.2.2 节的方法进行超声波处理。分别取未处理或超声波处理样品 0.5 mL,加入 2.5 mL 浓度为 8 mol/L 尿素的 Tris-Gly 缓冲溶液(pH 值 8.0),再加入 0.02 mL 质量浓度 4 g/L DTNB,迅速混匀后在 25℃ 下反应 30 min,用分光光度计在波长 412 nm 下测定吸光度。巯基含量($\mu\text{mol/g}$)计算公式为

$$C_{SH} = 456.2A_{SH}/C_S \quad (1)$$

式中 A_{SH} ——巯基吸光度

C_S ——样品质量浓度, g/L

取 0.5 mL 被测样品,加入 5 mL 浓度为 10 mol/L 尿素的 Tris-Gly 缓冲溶液(pH 值 8.0),再加入 0.1 mL 巯基乙醇在 25℃ 下反应 1 h;加入 50 mL 质量分数 12% 的三氯乙酸溶液,继续反应 1 h 后离心;沉淀用 50 mL 质量分数 12% 三氯乙酸溶液洗涤并离心,重复两次;最后在离心残渣中加入 15 mL 浓度为 8 mol/L 尿素的 Tris-Gly 缓冲溶液(pH 值 8.0),然后加入 0.15 mL 质量浓度为 4 g/L DTNB,迅速混匀后在 25℃ 下反应 30 min,在波长 412 nm 下测定吸光度。二硫键含量($\mu\text{mol/g}$)计算式为

$$C_{SS} = (1\ 103A_{SS}/C_S - C_{SH})/2 \quad (2)$$

式中 A_{SS} ——二硫键吸光度

1.2.4 紫外光谱扫描

取 1 g 小麦胚芽球蛋白溶于 1 L 蒸馏水中,在 3 500 r/min 下离心后取上清液,按照 1.2.2 节的方法进行超声波处理,经超声波处理的样品分别在 200~800 nm 下用紫外分光光度计扫描。同时用未经超声波处理的蛋白样品作对照。

1.2.5 荧光光谱扫描

取 1 g 小麦胚芽球蛋白溶于 1 L 蒸馏水中,在 3 500 r/min 下离心后取上清液,按照 1.2.2 节的方法进行超声波处理,经超声波处理的样品分别用荧光分光光度计扫描,扫描条件为激发波长 380 nm,发射波长 400~800 nm,激发和发射缝宽为 2.5 nm。同时用未经超声波处理的蛋白样品作对照。

1.2.6 小麦胚芽球蛋白表面疏水性测定

对 Kato 等^[10]的方法略有修改。取 2 g 小麦胚芽球蛋白溶于 1 L 浓度为 0.01 mol/L 磷酸缓冲溶液(pH 值 7.0)中,按照 1.2.2 节方法进行超声波处理。分别将未处理或超声波处理样品用 0.01 mol/L 磷酸缓冲溶液(pH 值 7.0)稀释到质量分数为 0.1%、0.05%、0.025%、0.012 5% 和 0.006 25%;取上述稀释液 4 mL,加入 20 μL 的 ANS,混匀后反应

15 min, 测定荧光强度。测定条件: 激发波长 365 nm, 发射波长 484 nm, 激发和发射缝宽 2.5 nm。以蛋白浓度对荧光强度作图, 用 Excel 进行线性回归, 直线斜率即为蛋白表面疏水性。

1.2.7 小麦胚芽球蛋白溶解能力测定

根据文献[11], 取蛋白样品 2 g 悬浮于 100 mL 蒸馏水中, 并调节其 pH 值为 7.0, 按照 1.2.2 节的方法处理蛋白悬浮液, 处理的蛋白悬浮液搅拌 30 min 后以 8 000 r/min 离心 20 min, 测定上清液的蛋白含量。用 1 L 溶液中溶解蛋白的质量(g) 表示蛋白的溶解能力。

