

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2017.06.004

# 酶解一磷酸化协同改性对卵白蛋白特性 与结构的影响

Effect of the synergistic modification of enzymatic hydrolysis and phosphorylation on functional and structural characteristics of ovalbumin

刘丽莉 李 玉 王 焕 杨陈柳

LIU Li-li LI Yu WANG Huan YANG Chen-liu

(河南科技大学食品与生物工程学院,河南 洛阳 471023)

(College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China)

摘要:为考察酶解和磷酸化协同改性对卵白蛋白特性和结构的影响,针对酶解和磷酸化协同改性的卵白蛋白的功能特性变化进行分析,并通过 FT-IR、DSC 和 SEM 对协同改性的卵白蛋白结构变化进行分析。结果表明,协同改性后的卵白蛋白的溶解度、凝胶强度、乳化性较酶解后的和未改性的卵白蛋白都有较大的提高,但起泡性和泡沫稳定性有所降低;结构上,卵白蛋白因酶解导致其肽链发生断裂,使得更多的氨基酸残基暴露出来, $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠均有所增加;协同改性的卵白蛋白热变性温度较酶解的和未改性的卵白蛋白分别升高了 7.13,10.19  $\mathbb C$ ;此外,由于磷酸基团的嵌入,使蛋白的结构发生了变化,分子结构由球状体变成了层叠的片状结构。 **关键词:**卵白蛋白;酶解;磷酸化;协同改性;功能特性;结构分析

Abstract: In this study, effects of the synergistic modification of enzymatic hydrolysis and phosphorylation on the functional properties and structural characterization of ovalbumin were studied. Comparison of functional properties of before and after the synergistic modification of ovalbumin, and the structural changes of the synergistic modification ovalbumin were analyzed by FT-IR, DSC and SEM. The results showed that the solubility, gel strength and emulsifying properties of the synergistic modification ovalbumin were higher than both the enzymatic hydrolyzed and unmodified ovalbumin, whereas the foaming and its stability were reduced. Moreover, the enzymatic hydrolysis of the ovalbumin peptide chain

基金项目:国家自然科学基金(编号:31401622);公益性行业(农业) 科研专项(编号:201303084);河南省重点攻关项目(编号: 152102110080);河南科技大学高级别项目培育基金项目 (编号:2013ZCX012);河南省教育厅自然科学研究项目 (编号:13A550255)

作者简介:刘丽莉(1974一),女,河南科技大学副教授,博士。

E-mail: yangliuyilang@126.com

**收稿日期:**2017—04—18

caused more amino acid residues to be exposed, therefore the a-helix and  $\beta$ -turns increased accordingly. The synergistic modification of ovalbumin thermal denaturation temperature increased by 7.13 °C and 10.19 °C, respectively, compared with the enzymatic hydrolyzed and unmodified one. In addition, due to the embedding of phosphate groups, collaborative modified molecular structure consisted of a spherical body into a laminated sheet structure.

**Keywords**: ovalbumin; enzymatic hydrolysis; phosphorylation; synergistic modification; functional properties; structural analysis

鸡蛋中含有丰富的蛋白,其中卵白蛋白(OVA)占蛋清 蛋白的 54%~69%,是一种优质蛋白质[1]。OVA 资源丰富, 具有良好的营养价值和功能特性,水溶性好,极易被人体消 化吸收[2]。它具有蛋白质典型的乳化性、凝胶性、起泡性等 功能特性,在食品中可作为乳化剂、凝胶剂、起泡剂等,大大 提高了其在食品中的应用价值。但蛋清粉腥味重、溶解性 差、黏度大、受热易凝固,这些性质又限制了它在食品加工中 的应用[3]。因此,应用适当的方法对蛋清粉的特性进行改 造,开发出功能性的蛋清粉,对于拓展其在食品及其他领域 的应用将具有非常重要的市场价值。涂勇刚等[4]通过酶解 改善蛋清蛋白的起泡性,在蛋清液 5 mL、酶解时间 45 min、 酶添加量 38.2 mg、酶解温度 47.5 ℃、pH 6.3 的条件下,酶解 液的起泡性比原蛋清液提高了 140% 左右。Li 等[5] 通过干 燥加热磷酸化分别对蛋清蛋白和 OVA 进行改性,使得干燥 加热磷酸化改性的蛋清蛋白乳化性、溶解性、热稳定性、持水 性等功能特性得到了一定程度的提高,并分析了干燥加热磷 酸化对OVA结构的变化与其功能特性变化之间的联系。

