

巴氏杀菌鸡蛋清液磷酸化改性及性质研究

Study on phosphorylated modification and properties of pasteurized egg white

张根生 李婷婷 丁健 常虹

ZHANG Gen-sheng LI Ting-ting DING Jian CHANG Hong

王芮 池天奇 唐敏

WANG Rui CHI Tian-qi TANG Min

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin, Heilongjiang 150076, China)

摘要:以巴氏杀菌鸡蛋清为原料,利用三聚磷酸钠(STP)对鸡蛋清液进行磷酸化改性。通过单因素和正交试验确定了磷酸化最佳工艺条件,即反应 pH 7.5, STP 添加量 4%, 反应温度 40 °C, 反应时间 4 h, 该条件下磷酸化程度为 50.96 mg/g, 并利用低场核磁共振(LF-NMR)辅助观察了反应过程中蛋白质与水分的结合情况。结果表明,鸡蛋清液经过磷酸化改性后,其溶解性、持水性、起泡性、乳化性均得到了改善。

关键词:鸡蛋清;巴氏杀菌;三聚磷酸钠;磷酸化程度;低场核磁共振

Abstract: Pasteurized egg white was used as raw material and modified by sodium tripolyphosphate (STP). The optimum conditions for the phosphorylation of egg white were determined by single factor and orthogonal test, for the reaction pH 7.5, the amount of STP 4%, the reaction temperature 40 °C, and the reaction time 4 h. Under the optimal conditions, the degree of phosphorylation reached 50.96 mg/g. The low-field nuclear magnetic resonance (LF-NMR) was used to observe the binding of proteins to water during the process. The results showed that the solubility, water-holding capacity, foaming property and emulsifying property of egg albumin were all improved after phosphorylation.

Keywords: egg white; pasteurized; sodium tripolyphosphate; phosphorylation degree; low field nuclear magnetic resonance

鸡蛋是人类理想的天然食品之一^[1],含有高生物价值的蛋白质以及大量的维生素及矿物质,营养成分均衡,是良好的蛋白质来源。将鸡蛋加工成液态蛋后,具有安全、易于储存和运输的特点,因此在食品工业中被广泛应用^[2]。而蛋清

液作为鸡蛋中主要的功能性物质来源,具有良好的溶解性、持水性、起泡性等性质,能有效改善食品的品质和质构^[3],是重要的食品加工原料。

蛋清的功能特性与其蛋白的化学组成和各成分比例有关^[4]。蛋清的改性就是在不影响其营养价值的基础上,利用物理或生化手段改变其蛋白质的空间构象,从而引起其功能性质发生改变^[5-6]。磷酸化改性作为蛋白质化学改性的一种,已被认定为改善蛋白质功能性质的有效改性方法,改性后的蛋白质等电点发生迁移,同时溶解性明显提高^[7-8]。因此许多国内外学者致力于蛋白质磷酸化改性的研究,Mathais^[9]研究了多聚磷酸钠用量、改性温度及 pH 值对大豆蛋白磷酸化的影响,发现反应与改性条件关系密切。李瑜^[10]对小麦面筋蛋白进行多聚磷酸钠改性,改性后的蛋白可以很好地应用于烘焙食品中。刘丽莉等^[11]对鸡蛋清蛋白磷酸化改性及改性后功能性质的变化进行了研究,该试验将鸡蛋清喷雾干燥制成蛋清粉后进行磷酸化改性,改性后各项功能性质均得到提高。

近年来,低场核磁共振技术(LF-NMR)被广泛应用于生物体系中水分迁移变化的研究^[12],LF-NMR 是根据弛豫时间的改变从而反映出水分分布情况的变化,达到区分自由水和结合水的目的。而利用 LF-NMR 观察分析禽蛋及其制品内部水分迁移情况的研究较少,刘斯琪等^[13]利用 LF-NMR 技术研究了食盐对鸭蛋黄品质的影响,研究表明食盐会改变鸭蛋黄内部质子的分布情况,使其质构及出油率发生改变,从而影响鸭蛋黄的品质。利用 LF-NMR 研究鸡蛋清液磷酸化改性前后水分迁移情况尚未见报道。