1.2.8 小麦胚芽球蛋白起泡能力测定

0.2 g 蛋白样品溶于 100 mL 蒸馏水中, 调节 pH 值至 7.0, 然后按照 1.2.2 节的方法处理蛋白溶液。根据文献[11], 取 50 mL 蛋白溶液用高速搅拌器在 10 000 r/min 下搅拌 2 min, 然后倒入 250 mL 量筒中测量搅拌后的总体积, 蛋白起泡性 (foaming capacity, 简称 FC) 表示为蛋白溶液搅拌后体积增加的百分比; 搅拌后静置 30 min 的蛋白溶液体积增加的百分比表示起泡稳定性 (foaming stability, 简称 FS)。

1.2.9 小麦胚芽球蛋白乳化能力测定

0.2 g 蛋白样品溶于 100 mL 蒸馏水中, 调节 pH 值至 7.0, 然后按照 1.2.2 节的方法处理蛋白溶液。根据文献[12], 取 45 mL 处理的蛋白样品, 加入 15 mL 色拉油, 在 10 000 r/min 下用高速搅拌器搅拌 1 min, 分别在搅拌后 0 min 和 10 min 从容器底部取乳化液 50 μ L, 用 5 mL 质量分数 0.1% 的十二烷基磺酸钠溶液对其稀释, 混匀后在波长 500 nm 处测定其吸光度。乳化性 (emulsifying activity index, 简称 EAI) 和乳化稳定性 (emulsifying stability index, 简称 ESI) 的计算公式为

$$E_{AI} = \frac{2 \times 2.303 A_0 D_f}{10\,000 \theta C} \quad (3)$$

$$E_{SI} = \frac{10 A_0}{A_0 - A_{10}} \quad (4)$$

式中 E_{AI} ——乳化性, m^2/g

E_{SI} ——乳化稳定性, min

D_f ——稀释倍数

C ——蛋白质量浓度, g/mL

θ ——体系中油相的体积分数

A_0 ——初始吸光度

A_{10} ——10 min 时的吸光度

1.2.10 数据分析

文中图表所列数据均测定 3 次, 结果以平均值表示。

2 结果与讨论

2.1 小麦胚芽球蛋白巯基和二硫键

二硫键对稳定蛋白空间结构具有重要的作用。不同超声波功率下, 超声波处理对小麦胚芽球蛋白巯基(-SH)和二硫键(S-S)含量的影响如图 1 所示。从图 1 可以看出, 在超声波功率低于 600 W 时, 随着超声波功率的增加, 小麦胚芽球蛋白巯基含量逐渐下降, 二硫键含量却逐渐增加; 在超声波功率为 600 W 时, 小麦胚芽球蛋白的巯基含量最低, 二硫键含量达到最高; 当超声波功率进一步增加时, 小麦胚芽球蛋白的巯基含量逐渐增加, 二硫键含量却逐渐降低。

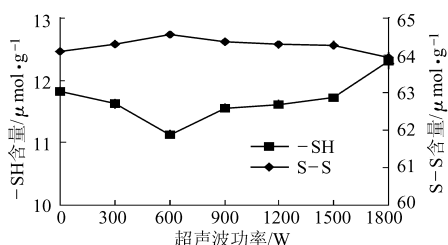


图1 超声波功率对小麦胚芽球蛋白巯基和二硫键含量的影响曲线

Fig. 1 Effect of ultrasonic power on free sulfhydryl and disulfide bond contents of wheat germ globulin

分子内二硫键的形成对蛋白的折叠具有重要的作用, 蛋白分子中二硫键的增加或巯基的减少意味着蛋白分子的折叠, 相反则说明蛋白分子发生了伸展^[13~14]。本研究中, 巯基和二硫键含量的变化, 说明小麦胚芽球蛋白经超声波处理后, 空间结构发生了变化。

