

磷酸盐存在时食品大分子的干燥加热磷酸化及其多功能化研究进展

殷春雁¹, 赵宇婷², 刘自单¹, 李灿鹏^{2,*}

(1.红河卫生职业学院, 云南 红河 661199; 2. 云南大学 化学科学与工程学院, 云南 昆明 650091)

摘要:在简要介绍食品大分子的重要功能特性和各种改性方法的基础上, 重点综述干燥加热磷酸化法对食品大分子理化性质、分子结构和功能特性的影响, 并对干燥加热磷酸化法在食品大分子改良方面的开发和应用提出新的展望。

关键词:食品大分子; 干燥加热; 磷酸化; 多功能化

Dry-heating and Phosphorylation of Macromolecules of Foods for the Research of Their Functional Variations: A Review

YIN Chun-yan¹, ZHAO Yu-ting², LIU Zi-dan¹, LI Can-peng^{2,*}

(1. Honghe Health Vocational College, Honghe 661199, Yunnan, China; 2. School of Chemistry Science and Technology, Yunnan University, Kunming 650091, Yunnan, China)

Abstract: After a brief introduction of the important functional properties of food macromolecules, this review focused on the effects of dry-heating phosphorylation on the physical and chemical properties, molecular structure and functional properties of food macromolecules. A new prospect for the development and application of dry heating phosphorylation in food macromolecules was proposed.

Key words: food macromolecules; dry-heating; phosphorylation; multi-functionalization

引文格式:

殷春雁, 赵宇婷, 刘自单, 等. 磷酸盐存在时食品大分子的干燥加热磷酸化及其多功能化研究进展[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(18): 208-212

YIN Chunyan, ZHAO Yuting, LIU Zidan, et al. Dry-heating and Phosphorylation of Macromolecules of Foods for the Research of Their Functional Variations: A Review[J]. Food Research and Development, 2020, 41(18): 208-212

食品大分子的功能特性如凝胶性、起泡性、持水性、乳化性等, 在食品工业中发挥着非常重要的作用。一直以来, 食品化学家们为改善食品的功能特性, 通常对食品蛋白质或多糖等大分子进行改性^[1]。食品大分子的改性是一种研究其结构与功能特性的关系(即构-效关系)的有效方法, 这些方法包括物理改性、化

学改性和酶法改性等^[2]。物理改性法包括干燥加热、高压处理和 γ -射线照射处理等; 酶法改性通常是蛋白酶的有限水解, 改性的程度与酶的量、底物浓度、水解的因素等相关^[3]; 化学改性法包括: 去酰胺、共价交联、酰化、羰基化、磷酸化、糖基化、水解及氧化等, 主要是对残基上的氨基、羟基、巯基或羧基等基团进行修饰, 而这些修饰的本质是通过改变食品大分子的结构、构象、静电荷、氢键、疏水作用力等, 来改善其乳化性、起泡性、热稳定性、溶解性、凝胶特性、保水性等加工特性^[4]。同时有些基团的引入还可以赋予食品高分子本身没有的一些生理功能特性, 如免疫调节, 促进钙的吸收等特性^[5]。

基金项目: 云南省自然科学基金食品安全重大专项(2018BC005); 云南省教育厅科学研究基金(2018JS695)

作者简介: 殷春雁(1987—), 女(汉), 讲师, 硕士, 研究方向: 功能性食品的研究。

* 通信作者: 李灿鹏(1974—), 男, 教授, 博士, 研究方向: 电化学/荧光传感器、食品安全与检测、功能性食品等。

在上述的改性方法中,有些方法的改性产物虽然不能用于食品加工配料,但是这些研究可以为食品高分子的深度开发和利用提供有益的思路。从应用的角度出发,如果一个改性方法具备简单、易行、安全和廉价等特点,那将有利于其在食品工业中的应用。干燥加热技术是食品工业中广泛应用的技术之一,其以安全、简单、高效和低成本等优点著称。近年来,利用干燥加热技术对食品蛋白或淀粉等食品大分子进行修饰,以期获得功能特性得以改善的产品是该领域研究的热点之一。