本试验拟利用三聚磷酸钠(STP)直接对鸡蛋清液进行磷酸化改性,并采用 LF-NMR 技术辅助分析蛋清液改性前后的功能性,旨在为进一步提高蛋清液的加工特性以及其在食品中的应用提供参考和依据。

作者简介:张根生(1964—),男,哈尔滨商业大学教授,硕士。

E-mail: zhanggsh@163.com

收稿日期:2016—12—16

1 材料与方法

1.1 试验材料

新鲜鸡蛋:市售,表面洁净无裂纹,内部蛋黄完整,蛋白澄清透明,无异味,无其他组织异物;

三聚磷酸钠(STP):分析纯,天津市天力化学试剂有限公司;

其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

电热恒温水浴锅:DK-98-1型,天津市泰斯特仪器有限公司;

集热式恒温磁力搅拌器:CL-200型,巩义市予华仪器有限责任公司;

台式高速离心机:TG16-WS型,湘南湘仪实验室仪器开发有限公司;

酸度计:PB-10型,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;

可见分光光度计:V-5000型,上海元析仪器有限公司;

凯氏定氮仪:KDY-9820型,北京市通润源机电技术有限责任公司;

低场核磁共振分析仪:NM-120型,上海纽迈电子科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 巴氏杀菌蛋清液的制备 利用分离器分离鲜鸡蛋的蛋清与蛋黄,于磁力搅拌器上以30 r/s搅拌25 min,静置1 h后弃除底层脐带等杂质。将除杂后的蛋清液在59.5℃下杀菌4.5 min^[2],于4℃下冷藏备用。

1.3.2 成分含量的测定

(1) 水分含量:按GB/T 5009.3—2003执行。

(2) 蛋白质含量:按GB/T 5009.5—2003执行。

1.3.3 磷酸化程度的测定 参考文献[14],略作修改,分别取磷酸化反应前后的溶液5 mL,加入5 mL的10%三氯乙酸(TCA)使蛋白变性沉淀,用离心机4 000 r/min离心10 min,取上清液加入1 mol/L的乙酸锌Zn(Ac)₂,使溶液pH至3.8~3.9(用乙酸锌调节),形成沉淀后加入氨缓冲液使沉淀溶解,并以铬黑T为指示剂,用0.1 mol/L EDTA标准溶液进行滴定,溶液颜色由紫红变为蓝色时即为滴定终点,磷酸化程度按式(1)计算:

$$ME = \frac{C \times (V_1 - V_2) \times Mp}{2M} \quad (1)$$

式中:

ME——磷酸化程度,mg/g;

C——EDTA标准溶液浓度,mol/L;

V₁——滴定样品所耗标准溶液体积,mL;

V₂——滴定空白所耗标准溶液体积,mL;

Mp——磷的摩尔质量,30.97 g/mol;

M——样品中蛋白质质量,g。

1.3.4 蛋清蛋白磷酸化功能性的研究

(1) 溶解性的测定:参考文献[15]³³,略作修改,称取一定量的改性前后鸡蛋清液,配制成质量浓度为1.0 g/100 mL

的蛋白质溶液,分别调节pH值在2~11,置于磁力搅拌器上中速搅拌0.5 h,静置30 min后3 500 r/min离心15 min,收集上清液,凯氏定氮法测定上清液中蛋白质的含量,溶解度(NSI)按式(2)计算:

$$NSI = \frac{\text{水溶性蛋白}}{\text{总蛋白}} \times 100\% \quad (2)$$

(2) 持水性的测定:参考文献[16],略作修改,将改性前后的鸡蛋清液真空冷冻干燥制成蛋清粉。准确称取1.00 g样品于离心管中并称量,记为W₁。加入30 mL蒸馏水后搅拌均匀,并分别调节样液的pH至2~11。将装有样品的离心管于60℃下水浴30 min,然后3 000 r/min离心10 min,去除上层清液后称重,记为W₂,持水性按式(3)计算:

$$WHC = \frac{W_2 - W_1}{W} \quad (3)$$

式中:

WHC——持水性,g/g;

W——样品质量,g;

W₁——样品和离心管总重量,g;