2.2 小麦胚芽球蛋白紫外光谱和荧光光谱

蛋白质之所以能产生紫外吸收光谱, 其主要原因是色氨酸和酪氨酸残基的侧链基团对紫外光的吸收, 其次是苯丙氨酸、组氨酸和半胱氨酸残基的侧链基团对紫外光的吸收, 此外还有肽键对紫外光的强烈吸收^[15]。超声波处理小麦胚芽球蛋白的紫外扫描光谱如图 2 所示, 图中曲线 1~7 分别表示超声波功率为 0、300、600、900、1 200、1 500、1 800 W。从图 2 可以看出, 在超声波功率等于和小于 1 500 W 时, 小麦胚芽球蛋白的紫外吸光度在波长 250~280 nm 附近出现了不同程度降低; 在超声波功率为 900 W 时, 小麦胚芽球蛋白在波长 250~280 nm 附近紫外吸光度最低; 当超声波功率为 1 800 W 时, 小麦胚芽球蛋白的紫外吸光度 (波长 250~280 nm) 明显高于对照组。在蛋白的紫外光谱中, 蛋白分子的折叠可以引起蛋白紫外吸光度降低, 反之则引起紫外吸光度的增加^[16]。分别对不同超声波功率处理的小麦胚

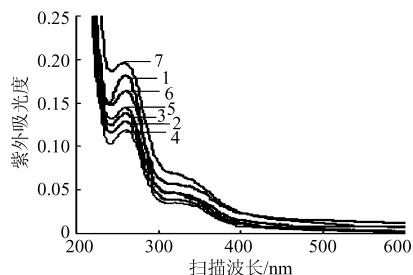


图2 超声波功率对小麦胚芽球蛋白紫外光谱的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic power on the ultraviolet spectrum of wheat germ globulin

芽球蛋白进行荧光扫描,扫描条件为激发波长380 nm,发射波长400~800 nm,激发和发射的缝宽分别为2.5 nm。荧光光谱截图如图3所示,图中曲线1~7分别表示超声波功率为:0、300、600、900、1200、1500、1800 W。从图3可以看出,在超声波功率小于或等于1500 W时,经超声波处理的小麦胚芽球蛋白的激发荧光强度在发射波长618 nm附近明显低于对照组;超声波功率为600 W时,小麦胚芽球蛋白的激发荧光强度最低。当超声波功率为1800 W时,小麦胚芽球蛋白的激发荧光强度在发射波长618 nm附近明显高于对照组。蛋白具有内源荧光,蛋白激发荧光强度的改变或者发射波长的改变都可以说明蛋白分子结构发生了改变^[15]。

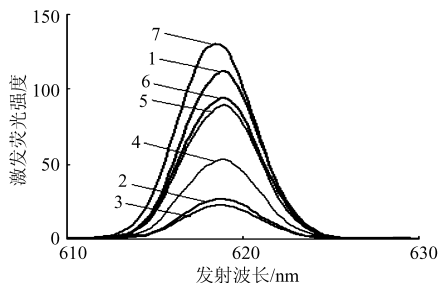


图3 超声波功率对小麦胚芽球蛋白荧光光谱的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic power on the fluorescence spectra of wheat germ globulin

紫外光谱和荧光光谱分析,均说明超声波处理使小麦胚芽球蛋白的空间结构发生了变化。

2.3 小麦胚芽球蛋白表面疏水性

疏水作用是维持蛋白质结构的主要作用力,它对蛋白结构的稳定和蛋白的功能特性具有重要的作用。ANS荧光探针法是一种常用的评价蛋白质表面疏水性的方法,ANS与蛋白结合的荧光强度与蛋白的表面疏水性呈正相关^[10]。不同超声波功率下对小麦胚芽球蛋白进行处理,其表面疏水性变化如图4所示。

从图4可以看出,在超声波功率低于900 W时,随着超声波功率的增加,小麦胚芽球蛋白表面疏水性逐渐下降;当超声波功率进一步增大时,小麦胚

芽球蛋白表面疏水性逐渐增大,1800 W时,小麦胚芽球蛋白表面疏水性明显高于对照组。蛋白表面疏水性的变化与蛋白分子发生折叠或伸展有关,当蛋白折叠时,其表面疏水性降低;当蛋白伸展时,其表面疏水性增加^[3]。试验结果进一步表明,超声波处理使小麦胚芽球蛋白的空间结构发生了变化。