1 食品大分子的重要功能特性及磷酸化作用改性

1.1 食品大分子的重要功能特性

1.1.1 乳化性

一般认为蛋白质乳状液体系的稳定与界面张力成反向关系,而与蛋白质的疏水性成正向关系^[6]。糖基化反应使蛋白质内部疏水基团暴露,疏水基团在水-油界面发生变性从而溶解在油滴中,多糖部分亲水性强,则溶解于水中,从而维持蛋白质乳状液体系的稳定^[7]。另外,硒酸化或磷酸化修饰也能很好地改善食品蛋白的乳化性和乳状液体系的稳定性^[8]。

1.1.2 凝胶性

蛋白质分子经适度变性处理,分子发生聚集而形成网状结构,从而产生蛋白质凝胶^[6]。蛋白质分子聚集形成的三维网状结构使食品具有良好的质地。例如:肉类食品的质地、保水、黏结和稳定脂肪等特性都受到蛋白质分子聚集形成的三维网状结构的影响。蛋白质分子聚集形成的三维网状结构还能对另一些食品如豆腐、酸乳等的品质形成产生直接影响^[6]。研究证明磷酸化改性能有效提高蛋清蛋白的凝胶性和凝胶稳定性^[8]。

1.1.3 起泡性

泡沫通常是指气体在连续液相或半固相中分散形成的分散体系,典型的泡沫食品如冰淇淋、啤酒、奶油等^[6]。在稳定的泡沫体系中,由弹性的薄层连续相将各个气泡分开,气泡的直径从1 cm到几厘米不等。蛋白质的发泡能力受到疏水性、肽链的柔软性和溶解性等因素的影响。蛋白质的流变学性质决定泡沫稳定性^[6]。蛋清蛋白干燥加热或干燥加热磷酸化之后,起泡性明显增加^[8]。

1.2 食品大分子的磷酸化作用改性

无机磷酸和蛋白质分子中特定的氮原子或氧原子发生酯化反应,从而使蛋白质被磷酸化。一些化学方法、酶法和糖基化法可以用于蛋白质的磷酸化改性^[2]。

它们各有优缺点:(1)化学磷酸化法:采用一些含有磷酸基的试剂,例如三聚磷酸钠、磷酸和磷酰氯等作为磷酸化试剂。该法的优点:磷酸化试剂一般价格低、效率高,功能特性(如乳化性、凝胶性和起泡性等)改善比较明显,很容易实现规模化生产等优点从而广泛应用于工业。但是,该方法具有反应比较剧烈、副反应产物较多、容易使蛋白质变性并且化学试剂难以除去等缺点使其在食品工业中有一定的局限性^[9-11]。(2)蛋白激酶:如酪蛋白激酶Ⅱ和依赖于环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate,cAMP)激活的蛋白激酶。该方法的优点:反应条件较为温和、副反应较少、反应位点的高度专一性、反应过程中能量和营养价值没有损失。但是,该方法机理非常复杂、能够使蛋白质磷酸化的蛋白激酶种类较少和能被磷酸化的氨基酸系列有限等缺点使该方法很难实现工业化^[12-16]。(3)采用含有磷酸基的还原糖如葡萄糖-1-磷酸和葡萄糖-6-磷酸等和蛋白质发生美拉德反应,从而使食品蛋白磷酸化。美拉德反应过程复杂,同时该方法副产物非常多,很容易发生褐变,这是很难克服的难题^[17-20]。

2 食品大分子的干燥加热磷酸化法改性

为避免以上磷酸化法的缺点,前人一直致力于开发出一种简单、有效且经济的食品蛋白磷酸化改性方法。Taillar等^[21]在1994年研究了在干燥加热的条件下,磷酸盐能使蛋白质及糖蛋白、氨基酸以及糖的羟基磷酸化,其反应为:



研究表明如果适当改变磷酸盐和蛋白质及多糖等反应的条件,例如pH值、反应温度、磷酸盐浓度和干燥加热等,蛋白质及多糖的功能特性有望得到改善。基于上述这些结果,Li等^[19-20]采用不同磷酸化试剂对干燥加热磷酸化做了对比性研究,结果表明,焦磷酸作为磷酸化试剂具有以下优点:反应条件较为温和、副反应少、磷酸化试剂容易除去。同时,他们研究了蛋清分离蛋白和乳球蛋白:在糖基化的基础上再进行干燥加热磷酸化,结果改善了食品蛋白的热稳定性、磷酸钙可溶能力和凝胶性等功能特性。