W₂——沉淀和离心管总重量,g。

(3) 蛋白起泡性的测定:参考文献[17],略作修改,将改性前后的鸡蛋清溶液配置成蛋白浓度为1%的溶液,分别调节pH值至2~11,用高剪切分散乳化机10 000 r/min剪切1 min,然后迅速将泡沫及溶液转移到250 mL量筒中,读取泡沫层的体积V₁。静置30 min后,读取残留泡沫体积记为V₂,泡沫稳定性按式(4)计算:

$$FS = \frac{V_2}{V_1} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

FS——泡沫稳定性,%;

V₁——泡沫层的体积,mL;

V₂——残留泡沫,mL。

(4) 乳化性测定:参考文献[18],略作修改。称取3 g冷冻干燥后的样品于烧杯中,加入50 mL蒸馏水并调节pH为8.0,加入50 mL花生油,用高速组织捣碎机10 000 r/min搅拌2 min,然后2 000 r/min离心4 min。取出离心管,测定其乳化层高度及液体总高度,乳化性按式(5)计算:

$$EA = \frac{H_1}{H_2} \times 100\% \quad (5)$$

式中:

EA——乳化性,%;

H₁——离心管中乳化层高度,cm;

H₂——离心管中液体总高度,cm。

(5) 乳化稳定性测定:参考文献[19],略作修改,称取3 g冷冻干燥后的样品于烧杯中,加入50 mL蒸馏水并调节pH为8.0,加入50 mL花生油,用高速组织捣碎机10 000 r/min搅拌2 min,然后于50℃下水浴30 min,取出离心管,测定其乳化层高度,乳化稳定性按式(6)计算:

$$ES = \frac{H_1}{H_2} \times 100\% \quad (6)$$

式中:

ES——乳化稳定性, %;

H_1 ——水浴后乳化层高度, cm;

H_2 ——样品原始乳化层高度, cm。

1.3.5 蛋白质低场核磁共振分析 低场核磁共振指标测定, 硬脉冲 CPMG 序列各项参数: $P_1=14$, $P_2=28$, $TW=4\ 000$, $DRG=3$, $SW=200$, $DFW=30.0$, $SF_1=18$, $O_1=430\ 811.1$, $RG_1=20$, $NS=4$, $TE=0.4$, $NECH=13\ 000$ 。

1.3.6 单因素试验设计

(1) STP 添加量: 称取适量样品, 调节其 pH 值至 8, 分别向溶液中加入 1%, 2%, 3%, 4%, 5% 的 STP, 调节其反应温度为 40 °C, 使其反应 4 h。反应结束后, 以磷酸化程度为指标, 确定出蛋清液磷酸化的 STP 最佳添加量。

(2) 反应温度: 称取适量样品, 调节其 pH 值至 8, 向溶液中加入 4% 的 STP, 分别调节其反应温度至 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 °C, 使其反应 4 h。反应结束后, 以磷酸化程度为指标, 确定出蛋清液磷酸化的最佳反应温度。

(3) 反应时间: 称取适量样品, 调节其 pH 值至 8, 向溶液中加入 4% 的 STP, 调节其反应温度为 40 °C, 分别使其反应 1, 2, 3, 4, 5 h。反应结束后, 以磷酸化程度为指标, 确定出蛋清液磷酸化的最佳反应时间。

(4) 反应 pH: 称取适量样品, 分别调节其 pH 值为 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 向溶液中加入 4% 的 STP, 调节其反应温度为 40 °C, 使其反应 4 h。反应结束后, 以磷酸化程度为指标, 确定出蛋清液磷酸化的最佳反应 pH。

1.3.7 正交试验方案 通过单因素试验的确定, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行优化试验, 平行试验 3 次。

1.4 数据统计分析方法

试验数据采用 Excel 和 Spss 21.0 进行分析。

2 结果与讨论

2.1 正交试验结果

正交试验各因素水平见表 1, 试验方案及结果见表 2。由表 2 可知, 影响磷酸化程度的各因素主次顺序为 $D > A > B > C$, 确定的最优水平为 $D_1 A_2 B_3 C_2$, 即反应 pH 7.5, STP 添加量 4%, 反应温度 40 °C, 反应时间 4 h。对理论最优方案进行多组平行验证实验, 结果表明, 在该方案下蛋清液的磷酸化程度为 50.96 mg/g, 达到最大值, 因此此方案为最优方案。