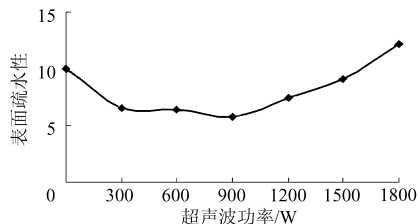


图4 超声波功率对小麦胚芽球蛋白表面疏水性的影响曲线

Fig.4 Effect of ultrasonic power on the surface hydrophobicity of wheat germ globulin

2.4 小麦胚芽球蛋白溶解度

溶解度是蛋白的重要功能特性之一。不同超声波功率下,经超声波处理的小麦胚芽球蛋白的溶解度如图5所示,当超声波功率低于300 W时,随着超声波功率的增加,小麦胚芽球蛋白的溶解度迅速增加;超声波功率大于300 W时,小麦胚芽球蛋白的溶解度增幅变缓。超声波功率低于900 W时,小麦胚芽球蛋白经超声波处理后,表面疏水性降低,能够与水充分结合^[17],因而提高了溶解度。当超声波功率高于900 W时,随着超声波功率的增加,蛋白表面疏水性开始增加,蛋白的溶解度也持续平稳增加,出现这种现象的原因可能归因于:①小麦胚芽球蛋白中谷氨酸、天冬氨酸和丝氨酸含量较高,当小麦胚芽球蛋白经超声波处理后,其分子发生了伸展,使较多的谷氨酸、天冬氨酸和丝氨酸充分暴露,这些氨基酸的暴露对蛋白溶解度的提高具有重要作用^[17]。②在蛋白质中,自由氨基群能和邻近羧基群发生静电引力,使蛋白分子聚集,溶解度下降;超声波处理能够打断自由氨基群和邻近羧基群之间的联系,阻止蛋白分子聚集,使蛋白溶解度得到提高^[12]。

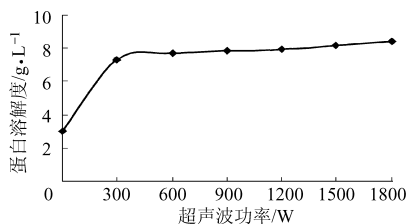


图5 超声波功率对小麦胚芽球蛋白溶解度的影响曲线

Fig.5 Effect of ultrasonic power on the solubility of wheat germ globulin

2.5 小麦胚芽球蛋白起泡性能

起泡能力是蛋白非常重要的功能特性之一。不

同超声波功率下,小麦胚芽球蛋白的起泡性和起泡稳定性如图6所示。从图6可以看出,随着超声波功率的增加,小麦胚芽球蛋白起泡性和起泡稳定性先降后升,在900 W时最低,1800 W时高于对照组(0 W)。

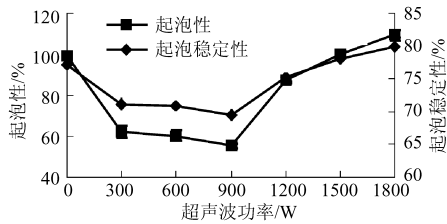


图6 超声波功率对小麦胚芽球蛋白起泡性和起泡稳定性的影响曲线

Fig. 6 Effect of ultrasonic power on the foaming capacity and foaming stability of wheat germ globulin

当超声波功率低于900 W时,随着超声波功率的增加,小麦胚芽球蛋白表面疏水性逐渐降低,蛋白质分子间不易形成稳定的网络结构和水-空气界面膜,因此,小麦胚芽球蛋白的起泡性和起泡稳定性开始下降;当超声波功率高于900 W时,随着超声波功率的增加,小麦胚芽球蛋白表面疏水性逐渐增加,促进了水-空气界面的形成,同时部分伸展的蛋白分子又提高了蛋白的柔性,从而在气-液界面上形成了更为稳定的界面膜,引起起泡能力和泡沫稳定性增强^[18-20]。