2.1 干燥加热磷酸化及其机理

为了比较不同食品蛋白质磷酸化程度,研究报道了将蛋清蛋白(egg white proteins,EWP),乳清分离蛋白(whey protein isolate,WPI)和酪蛋白(casein,CN)进行磷酸化,见表1。结果表明,EWP比WPI和CN容易被磷酸化,相对于正磷酸盐来说,焦磷酸盐存在时各种蛋白质更容易被磷酸化^[22-23]。

表 1 磷酸化对食品蛋白功能特性的改善

Table 1 Improvement of functional properties and physiological functions (*in vitro*) of proteins by phosphorylation

改善的功能特性	磷酸化蛋白	参考文献
热引导不溶性的抑制	EWP; Otf; OVA; BSA; β -Lg	[8, 24–25]
热稳定性的增加	BSA; β -Lg; WPI; EWP; Otf; OVA; WSP	[8, 19, 22, 24, 26–28]
起泡性	EWP; WSP; Otf	[25, 27, 29]
乳化性	EWP; Otf; OVA; WSP	[8, 25, 27]
吸油性	WSP	[27]
凝胶特性	EWP; BSA; WPI	[8, 19, 25]
胶体的保水性	EWP; BSA; WPI	[8, 19, 25]
被消化性	EWP	[8]
磷酸钙可溶性	EWP; Otf; OVA; BSA β -Lg; WPI	[8, 14, 19, 22, 25–26]
免疫源性	OVA BSA; β -Lg	[19, 24, 30]
抗炎性	α -La	[30]

注: EWP 为蛋清蛋白; BSA 为牛血清蛋白; β -Lg 为 β -乳球蛋白; WPI 为乳清分离蛋白; Otf 为卵转铁蛋白; OVA 为卵白蛋白; α -La 为 α -乳清蛋白; WSP 为大豆上清蛋白。

在干燥加热条件下用焦磷酸盐对蛋清蛋白(EWP)进行磷酸化处理, pH 3~7 时, 食品蛋白质的磷酸化程度随溶液 pH 值增加而减小, 而随加热时间及加热温度的增加而增大。用焦磷酸盐对 EWP 进行磷酸化, EWP 的最佳磷酸化条件为: pH4.0, 加热温度为 85 ℃, 反应时间为 5 d。此条件下测定其磷含量达到 0.97 %, 高于典型的磷蛋白—牛酪蛋白的磷含量(0.80 %)。表明蛋白质中磷的导入可能会影响食品的功能特性^[8, 23]。另外, 在磷酸盐存在和干燥加热的条件下, 还成功地把可溶性淀粉进行了磷酸化^[31]。在此基础上, 进一步优化干燥加热磷酸化反应的机理: 磷酸盐存在时食品蛋白的干燥加热磷酸化发生在羟基和磷酸的羟基之间, 此时, 磷酸缓冲液中的 $\text{H}_2\text{PO}_3^{2-}$ 如果较多, 则会促进反应的发生。而根据磷酸的电离式, 该离子在 pH 2~3 时最多, 因此在该 pH 值的条件下会促进反应的发生。同时, 反应温度和时间的延长会促进磷酸化的进行。

2.2 食品大分子磷酸化修饰以后的理化性质的改变

对蛋清蛋白和乳清分离蛋白进行未变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(nondenaturing-polyacrylamide gel electrophoresis, Native-PAGE)检测, 结果显示, 磷酸化修饰能使蛋白的移动速度加快, 表明磷酸化修饰增加了蛋白质的负电荷, 证明磷酸基与蛋白质是通过共价键的方式结合^[32]。同时用核磁共振磷谱(³¹P nuclear magnetic resonance, ³¹P NMR)检测了磷酸化蛋白中导入的磷酸基类型, 试验结果表明蛋白质分子中成功导

入了正磷酸和焦磷酸^[20]。高效液相色谱(high-performance liquid chromatography, HPLC)和十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)结果表明在干燥加热以后食品蛋白部分聚合, 但磷酸化修饰并未影响到蛋白质分子的聚合, 此外, 磷酸化修饰能提高蛋白质的被消化率^[8]。这一结果暗示可能是磷酸化修饰使蛋白质分子结构更加疏松, 所以其消化率也有显著提升。食品蛋白质磷酸化修饰前后的疏水性研究结果^[26]也表明, 各种食品蛋白的表面疏水性随着磷酸化修饰程度的增加而增大, 这与磷酸化后蛋白质的被消化性增大是一致的。

