

稻米蛋白质 研究与利用

吴殿星 舒小丽 编著

 中国农业出版社

稻米蛋白质研究与利用

吴殿星 舒小丽 编著

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

稻米蛋白质研究与利用/吴殿星, 舒小丽编著. —北京:
中国农业出版社, 2009. 4
ISBN 978-7-109-13443-0

I. 稻… II. ①吴…②舒… III. 水稻—蛋白质—研究
IV. S511

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 029221 号

中国农业出版社出版
(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)
(邮政编码 100125)
责任编辑 舒 薇

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行
2009 年 7 月第 1 版 2009 年 7 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 9. 25
字数: 212 千字 印数: 1~2 000 册
定价: 35.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

前 言

稻米蛋白质是公认的优质植物蛋白。我国以稻米为主食的人群每人每天消耗稻米在 300g 左右，摄入的稻米蛋白质为 18.9~32.89g，占摄入蛋白质量的 41.39%~45.5%，因此稻米蛋白质在膳食营养中占据极其重要的地位。稻米蛋白质的研究和开发不仅有利于稻米深加工综合利用，提高经济效益，而且还可以为食品工业和人们的营养保健提供更多的蛋白质基料及蛋白补充剂，具有广阔的应用前景。

本书不仅综述了国内外该领域的最新研究进展，也紧密结合自身的研究实践加以论述，全书共 5 章：第一章，稻米蛋白质的组成、结构和性质；第二章，稻米蛋白质的遗传调控；第三章，高伽玛氨基丁酸稻米的研究与利用；第四章，稻米蛋白质的制备与应用；第五章，稻米蛋白质含量及性质的测定方法。此书可为从事遗传育种、生物技术、食品科学、现代营养，以及医药化工等相关的研究、教学和管理人员提供必要的参考。

本书的部分内容，系实验室多年来在稻米品质研究的一个缩影，一直承蒙恩师夏英武教授的悉心指导与不断鼓励，并先后受国家转基因专项、863 分子育种、航天育种工程和空间环境农业项目、教育部新世纪人才项目 (NCET-07-0753)、浙江省科技厅 (2007C12007/12903/0406)、中国科学院知识创新工程重大项目 (KSCX1-YW-03) 及中国博士后基金 (20070421216) 等课题的资助，在此一并表示衷心的感谢。在编写的过程中，澳大利亚西澳农业部李承道博士和默多克大学张孝琪博士不仅创造了有利的条件，并给予了热心的关怀，在此表示诚挚的谢意和感激。

由于个人能力和水平有限，加之编写时间仓促，书中难免存在诸多错误和不当表述，尤其是参考文献可能存在的标识不明或未标之处，敬请同行专家和广大读者谅解与指正。

作 者

2008 年 10 月

目 录

前言

| | |
|----------------------------------|----|
| 第一章 稻米蛋白质的组成、结构与性质 | 1 |
| 1.1 稻米蛋白质的组成与结构 | 2 |
| 1.1.1 稻米蛋白质的组成 | 2 |
| 1.1.2 稻米蛋白质的存在状态 | 3 |
| 1.1.3 稻米蛋白质分子亚基成分 | 5 |
| 1.1.4 陈化、热加工和干燥方法对稻米蛋白质的影响 | 7 |
| 1.2 稻米蛋白质的表面疏水性和热力学性质 | 9 |
| 1.2.1 稻米蛋白质的表面疏水性 | 9 |
| 1.2.2 稻米蛋白质的热力学性质 | 10 |
| 1.3 稻米蛋白质的营养与保健特性 | 10 |
| 1.3.1 稻米蛋白质的营养价值 | 10 |
| 1.3.2 稻米蛋白质的低过敏性 | 15 |
| 1.3.3 稻米蛋白质的保健功能 | 16 |
| 1.4 稻米蛋白质的功能性质 | 17 |
| 1.4.1 溶解性 | 18 |
| 1.4.2 乳化性 | 19 |
| 1.4.3 起泡性及起泡稳定性 | 20 |
| 1.4.4 持水性与吸油性 | 22 |
| 1.5 稻米蛋白质与稻米品质的关系 | 22 |
| 1.5.1 稻米蛋白质与营养品质的关系 | 22 |
| 1.5.2 稻米蛋白质与食用品质的关系 | 23 |
| 1.5.3 稻米蛋白质与米制食品的关系 | 25 |
| 1.5.4 稻米蛋白质与储藏性能的关系 | 25 |
| 1.5.5 稻米蛋白质与外观品质的关系 | 26 |
| 1.5.6 稻米蛋白质与碾米品质的关系 | 26 |
| 主要参考文献 | 27 |
| 第二章 稻米蛋白质的遗传调控 | 33 |
| 2.1 稻米蛋白质的品种间变异及其评价标准 | 33 |
| 2.2 稻米蛋白质的遗传研究 | 34 |