2.2 蛋清液磷酸化功能性分析

2.2.1 蛋清液磷酸化对其溶解性及持水性的影响 由图 1 可知, 从整体趋势来看, 磷酸化改性后鸡蛋清蛋白的溶解性大于未改性前。pH 在 2~3 及 5~11 时, 改性后的蛋白溶解度大于改性前, 这为一些酸性食品的开发生产提供了依据。

表 1 正交试验各因素水平范围表

Table 1 Range of each factor in orthogonal test

水平	A STP 添加量/%	B 反应温度/°C	C 反应时间/h	D 反应 pH
1	3	30	3	7.5
2	4	35	4	8.0
3	5	40	5	8.5

表 2 正交试验方案及试验结果

Table 2 Orthogonal test programs and test results

试验号	A	B	C	D	磷酸化程度/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	1	1	1	1	41.02
2	1	2	2	2	40.45
3	1	3	3	3	46.53
4	2	1	2	3	47.91
5	2	2	3	1	49.94
6	2	3	1	2	43.81
7	3	1	3	2	37.57
8	3	2	1	3	44.36
9	3	3	2	1	48.03
k_1	42.67	42.17	43.06	46.33	
k_2	47.22	44.92	45.46	40.61	
k_3	43.32	46.12	44.68	46.27	
R	4.55	3.95	2.40	5.72	

未改性时蛋清蛋白等电点(pI)在 pH 5 左右^[20], 而磷酸化改性会使其等电点发生迁移, 即改性后蛋白等电点在 pH 4 左右, 此时蛋白的溶解度小于改性前, 这是因为在等电点附近, 蛋白所带的净电荷减少, 水化作用减弱, 使溶解性下降; 当 $\text{pH} > 4$ 时, 介质的 pH 大于蛋白质的等电点, 导致蛋白表面的电荷分布情况发生改变, 同时磷酸基团的引入使蛋白质体系的电负性增强, 分子间的静电斥力增大, 蛋白质结构更加松散, 更易分散于水中, 使改性后的溶解度明显提高。

由图 2 可知, 当 $\text{pH}=4$ 时, 改性后的蛋白持水性低于改性前, 是因为此处接近改性后蛋白等电点, 蛋白质分子间静

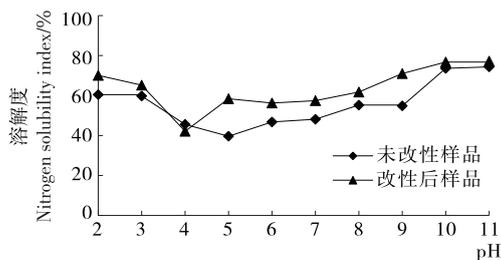


图 1 磷酸化改性对蛋清蛋白溶解性的影响

Figure 1 The effect of phosphorylation on the solubility of egg white

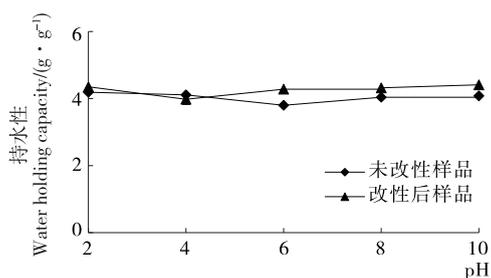


图 2 磷酸化改性对蛋清蛋白持水性的影响

Figure 2 The effect of phosphorylation on the water holding capacity of egg white

电斥力减小而吸引力增大,导致其大部分极性基团参与蛋白与蛋白之间的相互作用,无法与水结合,这时蛋白之间的吸引力使蛋白质分子结合更紧密,分子间的孔隙减少,水分子不易向蛋白分子内部扩散,导致持水性降低,同理,当 pH=6 时,此处接近未改性的蛋清蛋白等电点,导致其持水性小于改性后。而当 pH>6 时,改性前后的蛋清蛋白持水性均呈上升趋势,这是因为 pH 的增大使蛋白质所带电量增加,分子间的斥力增大使蛋白质解聚,形成持水的空间网络结构,因此持水性变大^[21]。