2.3 磷酸化对食品大分子功能特性的改善

食品蛋白、淀粉等食品大分子在食品加工中有广泛应用, 食品大分子在被磷酸化后, 乳化活性和乳液液稳定性及热稳定性都能得到大大改善(表 1)。例如, pH 值=7.0 时, 1 mg/mL 的磷酸化 EWP 在 100 ℃ 的温度下加热 10 min, 蛋白质并未发生沉淀。非常有意义的是, 磷酸修饰使蛋白胶体变得透明, 表明磷酸化修饰使蛋白胶体的网络结构变得更规则, 使开发透明的热诱导蛋白胶体成为可能。

研究磷酸化蛋白质对磷酸钙溶解性的影响, 结果显示: 未磷酸化的蛋白几乎不具备磷酸钙可溶能力, 但是, 磷酸化后蛋白质被赋予了很好的磷酸钙可溶能力^[5]。这一结果表明磷酸化修饰的蛋白质溶液具有溶解磷酸钙的功能特性, 使食品蛋白质被开发为促进钙和磷吸收的保健品成为可能。另外, 通过 X-衍射的结果表明: 磷酸化淀粉-钙、磷复合物中钙和磷不是以磷酸钙晶体的形态存在, 而是以无定型的形态存在^[5], 表明这种复合物中钙的存在形式有利于吸收。总之, 干燥加热磷酸化蛋白的乳化性、热稳定性、凝胶形成性及磷酸钙可溶性等功能都得到明显改善, 有望开发为具有特定功能的食品。

2.4 磷酸化对食品蛋白结构的影响

用差示扫描热仪(differential scanning calorimetry, DSC)和圆二色谱(circular, CD)测定磷酸化修饰对蛋白质结构的影响^[26]。DSC 测定结果显示, 磷酸化修饰的食品蛋白变性温度降低。暗示磷酸化修饰的蛋白可能处于一种“可熔化的部分变性”状态。CD 测定结果显示, 蛋白质的三级结构受磷酸化的影响比较明显, 而食品蛋白质的二级结构受磷酸化的影响并不明显。Sitohy 等^[39]报道了 β -乳球蛋白的二级结构在化学磷酸化条件下被破坏, 但是干燥加热磷酸化修饰的 β -乳球蛋白的二级结构几乎没有发生改变。这些结果表明食品

蛋白的空间结构受干燥加热磷酸化修饰的影响较小。

2.5 磷酸化位点的解析

为了阐明磷酸化蛋白中的磷酸基位点,用胰蛋白酶水解磷酸化卵白蛋白和溶菌酶,并用铁离子亲和柱

富集磷酸化肽,最后用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)测定所富集磷酸化肽的分子量,见表 2^[20]。

表 2 磷酸化卵白蛋白和溶菌酶中可能被磷酸化的肽的片段及位点

Table 2 The possible phosphorylation site of tryptic peptides from PP-Lz and PP-OVA identified by MALDI-TOF-MS after IMAC

理论分子量(天然磷酸化肽片段)	氨基酸序列	测定分子量(m/z)		
		天然磷酸化肽片段	磷酸化肽	磷酸基的数目
PP-Lz				
2 337.14	⁷⁴ NLCNIPCS <u>ALLSSDIT</u> ASVNCAR ⁹⁶	2 340.46	2 419.30	1
1 753.84	⁴⁶ NTDGS <u>TDY</u> GILQINSR ⁶¹	1 758.32	1 838.00	1
1 676.78	⁹⁸ IVSDGDGMNAWVAWR ¹¹²	1 680.47	1 759.49	1
1 428.65	³⁴ FESNFNTQATNR ⁴⁵	1 432.29	1 513.24	1
1 045.54	¹¹⁷ CTDVQAWIR ¹²⁵	1 046.02	1 285.24	3
874.42	¹⁵ HGLDNYR ²¹	877.70	1 039.03	2
517.27	⁶⁹ TPGS <u>R</u> ⁷³	519.96	683.40	2
PP-OVA				
2 374.15	⁶² LPFGGDS ^① IEAQCGTSVNVHSSLR ⁸⁴	2 373.23	2 454.00	1
2 284.15	²⁰⁰ VTEQESKPVQMMYQIGLFR ²¹⁸	2 284.74	2 440.61	2
2 281.18	⁸⁵ DILNQITKPNVDVYFSLSAR ¹⁰⁴	--	2 361.00	1
2 008.95	³⁴⁰ EVVGS ^② AEAGVDAASVSEEFR ³⁵⁹	2 007.48	2 088.47	1
1 858.97	¹⁴³ ELINSWVESQTNQIR ¹⁵⁸	1 859.65	1 939.56	1
1 687.84	¹²⁷ GGLEPINFQTAADQAR ¹⁴²	1 688.01	1 767.30	1
1 465.78	¹¹¹ YPILPEYLQCVK ¹²²	1 465.75	1 625.46	2
822.40	²¹⁹ VASMASEK ²²⁶	--	985.53	2
580.31	¹²³ ELYR ¹²⁶	580.00	659.28	1