| | |
|---------------------------------|-----------|
| 2.2.1 经典遗传 | 34 |
| 2.2.2 分子遗传 | 36 |
| 2.3 稻米蛋白质的影响调控 | 40 |
| 2.3.1 环境因素 | 40 |
| 2.3.2 栽培农艺因素 | 42 |
| 2.3.3 收获后干燥与贮藏 | 45 |
| 2.4 稻米蛋白质的改良 | 45 |
| 2.4.1 传统育种技术 | 45 |
| 2.4.2 体细胞无性系变异 | 46 |
| 2.4.3 诱变技术 | 47 |
| 2.4.4 染色体工程法 | 51 |
| 2.4.5 总 DNA 导入法 | 51 |
| 2.4.6 转基因技术 | 52 |
| 2.4.7 分子标记辅助育种 | 56 |
| 主要参考文献 | 57 |
| 第三章 富含伽玛氨基丁酸稻米 | 64 |
| 3.1 γ -氨基丁酸及其生理功能 | 64 |
| 3.1.1 γ -氨基丁酸 (GABA) 的概念 | 64 |
| 3.1.2 富含 GABA 米胚芽的生理功能 | 65 |
| 3.2 GABA 在稻米中的分布、富集与生产工艺 | 67 |
| 3.2.1 GABA 的分布与富集 | 67 |
| 3.2.2 富含 GABA 米胚芽的生产工艺 | 68 |
| 3.3 富含 GABA 的巨大胚水稻及其特性 | 69 |
| 3.3.1 巨大胚水稻诱变育种 | 69 |
| 3.3.2 巨大胚水稻的遗传控制 | 72 |
| 3.3.3 巨大胚水稻的理化性质 | 74 |
| 3.3.4 巨大胚水稻的主要营养成分 | 74 |
| 3.3.5 巨大胚水稻的农艺性状 | 75 |
| 3.4 巨大胚水稻中 GABA 的表达、累积及代谢 | 79 |
| 3.4.1 巨大胚水稻中 GABA 的表达特性 | 79 |
| 3.4.2 巨大胚水稻中 GABA 的代谢 | 79 |
| 3.5 富含 GABA 稻米产品 | 82 |
| 主要参考文献 | 83 |
| 第四章 稻米蛋白质的制备与应用 | 86 |
| 4.1 稻米蛋白质的提取 | 86 |
| 4.1.1 稻米蛋白质的提取原料 | 86 |

| | |
|---------------------------|------------|
| 4.1.2 稻米蛋白质的提取方法 | 88 |
| 4.1.3 稻米蛋白质提取方法的比较与发展趋势 | 100 |
| 4.2 稻米蛋白质的改性 | 101 |
| 4.2.1 酶法改性 | 102 |
| 4.2.2 化学法改性 | 104 |
| 4.3 稻米蛋白质的开发现状 | 105 |
| 4.3.1 国外的开发现状 | 105 |
| 4.3.2 国内的开发现状 | 106 |
| 4.4 稻米蛋白质的开发应用 | 107 |
| 4.4.1 动物与水产饲用蛋白 | 107 |
| 4.4.2 高蛋白配方米粉 | 109 |
| 4.4.3 营养补充剂 | 110 |
| 4.4.4 食品添加剂 | 112 |
| 4.4.5 营养肽与风味肽 | 113 |
| 4.4.6 功能肽 | 114 |
| 4.4.7 可食用膜 | 115 |
| 4.4.8 抗性蛋白 | 116 |
| 4.4.9 食疗型蛋白 | 116 |
| 主要参考文献 | 117 |
| 第五章 稻米蛋白质及其性质的测定方法 | 120 |
| 5.1 蛋白质含量测定 | 120 |
| 5.1.1 凯氏定氮法 | 120 |
| 5.1.2 乙酰丙酮和甲醛显色法 | 121 |
| 5.1.3 Bradford 比色法 | 123 |
| 5.1.4 福林-酚比色法 | 123 |
| 5.2 氨基酸含量测定(氨基酸自动分析仪) | 124 |
| 5.2.1 基本原理 | 124 |
| 5.2.2 仪器试剂 | 124 |
| 5.2.3 分析步骤 | 125 |
| 5.2.4 碱水解 | 125 |
| 5.3 粗蛋白质提取 | 126 |
| 5.3.1 碱提取法 | 126 |
| 5.3.2 淀粉降解法 | 127 |
| 5.4 蛋白组分提取 | 127 |
| 5.4.1 基本原理 | 127 |
| 5.4.2 仪器和试剂 | 127 |
| 5.4.3 提取步骤 | 127 |

| | |
|--|-----|
| 5.5 蛋白质水解度 | 128 |
| 5.5.1 三硝基苯磺酸 (TNBs, C ₆ H ₃ N ₃ O ₉ S) 法 | 128 |
| 5.5.2 邻苯二甲醛 (OPA, C ₈ H ₆ O ₂) 法 | 130 |
| 5.6 蛋白分子量测定 | 131 |
| 5.6.1 TNBs 法 | 131 |
| 5.6.2 SDS-PAGE 法 | 131 |
| 5.6.3 凝胶过滤高效凝胶色谱法 | 134 |
| 5.7 蛋白溶解度测定 | 134 |
| 5.7.1 基本原理 | 135 |
| 5.7.2 仪器与试剂 | 135 |
| 5.7.3 分析步骤 | 135 |
| 5.8 发泡性及发泡稳定性 | 135 |
| 5.8.1 基本原理 | 135 |
| 5.8.2 仪器和试剂 | 135 |
| 5.8.3 分析步骤 | 136 |
| 5.9 乳化活性和乳化稳定性 | 136 |
| 5.9.1 基本原理 | 136 |
| 5.9.2 仪器和试剂 | 136 |
| 5.9.3 分析步骤 | 136 |
| 5.10 持水、持油能力 | 136 |
| 5.10.1 基本原理 | 137 |
| 5.10.2 仪器和试剂 | 137 |
| 5.10.3 分析步骤 | 137 |
| 5.11 表面疏水性 | 137 |
| 5.11.1 基本原理 ANS 法 (苯胺基萘磺酸盐结合法) | 137 |
| 5.11.2 仪器和试剂 | 137 |
| 5.11.3 分析步骤 | 138 |
| 5.12 体外消化实验 | 138 |
| 5.12.1 基本原理 | 138 |
| 5.12.2 仪器和试剂 | 138 |
| 5.12.3 分析步骤 | 138 |
| 5.13 蛋白质的热力学特征 | 138 |
| 5.13.1 基本原理 | 139 |
| 5.13.2 仪器与试剂 | 139 |
| 5.13.3 分析步骤 | 139 |
| 5.14 灰分测定 | 139 |
| 5.14.1 基本原理 | 139 |
| 5.14.2 仪器 | 139 |
| 5.14.3 分析步骤 | 139 |
| 主要参考文献 | 140 |