2.2.2 蛋清液磷酸化对其起泡性的影响 由图 3 可知,从整体上看,随着 pH 的增大,改性后鸡蛋清液的起泡性大于改性前。鸡蛋清液的起泡性与其溶解性有关,未改性的蛋白等电点在 pH 5 左右,而改性后的蛋白等电点在 pH 4 左右,此时两者的溶解度较低,因此溶液较粘稠且流动性差,不易形成液膜包裹空气,同时由于蛋白质在等电点区域易凝结,因此两者的起泡性均为最低值。当 $5 < \text{pH} < 10$ 时,改性后的蛋白起泡性高于改性前,这是因为改性后蛋白的溶解度高于改性前,蛋白表面亲水基团增多,液膜的表面张力下降,因此起泡性增强。但是溶解度过高同样会导致液膜包容空气的能力下降^[22],不易于泡沫的形成,因此 pH>8 时,改性后的蛋白起泡性呈下降趋势。

由图 4 可知,磷酸化改性后的泡沫稳定性有所提高。泡沫稳定性由液膜强度决定,改性后蛋清蛋白表面吸附膜的粘度和弹性增加,膜强度变大,使泡沫稳定性增强,因此改性后泡沫稳定性高于改性前。虽然在 pH=4 时,改性后的蛋清蛋白起泡性最低,但其泡沫稳定性较好,这是因为形成的泡沫在等电点区域内破裂速度较慢,泡沫排液速率也有所减缓,从而使得泡沫稳定^{[15]36}。

2.2.3 蛋清液磷酸化对其乳化性的影响 由图 5 可知,磷酸

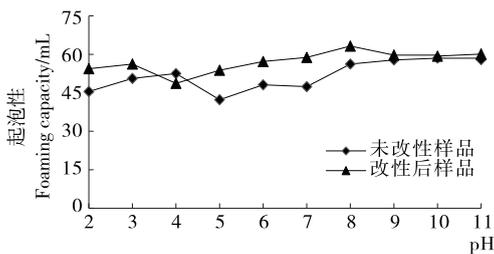


图 3 磷酸化改性对蛋清蛋白起泡性的影响

Figure 3 The effect of phosphorylation on the foaming capacity of egg white

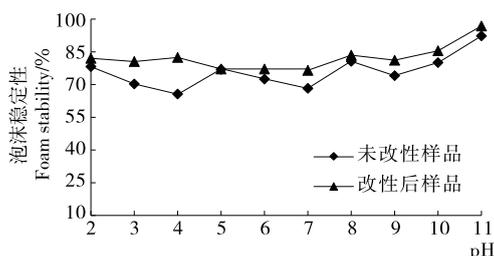


图 4 磷酸化改性对蛋清蛋白泡沫稳定性的影响

Figure 4 The effect of phosphorylation on the foam stability of egg white

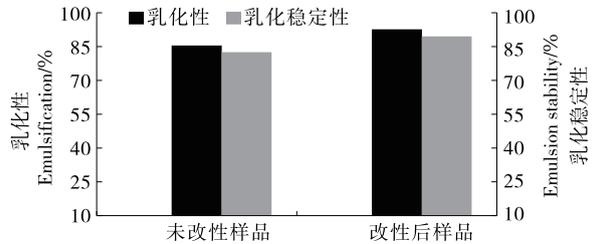


图 5 磷酸化改性对蛋白质乳化性及乳化稳定性的影响

Figure 5 The effect of phosphorylation on the emulsification and emulsion stability of egg white

化改性后,蛋清蛋白的乳化性及乳化稳定性均有所提高。这是因为改性使蛋白分子间的斥力增大,使其疏水基团暴露,蛋白质的亲油性提高,同时负电荷的引入大大降低了乳化液的表面张力^[11],促进了乳状液滴的形成,且相互之间彼此分散,有利于蛋白质在乳化过程中在油—水界面扩散和重排定位,提高了蛋清蛋白的乳化性。而改性后乳化稳定性有所提高,是因为在乳状液失去稳定性前会发生界面蛋白质膜的解析或形变,而不溶性的蛋白颗粒可以稳定已吸附的蛋白质膜,从而防止蛋白膜表面发生变化,起到稳定作用。