注:氨基酸序列中下划线标出有可能被磷酸化的氨基;①天然磷酸化丝氨酸⁶⁸Ser;②天然磷酸化丝氨酸³⁴⁴Ser。

如表2所示,一些可能被磷酸化的肽已经被成功地鉴定,同时证明除正磷酸之外,焦磷酸或三磷酸也有可能被引入蛋白质中。该结果表明正磷酸化的蛋白有可能进一步被磷酸化。该研究是首次对合成的磷酸化蛋白进行鉴定。

3 展望

改善食品大分子的功能特性,进一步扩大食品大分子在食品工业中的应用,一直是食品科学研究的热点。为了寻找一种安全、有效且经济的磷酸化方法,食品化学家们一直致力于干燥加热磷酸化对食品大分子功能影响的研究。试验证明该方法有以下优点:(1)安全可靠。在整个试验过程中,所使用的试剂对人体无毒害,这一点在食品开发领域非常重要。(2)能较大程度提高食品大分子的乳化特性、热稳定性及凝胶特性,还能赋予食品大分子磷酸钙可溶性等特殊功能。这些结果都说明干燥加热磷酸化法有望成为开发

功能食品的新方法。(3)食品大分子结构几乎不受影响。研究结果显示干燥加热磷酸化修饰几乎不会造成食品蛋白质分子中氨基酸的损失。今后,磷酸化修饰赋予食品大分子新的功能,如促进钙吸收、免疫调节等方面的研究将会成为一个热点领域。

参考文献:

[1] Feeney R E, Whitaker J R. Chemical Modification of Proteins: An Overview[J]. Advances in Chemistry,1982, 198:402-404

[2] 莫文敏, 曾庆孝. 蛋白质改性研究进展[J]. 食品科学, 2000(6): 6-10

[3] 涂宗财, 豆玉新, 刘成梅,等. 动态超高压均质对蛋清蛋白溶液的起泡性,成膜性的影响[J]. 食品工业科技, 2008, 29 (6): 77-81

[4] 殷春雁. 基于磷酸化修饰的蛋清蛋白与茶多酚的相互作用及其复合物的抗氧化性研究[D].昆明:云南大学,2014

[5] Huang R, Li C P, Chen D Y,et al. Preparation of phosphorylated starch by dry-heating in the presence of pyrophosphate and its calcium-phosphate solubilizing ability[J]. Journal of Food Science and Technology,2013, 50: 561-566