稻米蛋白质的组成、结构与性质

我国水稻年播种面积占粮食总种植面积的 30% 左右, 年产量约 1.8 亿~2.0 亿 t, 约占粮食总产量的 40%。我国每年有 1 000 万 t 的米渣、米糠以及米胚等副产品, 其含有丰富的蛋白质, 过去将其作为动物饲料使用, 未能充分合理利用, 造成资源的巨大浪费。随着我国人口的增多, 蛋白资源日益紧缺。因此, 开发利用现有蛋白资源是食品工业的重点研究领域。

我国稻米消费历来以直接食用为主, 国家相关部门公布的 2005 年我国稻米消费结构显示, 直接食用消费占我国稻米总消费量的 85% 左右, 饲料消费占 7%, 而工业消费仅占 1%。随着我国人民生活水平的不断提升, 对优质稻米的需求日益增加, 相反, 低品质稻米如早籼米等由于口感不佳, 近年来已经很少直接食用, 这部分稻米正好可以满足工业应用的要求。据国家粮食局的数据显示, 近年来工业用稻谷保持增长态势, 医药、酒精、调味品行业发展迅速, 导致工业用稻谷的总量增加。随着粮食生产的发展, 稻米资源将相对富足, 工业用稻米的比重将稳步上升。但我国稻米加工水平较低, 产品附加值不高, 在技术上与发达国家有很大的差距。因此, 稻米深加工技术的研究是提高稻米附加值的必然途径。

稻米蛋白质是营养界所公认的优质植物蛋白, 但相比大豆蛋白和小麦蛋白, 对稻米蛋白质的结构和性质的研究远不够深入。事实上, 我国以稻米为主食的人群每人每天消耗稻米在 300g 左右, 摄入的稻米蛋白质为 18.9~32.89g, 占摄入蛋白质量的 41.39%~45.5%, 因此稻米蛋白质占据极其重要的地位。究其原因: 一是人们对稻米蛋白质的摄取主要通过食用稻米所体现; 二是稻米中蛋白质含量较低, 工业上若以稻米作为提取蛋白质的原料, 经济上不合算, 因而研究者较少。

当前, 我国工业用稻米(主要是利用淀粉)数量越来越多, 其副产品为十分宝贵的蛋白资源。稻米蛋白质的主成分谷蛋白因水溶性差, 是稻米蛋白质应用的主要制约因素。对稻米蛋白质的分子组成、结构及其性质的了解是开发利用稻米蛋白质的重要基础, 但目前相关的研究报道尚不多见。

本章综述了稻米蛋白质的组成与结构, 介绍了稻米蛋白质的营养价值与保健功能, 概述了稻米蛋白质的功能性质, 并分析了稻米蛋白质与稻米营养品质、食用品质、加工品质以及储藏性能间的相互关系。

1.1 稻米蛋白质的组成与结构

1.1.1 稻米蛋白质的组成

稻米的主要成分为淀粉和蛋白质，其含量分别约占 80% 和 8%。在稻谷的各个组织部分，蛋白质含量的分布依次为精米 8%、稻壳 3%、糠 17%、碎米 8.5%。对稻谷的籽粒来说，蛋白质分布不均匀，胚与糊粉层中的含量高达 20%~25%，远高于胚乳内的含量，但大部分的蛋白质分布于胚乳，因此胚乳的贮藏蛋白决定稻米蛋白质的主要特点。

稻米蛋白质是稻米中蛋白质的总称，具有广义和狭义之分。广义的稻米蛋白质是指稻谷籽粒中的所有蛋白质，狭义的稻米蛋白质仅指稻谷胚乳之中的蛋白质。按其分布，稻米蛋白质又可分为稻米胚乳蛋白和米糠蛋白两大类。

稻米中的蛋白种类很多，按照 Osborne 的分类方法，以水溶液、盐溶液、酒精溶液以及酸或碱溶液中的溶解特性加以分类，可分为四种类型：

(1) 首先用水提取稻米或米糠中的蛋白质所得到的水溶性蛋白组分称为清蛋白，也称白蛋白 (Albumin)，主要为酶类；

(2) 残渣用稀盐溶液提取，得到的盐溶性蛋白组分为球蛋白 (Globulin)；

(3) 再用 75% 乙醇提取，得到的组分为醇溶蛋白 (Prolamine)；

(4) 最后残渣中蛋白质只能用酸或碱溶解，分别称为酸溶性蛋白和碱溶性蛋白，二者统称为谷蛋白 (Glutelin)。

谷蛋白和醇溶蛋白系贮藏蛋白，主要分布在胚乳中，是稻米中的主要蛋白成分；而清蛋白含量、球蛋白含量极少，主要分布在糊粉层，多为酶活性分子，是稻米中的生理活性蛋白，在稻米发芽早期，它们起着重要的生理作用 (表 1-1)。

表 1-1 稻米蛋白质的组成、分布及含量 (单位: %)