2.6 小麦胚芽球蛋白乳化性能

蛋白分子具有亲水和亲油基团,在油水混合液中,蛋白分子有扩散到油水界面的趋势,疏水部分朝向脂质,亲水部分朝向水相,降低油-水界面张力和成膜,在剧烈搅拌时形成乳浊液。不同超声波功率处理下,小麦胚芽球蛋白的乳化性和乳化稳定性如图7所示。从图7可以看出,当超声波功率低于900 W时,随着超声波功率的增加,小麦胚芽球蛋白的乳化性和乳化稳定性逐渐降低;在超声波功率为900 W时,小麦胚芽球蛋白的乳化性和乳化稳

定性最低;随着超声波功率进一步增强,小麦胚芽球蛋白乳化性和乳化稳定性呈现上升趋势。蛋白质的乳化性与它的表面疏水性存在着正相关关系^[21]。在超声波功率为300~900 W时,小麦胚芽球蛋白分子的表面疏水性降低,不易形成油-水界面膜,乳化性和乳化稳定性降低;随着超声波功率的进一步增加,小麦胚芽球蛋白的表面疏水性开始增加,促使蛋白分子与水形成油-水界面膜,小麦胚芽球蛋白的乳化性和乳化稳定性又逐渐增强^[18,20]。

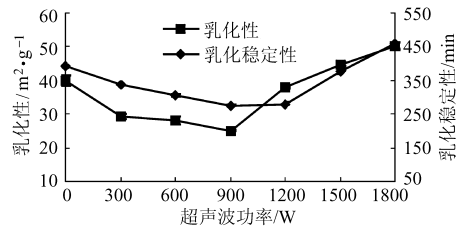


图7 超声波功率对小麦胚芽球蛋白乳化性和乳化稳定性的影响曲线

Fig. 7 Effect of ultrasonic power on the emulsifying activity and emulsifying stability of wheat germ globulin

3 结论

(1) 通过对不同超声波功率处理的小麦胚芽球蛋白的巯基和二硫键含量、紫外光谱、荧光光谱和表面疏水性的比较,发现超声波处理后,小麦胚芽球蛋白的巯基和二硫键含量、紫外光谱、荧光光谱和表面疏水性均发生了变化,这说明超声波处理改变了小麦胚芽球蛋白的空间结构。

(2) 蛋白空间结构的变化,引起蛋白功能性质发生了改变。当超声波功率低于300 W时,随着超声波功率的增加,小麦胚芽球蛋白的溶解度迅速增加;超声波功率大于300 W时,小麦胚芽球蛋白的溶解度增幅变缓。当超声波功率低于900 W时,随着超声波功率的增加,起泡性能和乳化性能逐渐下降;超声波功率高于900 W时,随着超声波功率的增加,起泡性能和乳化性能逐渐增强。

参 考 文 献

- Zhu K X, Zhou H M, Qian H F. Proteins extracted from defatted wheat germ: nutritional and structural properties [J]. *Cereal Chemistry*, 2006, 83(1): 69~75.
- 孙震, 周惠明. 小麦胚芽中水溶性和盐溶性提取物的免疫活性研究[J]. *中国粮油学报*, 2001, 16(5): 29~31.
Sun Zhen, Zhou Huiming. Studies on immune activity of water-soluble and salt-soluble extractive from wheat germ[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2001, 16(5): 29~31. (in Chinese)
- Wang X S, Tang C H, Li B S, et al. Effects of high-pressure treatment on some physicochemical and functional properties of soy protein isolates[J]. *Food Hydrocolloids*, 2008, 22(4): 560~567.
- 徐红华, 刘欣, 温其标. 复合酶法改善大豆分离蛋白乳化性的试验[J]. *农业机械学报*, 2008, 39(2): 103~106.
Xu Honghua, Liu Xin, Wen Qibiao. Optimum technology of improvement emulsifying properties of soybean protein isolate by multiple enzymes[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2008, 39(2): 103~106. (in Chinese)