2.3 蛋清液蛋白磷酸化 LF-NMR 分析

蛋清是由水和大分子蛋白等构成的复杂凝胶体,水和蛋白分子间的相互作用是影响系统氢质子弛豫过程的最重要因素。在低场核磁共振体系中,不同的 T_2 弛豫时间有其对应的组分,代表不同相态的氢质子。其中 T_{21} (0~10 ms) 表示蛋白质分子表面的极性基团与水分子紧密结合的水分子层, T_{22} (10~100 ms) 表示存在于蛋白空间网状结构之间的不易流动水, T_{23} (100~1 000 ms) 表示存在于蛋白结构外间隙中能自由流动的水。由图 6、7 可知,磷酸化改性后蛋清不易流动水弛豫时间(T_{22})和自由水弛豫时间(T_{23})均发生明

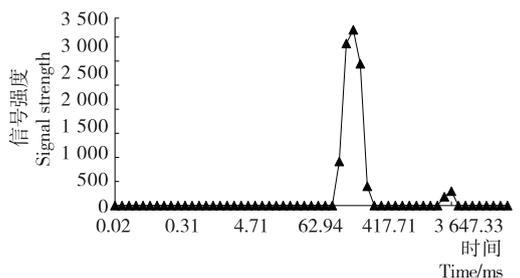


图 6 磷酸化前蛋清蛋白低场核磁图

Figure 6 L-NMR map of pre-phosphorylated egg white

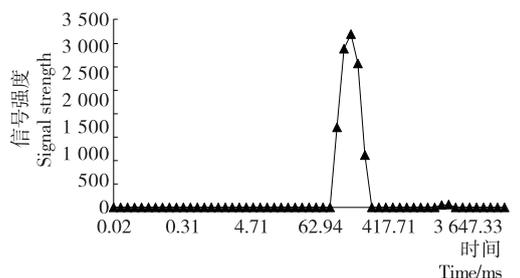


图 7 磷酸化后蛋清蛋白低场核磁图

Figure 7 L-NMR map of egg white after phosphorylation

显变化,不易流动水(T_{22})信号强度和峰面积均明显增加,而自由水(T_{23})信号强度和峰面积明显减小。说明在磷酸化改性后,蛋白质带电量增加,斥力增大,蛋白质解聚,形成持水的空间网络结构,维持了坚固的四级空间立体结构,对于水分的束缚作用增强,体系中的氢质子所受束缚力提高。

L-NMR 结果表明,磷酸化改性后的蛋清蛋白持水性有所提高,蛋白质分子与水分子结合更加紧密,不易失水。

3 结论

(1) 利用 STP 对蛋清液进行磷酸化改性(反应 pH 7.5, STP 添加量 4%, 反应温度 40 °C, 反应时间 4 h), 改性后蛋白磷酸化程度达到 50.96 mg/g, 并采用 LF-NMR 技术辅助观察了蛋白质内部水分的迁移变化, 结果表明磷酸化改性后鸡蛋清液的功能性得到改善, 这为拓展蛋白质的利用范围及适应各类食品的生产开发提供了依据。

(2) 现有鸡蛋清改性研究^[23-24]多以喷雾干燥制备的蛋清粉为原料, 本研究以蛋清液为原料, 可最大程度地保留鸡蛋清的各项功能特性, 并节约生产成本。

参考文献

- [1] 王勇章, 李睿, 李智, 等. 谷氨酰胺转氨酶对鸡蛋全蛋液热凝固性的影响[J]. 食品与机械, 2014, 30(4): 62-66.
- [2] 张铭东, 张根生, 司森菲, 等. 盐和糖对巴氏杀菌蛋清液功能性质的影响[J]. 食品与机械, 2014, 30(6): 7-9, 42.
- [3] FOEGEDING E A, LUCK J P Davis. Factors determining the physical properties of protein foams[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(2/3): 284-292.
- [4] LE Floch-Fouere. Synergy between ovalbumin and lysozyme leads to non-additive interfacial and foaming properties of mixtures[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(2): 352-365.
- [5] DICKINSON E. Structure formation in casein-based gels, foams, and emulsions[J]. Physicochem Eng Aspects, 2006, 288: 103-111.
- [6] ZHAO Liang, WU Ren-an, HAN Guang-hui, et al. The highly selective capture of phosphopeptides by zirconium phosphonate-modified magnetic nanoparticles for phosphoproteome analysis[J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2008, 19(8): 1 176-1 186.
- [7] DEAN E Mc Nulty, ROLAND S Annan. Hydrophilic interaction chromatography for fractionation and enrichment of the phos-

phoproteome[J]. Methods in Molecular Biology, 2009, 527(1): 93-105.