(姚惠源, 2004)

| 稻米各部分 | 蛋白质 | 清蛋白 | 醇溶蛋白 | 谷蛋白 | 球蛋白 |
|-------|------|---------|--------|---------|---------|
| 糙米 | 9.1 | 5~11.6 | 8~13.4 | 1.6~4.8 | 74~83.3 |
| 胚乳 | 7.6 | 2.9~9.9 | 6.6~11 | 1.9~4.2 | 73.6~87 |
| 胚 | 21.6 | 35~45 | 35~40 | 10~15 | 2~5 |
| 米糠 | 14.8 | 34~40 | 33~39 | 19~25 | 3~8 |

上述四类蛋白质在稻米中的含量相差很大，就同一种蛋白质而言，不同稻米品种中的含量也有差异。据报道，稻米胚乳中各类蛋白质含量为：清蛋白 2%~5%、球蛋白 2%~10%、醇溶蛋白 1%~5%、谷蛋白 75%~90%，而米糠中蛋白分布大致为：清蛋白

34%~40%、球蛋白 33%~39%、醇溶蛋白 19%~25%、谷蛋白 3%~8%。

1.1.2 稻米蛋白质的存在状态

稻米中蛋白质的含量因品种、产地、生长发育条件、加工精度等不同而有所不同。一般而言，籼稻的蛋白质含量较粳稻高。稻米中蛋白质分布不均匀，从总量分布上看，从米粒的外层到内层含量呈逐渐降低的趋势；从四类蛋白质的分布来看，清蛋白、球蛋白主要集中在果皮、糊粉层和胚的组织中，比例在其最外层最高，越往中心越低，而占主要的谷蛋白恰好相反，是中心部分含量最高，愈向外层含量愈低；醇溶蛋白则相对分布比较均匀。在水稻种子的脱糙和精制过程中，果皮、大部分糊粉层和胚以及少量的胚乳将被去除，这些组织中的蛋白质也一同被去除。这样，精米中的蛋白质主要以谷蛋白和醇溶蛋白为主。

蛋白质一般存在于淀粉颗粒的外表面或填充在淀粉颗粒之中。淀粉与蛋白质所形成的复合物主要包括直链淀粉和蜡质基因蛋白或者是与颗粒结合在一起的淀粉合成酶。研究发现，不同来源的稻米淀粉结合蛋白的含量相差很大。淀粉颗粒结合了大约 0.7% 的蛋白，主要是蜡质基因蛋白，直链淀粉含量越高，蜡质基因蛋白越多。一般籼米淀粉中结合蛋白的含量要比粳米和糯米淀粉高得多。

稻米胚乳中存在的蛋白质聚集成两类颗粒状的蛋白体 (Protein Body, PB)。据资料报道，早在 1933 年 Santos 就对水稻蛋白体形态作了观察，1967 年 Mitsuda 首次采用电镜研究发育水稻胚乳中蛋白体形态，并采用蔗糖密度梯度离心方法分离得到蛋白体。

Tanaka 等 (1980) 首先采用水-多聚物双相 (APTP) 系统从成熟水稻胚乳淀粉粒中分离出蛋白体，然后，再通过蔗糖密度梯度离心方法分离出两种形态不同蛋白体，即蛋白体-I (PB-I) 和蛋白体-II (PB-II)。通过显微镜可以观察到两类蛋白体的形态：PB-I 聚集体呈片层结构，致密颗粒直径为 0.5~2 μ m，醇溶蛋白存在于 PB-I 中；而 PB-II 呈椭圆形，不分层，质地均匀，颗粒直径约 4 μ m，其外周膜不明显，谷蛋白和球蛋白存在于 PB-II 中。两类聚集体常相伴存在，但数量上 PB-II 多于 PB-I。

Ogawa (1987) 进一步研究证实了两类蛋白体 PB-I 和 PB-II 在密度、形状和蛋白组成上的差异，指出 PB-I 中含有多种蛋白成分，其中含量最大的是 13kDa，其次是 10kDa 和 16kDa 组分，而且其又把 13kDa 组分为 13a 和 13b 两种。Yamagat 和 Tanakak (1986) 对超微结构观察和生化研究表明，PB-I 表面有很多核糖体，而 PB-II 表面却没有，见图 1-1。

PB-II 占总蛋白质的绝大部分，且多为碱溶性的谷蛋白，它不溶于水，单用水磨、水洗等方法不能将其除去。因此，要制造高纯度的稻米淀粉，需要通过碱、表面活性剂甚至酶来除去蛋白质。由于淀粉与蛋白质结合非常紧密，与玉米和大麦淀粉相比，要想制备得到蛋白质含量低于 0.5% 的稻米淀粉比较困难。

两类蛋白体的形状、结构、特性、对蛋白酶抵抗力及其所含蛋白质的种类和多肽链均存在明显差异，见表 1-2。

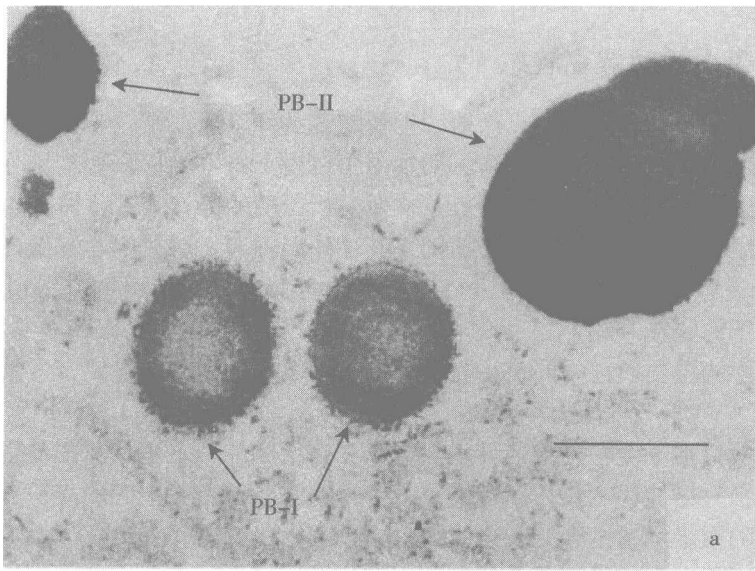


图 1-1 蛋白体 PB- I 和 PB- II 的超微结构图

表 1-2 稻米蛋白质体 PB- I 和 PB- II 的特性

(于泓鹏等, 2004)