目前,提高 OVA 的功能特性主要通过物理、化学、酶法实现,但使用协同改性的方法对 OVA 进行改性的研究尚未见相关报道。因此本试验采用碱性蛋白酶对 OVA 进行酶解,随后采用三聚磷酸钠对酶解产物进行磷酸化改性,探讨

协同改性对 OVA 功能物性和结构的影响,从而使卵白蛋白的功能特性进一步提高,为其在食品行业中的应用提供理论依据,以适应不同产品的需要。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料与试剂

鲜鸡蛋:洛阳市农贸市场;

三聚磷酸钠:分析纯,郑州市米莱化工产品有限公司; 氢氧化钾:分析纯,广东西陇化工试剂厂;

磷酸氢二钠、磷酸二氢钾:分析纯,天津市北辰方正试剂厂;

KBr:分析纯,天津市光复经济化工研究所。

#### 1.2 仪器与设备

真空冷冻干燥机: Beta2.8LD型,德国 CHRIST 公司; 超速冷冻离心机: Avanti J-E型,美国 Beckman Coulter 公司:

均质机:FJ-200型,上海标本模型厂;

质构仪:Instron 5544型,美国 Brookfield 公司;

FT-IR 红外光谱仪: Perten DA7200 型,德国 Bruker公司:

差示扫描量热仪: DSC204F1 型, 瑞士 Mettler-Toledo 公司;

电子扫描显微镜:JSM-5610LV型,日本JEOL公司。

## 1.3 方法

1.3.1 OVA的酶解和磷酸化协同改性的产物制备 配制质量分数为 5%的 OVA 溶液,调节 pH 至 8.2,碱性蛋白酶的添加量为 5 500 U/g,在恒温水浴锅中以 52.5 ℃ 的温度反应 5 h。反应结束后,将反应物置于 90 ℃ 的水浴锅中加热 5 min,使酶钝化,冷却至室温,4 500 r/min 离心 10 min,取上清液冷冻干燥,得到 OVA的酶解物 [6]。

取一定量的 OVA 酶解物溶于 0.02 mol/L pH 7.4 的磷酸盐缓冲溶液中,配制成 1 g/100 mL 的蛋白质溶液,调节 pH 至 8,三聚磷酸钠添加量为 9%,在 30 C 的条件下反应 4 h,同时磁力搅拌 3 h,采用截留分子量为  $8 \text{ } 000 \sim 12 \text{ } 000$  的透析袋在 4 C条件下用蒸馏水透析 48 h,冷冻干燥备用。

(1)溶解度的测定:蛋白质的溶解度通常采用 KOH 溶解法<sup>[7]</sup>测定水溶性氮的含量,称取 1 g 样品置于烧杯中,准确量取质量分数为 2% 的 KOH 溶液 50 mL 与样品充分混合,磁力搅拌 2 h,4 ℃条件下 3 500 r/min 冷冻离心 5 min,室温下静置 10 min,取上清液 15 mL,样品中总氮含量与上清液中氮含量均用凯氏定氮法测定<sup>[8]</sup>。溶解度按式(1)计算:

$$NSI = \frac{N_1}{N_0} \times 100\%$$
 , (1)

式中:

NSI---溶解度,%;

 $N_0$ ——样品中总氮含量,mg/mL;

1.3.2 协同改性 OVA 功能特性的测定

 $N_1$ ——溶于 2%的氢氧化钾上清液氮含量,mg/mL。

(2) 凝胶强度的测定:将蛋白样品溶于 0.1 mol/L pH 7.4 的磷酸盐缓冲溶液中,配制成浓度为 10%的蛋白溶液,取 50 mL 于 100 mL 烧杯中,用保鲜膜密封,置于 80 ℃水浴锅中加热 1 h,然后立即用冷水冲洗烧杯外壁,冷却至室温后的凝胶样品于 4 ℃冰箱中放置 12 h,采用质构仪测定其凝胶强度。

测试条件:探头为圆柱状平头探头;测试前速 5 mm/s,测试速度 2 mm/s,距离(探头与样品的距离)15 mm。硬度,即探头在下压的过程中最大感应压力(单位 g),每份样品重复 5 次,计算其平均值。