- [6] 阚建全.食品化学[M]. 2版. 北京:中国农业大学出版社,2008
- [7] Kato A, Minaki K, Kobayashi K. Improvement of emulsifying properties of egg white proteins by the attachment of polysaccharide through maillard reaction in a dry state [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, 41: 540–543
- [8] Li C P, Ibrahim H R, Sugimoto Y, et al. Improvement of functional properties of egg white protein through phosphorylation by dry-heating in the presence of pyrophosphate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 5752–5758
- [9] Matheis G. Phosphorylation of food proteins with phosphorus oxy-chloride—improvement of functional and nutritional properties: A review[J]. Food Chemistry, 1991, 39: 13–26
- [10] Andreeva A V, Kutuzov M A. Protozoan protein tyrosine phosphatases[J]. International Journal for Parasitology, 2008, 38:1279–1295
- [11] Zhang K S, Li Y Y, Ren Y X. Research on the phosphorylation of soy protein isolate with sodium tripoly phosphate[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 79: 1233–1237
- [12] Krupa A, Preethi G, Srinivasan N. Structural modes of stabilization of permissive phosphorylation sites in protein kinases: distinct strategies in Ser/Thr and Tyr kinases[J]. Journal of Molecular Biology, 2004, 339: 1025–1039
- [13] Hui M, Tenenbaum H C. New face of an old enzyme: alkaline phosphatase may contribute to human tissue aging by inducing hardening and calcification[J]. The Anatomical Record, 1998, 253: 91–94
- [14] Ross J F, Bhatnagar D. Enzymatic phosphorylation of soybean protein[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1989, 37: 841–844
- [15] Campbell N F, Shih F F, Hamada J S, et al. Effect of limited proteolysis on the enzymatic phosphorylation of soy protein[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44: 759–762
- [16] Underwood K R, Tong J, Zhu M J, et al. Relationship between kinase phosphorylation, muscle fiber typing, and glycogen accumulation in longissimus muscle of beef cattle with high and low intramuscular fat[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55: 9698–9703
- [17] Aoki T, Fukumoto T, Kinura T, et al. Whey protein—and egg white protein—glucose 6-phosphate conjugates with calcium phosphate—solubilizing properties[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1994, 58: 1727–1728
- [18] Mieskes G, Siiling H D. On the G-phosphofructo-I-kinase phosphatase activity of protein phosphatase 2C and its dimeric nature[J]. Febs Letters, 1985, 181: 7–11
- [19] Li C P, Enomoto H, Ohki S, et al. Improvement of functional properties of whey protein isolate through glycation and phosphorylation by dry-heating[J]. Journal of Dairy Science, 2005, 88: 4137–4145
- [20] Enomoto H, Li C P, Morizane K, et al. Glycation and phosphorylation of β -lactoglobulin by dry-heating: effect on protein structure and some properties [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55: 2392–2398
- [21] Taillar E, Wheeler S F. Drying from phosphate-buffered solutions can result in the phosphorylation of primary and secondary alcohol groups of saccharides, hydroxylated amino acids, proteins, and glycoproteins[J]. Analytical Biochemistry, 1994, 222:196–201
- [22] Li C P, Salvador A S, Ibrahim H R, et al. Phosphorylation of egg white proteins by dry-heating in the presence of phosphate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51:6808–6815
- [23] Li C P, Enomoto H, Hayashi Y, et al. Recent advances in phosphorylation of food protein: A review[J]. LWT—Food Science and Technology, 2010, 43:1295–1300
- [24] Enomoto H, Li C P, Morizane K, et al. Improvement of functional properties of bovine serum albumin through phosphorylation by dry-heating in the presence of pyrophosphate[J]. Journal of Food Science, 2008, 73: 84–91
- [25] Hayashi Y, Li C P, Enomoto H, et al. Improvement of functional properties of ovotransferrin by phosphorylation through dry-heating in the presence of pyrophosphate[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2008, 21: 596–602
- [26] Li C P, Hayashi Y, Shinohara H, et al. Phosphorylation of ovalbumin by dry-heating in the presence of pyrophosphate: effect on protein structure and some properties [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53: 4962–4967
- [27] Li C P, Chen D Y, Peng J, et al. Improvement of functional properties of whey soy protein by phosphorylation by dry-heating in the presence of pyrophosphate[J]. LWT—Food Science and Technology, 2010, 43:919–925
- [28] Enomoto H, Ishimaru T, Li C P, et al. Phosphorylation of ovalbumin by dry-heating in the presence of pyrophosphate: Effect of carbohydrate chain on the phosphorylation level and heat stability[J]. Food Chemistry, 2010, 122: 526–532
- [29] Hayashi Y, Nagano S, Enomoto H, et al. Improvement of foaming property of egg white protein by phosphorylation through dry-heating in the presence of pyrophosphate[J]. Journal of Food Science, 2009, 74: 68–72
- [30] Enomoto H, Hayashi Y, Li C P, et al. Glycation and phosphorylation of α -lactalbumin by dry heating: effect on protein structure and physiological functions [J]. Journal of Dairy Science, 2009, 92: 3057–3068
- [31] 陈德义. 食品多糖、大豆上清蛋白的磷酸化及其多功能化研究[D].昆明:云南大学,2011
- [32] 李灿鹏, 林葉子, 榎元廣文, 等. リン酸塩存在下での乾燥加熱による食品タンパク質のリン酸化、多機能化[J]. New Food Industry, 2006, 48: 29–36
- [33] Sitohy M, Chobert J M, Haertle T. Phosphorylation of β -lactoglobulin under mild conditions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43:59–62