| 蛋白体 | PB- I | PB- II |
|----------|------------|------------|
| 形状 | 球形 | 椭圆形 |
| 结构 | 同心片层结构 | 没有片层结构 |
| 性能 | 物理性能强 | 物理性能弱 |
| 易消化性 | 对蛋白酶有较强抵抗力 | 对蛋白酶抵抗力弱 |
| 蛋白质种类 | 醇溶蛋白 | 主要是谷蛋白和球蛋白 |
| 占胚乳蛋白质总量 | 20% | 60% |

由于 PB- I 和 PB- II 在结构成分上的差异, 它们的可消化性也明显不同。采用蛋白酶切显示, PB- I 稳定, 物理性能较强, 对蛋白分解酶有较强的抵抗力, 而 PB- II 物理性能较弱, 易消化吸收, 则易被酶解断裂。对发芽稻米观察表明, 尽管在发芽过程中, 两种蛋白聚集体都发生解体, 但二者的可消化性明显不同。PB- II 因没有致密的硬核更容易被消化水解, 而 PB- I 在发芽后 9d 时仍保持着片层结构。采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分析证明, PB- II 逐渐消失, 不断有新的电泳谱带亦即新的蛋白质组分产生, 而 PB- I 的蛋白组分稳定。说明 PB- I 和 PB- II 两者蛋白质分子在代谢方面是有差异的。对于两种蛋白体的差异, 也许通过两种蛋白体的形成途径能予以合理解释。透射电镜观察到, 两种蛋白体都是在粗糙型内质网 (RER) 上核糖体中合成的。PB- I 由 RER 发育而来, 即 RER 槽库中出现不同程度的球形膨大和环状弯曲, 在其内逐渐均匀积

累絮状蛋白质形成 PB-I, 因此在 PB-I 表面可看到核糖体的存在。而 PB-II 则由液泡发育而来, 蛋白质在 RER 合成后, 转运到小液泡中, 很多小液泡靠近并逐渐转变为 PB-II。

1.1.3 稻米蛋白质分子亚基成分

Sugimoto 等 (1986) 采用梯度和双向 SDS-PAGE 分析 PB-II 中蛋白组分。首先采用蔗糖密度梯度离心方法分离得到 PB-II 蛋白, 然后与十二烷基硫酸钠、尿素、N 乙基马来酰亚胺在磷酸缓冲液中于 90℃ 下保持 8h 以促使蛋白质溶解。样品进行非线性梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳, 结果显示出分子量为 64kDa、140kDa、240kDa、320kDa、380kDa 和 500kDa 蛋白组分; 进一步将这些蛋白组分用巯基乙醇处理后, 进行第二项 SDS-PAGE 电泳, 可看到, 这些大分子量的蛋白质均分解出 22kDa、37kDa 组分。因此, Sugimoto 认为, 在第一向电泳中测得的大分子是由 22kDa、37kDa 亚基构成的。胚乳合成的 57kDa 谷蛋白前体裂解成 2 个亚基后, 在一定条件下重新聚合成 64kDa 蛋白。而 57kDa 和 64kDa 除空间结构不同外, 可能是在 57kDa 基础上经糖基化修饰才形成 64kDa 储藏形式。更大分子量蛋白质再以 64kDa 为基本单位, 经二硫键 (—S—S—) 连接而成。64kDa 以上大分子存在或许可解释谷蛋白不溶于水的原因, 但在此后文献中未看到支持此类现象的报道, 也许这些大分子出现与样品处理时的高温 (90℃) 有关。相反, 更多研究者应用蛋白质拆分和高灵敏分离技术, 从谷蛋白中分离出更多小亚基。

在体外有还原剂或蛋白质变性剂存在时, 谷蛋白也可解离成 α 、 β 两个亚基。Snow 和 Brooks (1989) 采用 6M、8M 尿素和 0.5% SDS 提取谷蛋白并电泳分析显示, 酸性亚基分子量为 31.0~38.9kDa, 碱性亚基分子量为 21.1~23.9kDa, 但仍有少量大于 58kDa 和小于 14kDa 的组分, 并推测这些大组分可能是清蛋白和球蛋白、小组分可能是醇溶蛋白。少量清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白与谷蛋白的共存本身就说明蛋白体的复杂性。采用灵敏的 SDS-PAGE 就可把 α 、 β 再各分成 3 个小亚基。采用等电聚集 (IEF) 结合 SDS-PAGE 技术, 可将 α 亚基分离出 12 条谱带, 它们等电点分布为 6.5~7.5, 分子量范围为 28.5~39kDa, 将 β 亚基分离出 9 条谱带, 其等电点分布为 6.5~7.5, 分子量范围为 28.5~39kDa。