- [8] ZHOU Yi-jun, GAO Fei, LI Xiao-feng, et al. Alterations in phosphoproteome under salt stress in *Theilungiella* roots [J]. Chinese Science Bulletin, 2010, 55(32): 3 673-3 679.
- [9] MATHEIS G. Phosphorylation of food Proteins with Phosphorus oxychloride-improvement of functional and nutritional properties [J]. Food Chemistry, 1991(39): 13-26.
- [10] 李瑜. 三聚磷酸钠改性小麦面筋蛋白研究[J]. 粮食与油脂, 2002(2): 4-5.
- [11] 刘丽莉, 向敏, 康怀彬, 等. 鸡蛋清蛋白磷酸化改性及功能性质的研究[J]. 食品工业科技, 2013(6): 154-158.
- [12] 苗颖, 赵征. 低场核磁共振研究热烫对纤维干酪水分状态的影响[J]. 食品与机械, 2012, 28(6): 4-7.
- [13] 刘斯琪, 林向阳, 朱丰, 等. 利用核磁共振技术研究食盐对鸭蛋黄品质的影响[J]. 食品工业科技, 2016(12): 160-165, 89.
- [14] 姚玉静, 杨晓泉, 张新会. 大豆分离蛋白的磷酸化改性研究[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(10): 5-8.
- [15] 程文红. 米糠谷蛋白磷酸化改性及性质的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2016: 10-34.
- [16] ANTON Iliuk, KEERTHI Jayasundera, RACHEL Schluttenhofer, et al. Functionalized soluble nanoparticles for phosphoproteome analysis[J]. Methods in Molecular Biology, 2011, 790(1): 277-285.
- [17] 孙学斌, 宋丹凤. 大豆蛋白磷酸化[J]. 植物研究, 2001, 21(1): 110-113.
- [18] 卢寅泉, 陈彤华, 陈连就. 磷酸化大豆蛋白功能特性的研究[J]. 食品与发酵工业, 1993(1): 17-24.
- [19] 熊柳, 孙高飞, 王建化, 等. 花生分离蛋白磷酸化改性的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 35-41.
- [20] ANA Cláudia, CARRARO Alleoni. Albumen protein and functional properties of gelation and foaming[J]. Scientia Agricola, 2006, 63(3): 291-298.
- [21] 石晓, 浮吟梅. 花生蛋白持水性研究[J]. 粮油加工, 2006(9): 56-60.
- [22] 刘超. 蛋清蛋白的改性及其起泡特性研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2008: 10-34.
- [23] 郑优, 贾亮. 响应面法优化可食性鸡蛋清蛋白膜的磷酸化改性工艺[J]. 食品工业科技, 2016(6): 242-249.
- [24] 赵薇, 迟玉杰. 磷酸化改性提高蛋清凝胶性的研究[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(9): 79-83.

(上接第 10 页)

- [9] 张玉涛, 许学书, 王宏. 不同诱变方法对酱油发酵菌种性能的影响[J]. 食品科学, 2004, 25(4): 39-42.
- [10] 周其洋, 陶文沂. 米曲霉多酶系优良菌株的诱变选育[J]. 中国调味品, 2009, 34(9): 57-60.
- [11] 蒋雪薇, 盛灿梅, 周倩, 等. 琼脂块法快速平板初筛米根霉 *L*-乳酸高产菌[J]. 食品与机械, 2010, 26(3): 8-10.
- [12] 沈萍, 陈向东. 微生物学实验[M]. 4 版. 北京: 高等教育出版社, 2007: 242.

- [13] 岳希洁, 蒋雪薇, 罗晓明, 等. 酿酒酵母温度敏感性突变株的选育[J]. 食品与机械, 2016, 32(8): 9-12.
- [14] 诸葛健, 王正祥. 工业微生物试验技术手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994: 205-209.
- [15] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.39—2003 酱油卫生分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [16] 苗兰兰, 张东杰, 王颖. 复合诱变高产金属硫蛋白酵母菌株的筛选[J]. 食品科学, 2013, 34(19): 261-264.
- [17] 吴华昌, 邓静. 高产蛋白酶米曲霉的选育[J]. 四川食品与发酵, 2004, 40(2): 46-48.