- Chinese)
- 5 Guilmineau F, Kulozik U. Impact of a thermal treatment on the emulsifying properties of egg yolk[J]. *Food Hydrocolloids*, 2006, 20(8): 1 105~1 113.
 - 6 Lin Kuowei, Huang Chiuying. Physicochemical and textural properties of ultrasound-degraded konjac flour and their influences on the quality of low-fat Chinese-style sausage[J]. *Meat Science*, 2008, 79(4):615~622.
 - 7 Jambak A R, Mason T J, Lelas V, et al. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions[J]. *Journal of Food Engineering*, 2008, 86(2): 281~287.
 - 8 唐传核, 姜燕, 杨晓泉, 等. 超声处理对商用大豆分离蛋白凝胶性能的影响[J]. *中国粮油学报*, 2005, 20(5): 72~76.
Tang Chuanhe, Jiang Yan, Yang Xiaoquan, et al. Effect of ultrasonic treatment on gelling properties of commercial soy protein isolate[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2005, 20(5): 72~76. (in Chinese)
 - 9 Beveridge T, Toma S J, Nakai S. Determination of SH— and SS— groups in some food proteins using Ellman's reagent [J]. *Journal of Food Science*, 1974, 39(1): 49~51.
 - 10 Kato A, Nakai S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe methods and its correction with surface properties of proteins[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1980, 624(1): 13~20.
 - 11 Yin S W, Tang C H, Cao J S, et al. Effects of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate[J]. *Food Chemistry*, 2008, 106(3): 1 004~1 013.
 - 12 Krasaechol N, Sanguandekul R, Duangmal K, et al. Structure and functional properties of modified threadfin bream sarcoplasmic protein[J]. *Food Chemistry*, 2008,107(1): 1~10.
 - 13 Arolas J L, Aviles F X, Chang J Y, et al. Folding of small disulfide-rich proteins: clarifying the puzzle[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2006,31 (5): 292~301.
 - 14 Li Y, Chen Z, Mo H. Effects of pulsed electric fields on physicochemical properties of soybean protein isolates[J]. *LWT*, 2007, 40(7): 1 167~1 175.
 - 15 吴丹, 徐桂英. 光谱法研究蛋白质与表面活性剂的相互作用[J]. *物理化学学报*, 2006, 22(2): 254~260.
Wu Dan, Xu Guiying. Study on protein-surfactant interaction by spectroscopic methods[J]. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 2006, 22(2): 254~260. (in Chinese)
 - 16 Tang C, Yang X, Chen Z, et al. Physicochemical and structural characteristics of sodium caseinate biopolymers induced by microbial transglutaminase[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2005, 29(4): 402~421.
 - 17 Trevino S, Scholtz J M, Pace C N. Amino acid contribution to protein solubility: asp, glu, and ser contribute more favorably than the other hydrophilic amino acids in RNase Sa[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2007, 366(2): 449~460.
 - 18 Jitngarmkusol S, Hongsuwankul J, Tananuwong K. Chemical compositions, functional properties, and microstructure of defatted macadamia flours[J]. *Food Chemistry*, 2008, 110(1): 23~30.
 - 19 Cornec M, Kim D A, Narsimhan G, et al. Adsorption dynamics and interfacial properties of α -lactalbumin in native and molten globule state conformation at air-water interface[J]. *Food Hydrocolloids*, 2001,15(3): 303~313.
 - 20 El Adawy T A. Functional properties and nutritional quality of acetylated and succinylated mung bean protein isolate[J]. *Food Chemistry*, 2000, 70(1): 83~91.
 - 21 李迎秋, 陈正行. 高压脉冲电场对大豆分离蛋白功能性质的影响[J]. *农业工程学报*, 2006, 22(8): 194~198.
Li Yingqiu, Chen Zhengxing. Effect of high intensity pulsed electric field on the functional properties of protein isolated from soybean[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2006, 22(8): 194~198. (in Chinese)
 - 22 姜燕, 张昕, 石晶, 等. 超声波处理玉米磷酸酯淀粉膜液对膜性能的影响[J]. *农业机械学报*, 2007,38(12):105~108.
Jiang Yan, Zhang Xin, Shi Jing, et al. Ultrasonic treatment of edible films forming solution based on corn anionic starch[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2007,38(12):105~108. (in Chinese)