我国曲乐庆 (2001) 采用更为灵敏的 IEF 结合双向 SDS-PAGE 方法, 可区分等电点差异 0.02 个 pH 单位或分子量差异 0.5kDa 的蛋白质。这样, 从谷蛋白中分离出 13 条酸性、14 条碱性蛋白组分, 酸性组分等电点分布为 6.30~7.52, 碱性组分等电点分布为 8.13~9.14, 但这些组分是否源自同一谷蛋白的前体, 目前尚不清楚。 α 、 β 亚基中多肽数量几乎相等, 可能意味着二者之间具有特殊的配对关系。

分子生物学研究表明, 核糖体中合成的谷蛋白实际上是分子量为 57kDa 谷蛋白前体, 在其后转运到液泡并形成 PB-II 的过程中, 该前体被水解成 α 、 β 两个亚基, α 为酸性亚基, 分子量范围 37~39kDa, β 为碱性亚基, 分子量为 22kDa。但在成熟的稻米中, 57kDa 成分并没有完全消失, 在好多电泳结果中均显示该组分存在。碱性亚基的氨基酸序列与豌豆、大豆 11S 球蛋白中序列有近 1/3 同源性, 但稻米蛋白质中该碱性亚基如何转变为水不溶性蛋白质至今仍不清楚。

谷蛋白相对分子量相当大, 超过 $20 \times 10^6 \sim 30 \times 10^6$, 同时显示出很不均匀性, 分子量

从 105 到数百万, 由二硫键连接的几条多肽链构成, 其中 3 个主要亚基的分子量分别为 38kDa、25kDa、16kDa (或 33kDa、22kDa、14kDa), 其中 16kDa (14kDa) 多肽可能属于醇溶蛋白或与醇溶蛋白有关。2 条大分子量的多肽则以二硫键连接。等电聚焦研究表明: 分子量为 33kDa 左右的亚基是酸性多肽, pH5~8; 分子量为 22kDa 左右的亚基是碱性多肽, pH8~11; 分子量为 14kDa 左右的亚基 pH8.7~9.0。Wen 和 Luthe (1985)、Takaiwa 等 (1986) 实验相继证实, 稻米谷蛋白亚基与燕麦、豌豆和大豆盐溶性球蛋白在亚基合成、分子量、氨基酸序列和免疫特性等方面具有一定的同源性。但是这种盐溶性多肽前体的翻译后修饰使得在成熟的亚基中成为盐不溶性的谷蛋白, 造成这种不溶性的主要原因可能是亚基糖基化和亚基间广泛的聚集。大量的遗传学研究表明, 稻米中贮藏蛋白的合成受多基因控制。目前, 已克隆出 9 个谷蛋白基因并测序, 但它们与已报道的谷蛋白组对应关系尚不清楚。可见认识稻米谷蛋白亚基分子特征还需作很多研究工作。

稻米谷蛋白的氨基酸成分类似于其他谷物的谷蛋白。氨基酸分析显示, 与醇溶蛋白相比, 较高的赖氨酸、蛋氨酸、半胱氨酸和组氨酸含量是米谷蛋白的特性。稻米谷蛋白分子内和分子间广泛存在的二硫键以及分子内存在的巯基 (-SH), 这对稻米蛋白质的加工工艺特性具有极其重要的影响。开发利用稻米蛋白质时, 尤其要注意稻米原料陈化、加热和二硫键的氧化、还原以及巯基与二硫键交换对蛋白质性质的影响, 亚基间广泛的二硫键交联必然造成较低的水溶性。

醇溶蛋白是稻米中的小分子贮藏蛋白。电泳分析表明, 醇溶蛋白亚基分子量分别为 10kDa、13kDa、15kDa、16kDa; 等电聚焦分析发现有 5 条谱带, pH 分别为 5.6、7.1、7.3、7.6、8.0, 其中 pH7 时的 13kDa 是主要成分。Kim 等 (1988) 研究认为, 不同水稻品种间 13kDa 基因在核苷酸和氨基酸序列上高度同源, 与 13kDa 亚基相比, 10kDa 和 16kDa 亚基中半胱氨酸、蛋氨酸等含量较高。Horikoshi 等 (1991) 和 Kim 和 Okita (1988) 对醇溶蛋白结构的研究均表明, 醇溶蛋白含相对较高的谷氨酸、亮氨酸和丙氨酸残基, 赖氨酸、半胱氨酸和蛋氨酸残基含量很少。纯化的醇溶蛋白显示出非常强的疏水性, N 末端和 C 末端区域具有一定的亲水性, 但中心区域包括大量的疏水性氨基酸残基, 因此, 其水可提取性较差。

清蛋白和球蛋白是细胞质中的蛋白质, 为代谢活性蛋白。该类蛋白显示了一定的营养价值且容易提取, 但是含量偏低。清蛋白分子量从 10~200kDa, 成分非常复杂。就氨基酸成分而言, 四种蛋白质中清蛋白含有最高的赖氨酸和最低的谷氨酸。清蛋白中也有分子量高达 100kDa 的蛋白组分存在, 但由于清蛋白中胱氨酸含量很低, 不易形成二硫键, 因而清蛋白更容易溶于水。从稻米胚乳中分离的球蛋白经凝胶色谱可分为 4 个组分, 分子量范围 16~130kDa, 谷氨酸和精氨酸是球蛋白中主要的氨基酸成分, 硫氨酸含量也较高, 超过 10%。

将蛋白质提取后对其氨基酸组成分析发现, 稻米中的某些蛋白质并非完全由氨基酸组成的简单蛋白质, 而是含有糖 (鼠李糖) 或脂类成分的结合蛋白。这些非氨基酸成分不仅影响蛋白质的性质, 同时也赋予蛋白质特殊的生理功能。

Chrastil 和 Zarin (1992) 对稻米蛋白质分析表明, 稻米谷蛋白中除氨基酸外还有非氨基酸成分, 他们将纯化后的谷蛋白用三氯乙酸水解, 然后作薄层透析, 发现还有 2% 葡

萄糖的存在，蛋白与葡萄糖结合非常牢固，先用尿素-巯基乙醇处理、再用硫酸铵沉淀也无法将两者分开。次糖链结构主要是乙酰-N-半乳糖 β -1,3半乳糖结构。进一步研究发现，在稻米蛋白质中有50多种非氨基酸成分与其共存，其中包括具有抗乳腺癌作用的三萜烯醇、多种阿魏酸和脂肪酸等。

1.1.4 陈化、热加工和干燥方法对稻米蛋白质的影响

1.1.4.1 陈化过程中稻米蛋白质的变化

稻米耐储藏性差，常温储藏半年、高温下储藏几个月就会产生陈化现象。新米经储藏后，其食味品质逐渐变劣，无疑是它的物理、化学性质一直在发生变化的缘故，其中收获后的3~4个月之内变化更为显著，以后变化渐趋缓慢。稻米陈化的突出特征就是质构特性明显劣变，主要表现为米饭的黏度减小，硬度增加，而米饭的质构特性被认为是稻米食用品质中最重要的因素。

大量的研究表明，稻米中的蛋白质种类并非固定不变的。在稻米陈化过程中，虽然总蛋白质含量没有变化，但其结构和类型会发生变化，进而影响了米饭的流变特性，最突出的变化是二硫键的数量增多，蛋白质分子量增大，蛋白聚集体变得更加致密，蒸煮之后蛋白质与淀粉的网络结构致密，限制了淀粉粒的吸水膨胀和柔润，因而米饭的黏性下降而硬度增加。此时若加入适量的还原剂破坏二硫键，则米饭的黏性会提高。

Fedorov (1982), Hamaker 和 Griffin (1990) 研究表明，稻米在储藏过程中总蛋白质含量没有变化或者基本保持不变，蛋白质的物化特性则会发生变化。Chrastil 和 Zarins (1992) 研究表明，稻米在储藏过程中，稻米谷蛋白的巯基含量减少，二硫键键含量增多，相对分子量增大，蛋白质碱提取率降低。Hamaker 和 Griffin (1993) 研究报道，蒸煮稻米时加还原剂能显著提高蒸煮稻米的黏度；当向米粉中加蛋白酶后，Brabender 黏度下降。这说明蛋白质的结构特性不仅对稻米质构有影响，同时对淀粉的糊化特性也有影响。

Chrastil (1990) 研究表明，新米和陈米谷蛋白均含有13个SDS-PAGE谱带，分子量分布从12.3~202kDa不等，但在4℃下储藏12个月陈米中，分子量为56kDa以下各蛋白组分含量降低，而79kDa以上组分含量增加，尤其是202kDa组分由储藏前5%增加到8%，增幅达60%。

任顺成和王素雅 (2001) 采用SDS-PAGE方法研究也发现，稻米陈化后，不仅各蛋白组分含量发生变化，还有更高分子量的新组分出现。分子量为22.0~24.0kDa和58.2~62.1kDa组分含量普遍降低，而38.0~43.3kDa组分含量有所提高，77.1kDa以上的组分含量则明显提高，并认为38.0~43.3kDa组分含量的增加主要是因12.0~24.0kDa组分聚合造成的。超速离心沉降和黏度分析表明，储藏之后蛋白质沉降系数和平均分子量明显增大，黏度下降50%以上，这也说明蛋白质分子结构发生了很大变化。

蛋白质分子中巯基是最容易氧化的基团之一。对谷蛋白中巯基和二硫键含量分析发现，储藏前后巯基含量由0.20%降到0.13%，而二硫键含量则由0.13%增加到0.20%；与此同时，陈化米中谷蛋白可提取率也下降。当然，不同品种稻米上述指标的变化幅度有一定的区别。由此可见，陈化过程中高分子量蛋白质形成主要是通过蛋白分子中巯基氧化

成二硫键使蛋白分子交联聚合结果。

关于稻米储藏过程中，稻米的吸水率、蛋白质的碱提取率以及稻米的四类蛋白质中的二硫键与巯基比值与稻米黏度与硬度的相关性研究很少。为了解稻米陈化过程对蒸煮米流变学特性的影响，任顺成和周瑞芳（2001）研究了稻米储藏前后蛋白质及米的质构特性，并分析了其相关性，结果表明：稻米经储藏后，蛋白质的碱提取率降低；巯基含量减少，二硫键含量增多；蒸煮米的黏度下降，硬度和吸水率增加；蛋白质荧光强度增强，蛋白质碱提取率、清蛋白和球蛋白的二硫键与巯基比值分别与稻米质构特性呈极显著正相关、显著负相关和较好的负相关。

Teo（2000）试验也证明稻米中蛋白质的变化是导致稻米流变学性质变化的重要因素。这些试验都说明二硫键对蛋白质性质的重要性。

1.1.4.2 热加工过程中稻米蛋白质的变化

稻米蛋白质不仅在陈化中有更大分子的形成，在加热时也有明显的蛋白分子的聚合。Mujoo 等（1998）指出，爆炒稻米花时，分子量为 24kDa、34kDa、68kDa 的分子可以聚集成 4×10^4 kDa 的特大聚合体，但分子量为 13~16kDa 的醇溶蛋白不参与这种蛋白体的形成，进一步说明蛋白质的分子组成影响着它的性质。与此过程相反，Morita（1993）从经过 97℃ 高温液化处理 2h 稻米中分离提取蛋白质作 SDS-PAGE 分析，并与未经加热稻米粉中蛋白质比较，二者所含均为 57kDa、37kDa、22kDa 谷蛋白和 13kDa 醇溶蛋白，即加热处理并未引发形成更大蛋白聚合体。可见，在加工过程中稻米蛋白质分子变化特征仍有待于进一步研究。

王章存和刘卫东（2007）为探讨热变性米蛋白的性质与结构关系，分析了稻米蛋白质加热前后的溶解性能和氨基酸组成变化。结果表明：米渣中各种蛋白质的含量大大低于未受高温处理的原料稻米；米渣蛋白中胱氨酸含量比稻米谷蛋白提高 83%，说明稻米醇溶蛋白、球蛋白和清蛋白等受热后也存在于米渣中；米渣谷蛋白胱氨酸含量比米渣蛋白降低 23%，说明胱氨酸是影响米渣蛋白溶解的重要因素。

1.1.4.3 挤压过程中稻米蛋白质的变化

蛋白质是由 20 种氨基酸结合而成的高分子化合物，也是原料的主要组分，对富含蛋白质的原料进行挤压加工时，蛋白质亦会发生复杂的变化。

含蛋白质的食品原料在挤压机内受到高温、高压、高剪切力的综合作用，蛋白质的三级和四级结构的结合力变弱，蛋白质分子结构伸展、重组，表面电荷重新分布趋向均匀化，分子间氢键、二硫键等部分断裂，最终导致蛋白质变性。Mercier 和 Feillet（1975）研究发现，挤压系统参数对蛋白质的变性具有重要影响。挤压机套筒温度越低，物料水分含量越大，螺杆转速越高，蛋白质变性程度越低，挤出产品的溶解性好；相反，挤压温度高，蛋白质的变性程度大，组织化程度好。蛋白质经挤压变性后，原先封闭在分子内的疏水性的氨基酸残基暴露在外，使挤压蛋白在水合体系中的溶解性降低，蛋白质的分散指数值（Protein dispersion index, PDI）下降。挤压物料中的其他组分对挤压蛋白的 PDI 值也有影响。若有大量淀粉存在时，糊化的淀粉会与蛋白质发生结合，从而影响 PDI 指数的

测定。另外，在挤压机腔体内，变性的蛋白质分子也可彼此之间发生二硫键和疏水键键合，产生组织化作用。

温和的挤压条件可以引起蛋白质适度变性，增加蛋白质对蛋白酶的敏感性，从而提高其消化率；但在剧烈条件下，氨基酸与原料中的一些还原糖或其他巯基化合物发生反应，造成氨基酸损失，特别是赖氨酸的损失较大，引起蛋白质的生物学效价和消化率下降。适当改变挤压工艺条件，如降低原料中葡萄糖、乳糖等还原糖的含量，提高原料水分含量，可有效地减少美拉德反应，提高蛋白质的消化率。

不同条件下挤压膨化加工的玉米、小麦、黑麦、高粱等 8 种谷物进行实验，结果表明：原料水分含量 15%，挤压温度 150℃，螺杆转速 100r/min 的条件下，挤压产品的蛋白质生物学效价相比未处理原料得到了显著提高。一般情况下，物料经挤压后蛋白质（总氮）含量下降，但氨基酸并不是按比例降低的，有些氨基酸损失多，而有些氨基酸损失少。采用双螺杆挤压机研究了挤压过程中蛋白质的变化，分析表明：赖氨酸损失程度的大小，在很大程度上取决于加工温度和物料水分含量。在温和的条件下加工（170℃、水分 13%），赖氨酸损失为 13%；在最剧烈的条件下（210℃、水分 13%），赖氨酸损失 37%，蛋氨酸、精氨酸和胱氨酸损失分别为 28%、21%、17%；但是在剧烈条件下（210℃），水分含量增加到 18% 时，赖氨酸的损失为 28%，表明水分含量对于赖氨酸的保留有显著的影响，而其余氨基酸在挤压过程中变化不大。

1.1.4.4 干燥方法对稻米蛋白质的影响

蛋白质的功能性质是指其能应用于最终产品的物理化学性质，它依赖于蛋白质的分子大小和结构以及与其他成分（碳水化合物、脂肪等）的相互作用。在蛋白质提取以及后处理的过程中，许多环节都会影响蛋白质的理化性质，导致其功能性质的变化。

王文高等（2002a）对不同的干燥方法对稻米分离蛋白功能性质的影响进行了研究，结果表明：冷冻干燥所得蛋白产品的功能性质要优于喷雾干燥所得的蛋白产品。采用差示扫描量热法分析了蛋白质的变性情况，相对于喷雾干燥，冷冻干燥所得产品的变性程度小。

1.2 稻米蛋白质的表面疏水性和热力学性质

1.2.1 稻米蛋白质的表面疏水性

许多研究表明，疏水性特别是表面或有效疏水性对理解蛋白的功能性至关重要。疏水性指溶质对水所处的环境具有很少或没有亲和力。对蛋白疏水性的兴趣很早就放在它对稳定天然蛋白质的结构和分子折叠的机制上。为使折叠分子的自由能最少，非极性或疏水性基团应该被限制在折叠分子内部，不暴露在外与溶质分子接触。对蛋白分子的三维结构分析发现，有部分疏水性基团暴露在分子表面。这部分疏水基团片段在分子间相互作用方面扮演了关键角色。例如结合配位体或连接其他的大分子，包括蛋白-蛋白或蛋白-脂肪的相互作用。蛋白质疏水性的另一个重要方面是它在蛋白质功能性质方面的重要作用，特别是定量结构的活性关系。由于功能性质依赖于蛋白质分子间的相互作用及与食品体系中其他