(3) 乳化特性的测定:分别取 OVA、酶解 OVA 和协同 改性 OVA,加入一定体积 pH 7.4 Tris-HCl 缓冲液,将其配制成质量浓度为 1%的蛋白溶液。取 15 mL 蛋白溶液和 5 mL 大豆油,于 10 000 r/min 均质 1 min,分别取均质后 0, 10 min 的最底层乳化液 100  $\mu$ L 加入到 100 mL 0.1%的 SDS 溶液中,用紫外分光光度计在 500 nm 波长处测定其吸光值,空白为 0.1% SDS 溶液。乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性 (ESI)分别按式(2)、(3)计算:

$$EAI = \frac{2 \times 2.303}{\rho \times (1 - \varphi) \times 10^4} \times A_0 \times 100,$$
 (2)

$$ESI = \frac{A_{10}}{A_0} \times 100\% , \qquad (3)$$

式中:

EAI——乳化活性指数,m²/g;

ESI---乳化稳定性,%;

 $A_0$ 、 $A_{10}$  —— 乳浊液在 0,10 min 的吸光值;

 $\varphi$ ——油相体积分数(油的体积/乳浊液的体积),%;

 $\rho$ ——蛋白质质量浓度,g/mL。

(4) 起泡性的测定:分别将 OVA、酶解 OVA 和协同改性 OVA 溶于 pH 7.4 Tris-HCl 缓冲液中,配成 5%的蛋白溶液,取 50 mL 蛋白溶液,记录起始高度  $H_0$ ,10 000 r/min 均质 2 min 后,记录高度  $H_1$ ,静置 10 min 后再次记录高度  $H_2$ 。蛋白溶液起泡性(FAI)和泡沫稳定性(FSI)按式(4)、(5)计算:

$$FAI = \frac{H_1 - H_0}{H_0} \times 100\% , \qquad (4)$$

$$FSI = \frac{H_1 - H_2}{H_1} \times 100\% , \qquad (5)$$

式中:

FAI---蛋白溶液起泡性,%;

FSI——泡沫稳定性,%。

#### 1.3.3 协同改性 OVA 的结构分析

(1) 傅里叶红外光谱分析:将一定量干燥后的 KBr 分别与冷冻干燥后的 OVA、酶解 OVA 和协同改性 OVA 按质量比 100:1 置于玛瑙研钵中,研磨均匀至混合物为粉末状,将样品置于样品槽中,在压力 10~15 MPa 下压片,将样品取出,放入样品室,采用红外光谱仪在 400~4 000 cm<sup>-1</sup> 波长区间对样品进行扫描<sup>[9]</sup>。

(2) 差示扫描量热分析:分别称量(5.0±0.1) mg 的 OVA、酶解 OVA 和协同改性 OVA 于铝坩埚中,样品升温范

围为  $30\sim300$  ℃,升温速率 10 ℂ/min,以空白为参比,并做 重复试验[10]。

(3) 扫描电镜分析: 将导电胶带均匀地贴在样片台上, 样品粉末均匀地散落在导电胶上, 把样品台朝下使粉与胶未 带接触的颗粒脱落, 用洗耳球吹掉多余的粉末, 喷金处理后, 利用扫描电镜观察其形貌, 放大 200 倍, 加速电压为 20 kV。 1.3.4 数据分析 通过 Origin Pro 8.5 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 协同改性前后 OVA 的功能特性

2.1.1 溶解性分析 由图 1 可知,在 pH 2.5~8.5 条件下酶解后的 OVA 溶解性显著高于 OVA(P<0.05),而协同改性 OVA 的溶解性显著高于 OVA 和酶解 OVA(P<0.05)。因为在酶解过程中使蛋白分子断裂,形成了小分子肽链,增加蛋白与水的接触,使得酶解后的 OVA 溶解度升高。另外,酶解 OVA 的溶解度在 pH 5.0 时最低,而 OVA 的溶解度在其等电点 4.5 时最低,表明酶解使 OVA 等电点升高了。协同改性 OVA 在酶解的基础上,其肽链上又多了极性的磷酸根基团与某些特定基团相结合,增强了蛋白的水化作用,使水化层上蛋白的厚度增加,导致蛋白分子不易聚集沉降,从而提高了其溶解性[11]。协同改性 OVA 的等电点又降低到4.0,因此通过酶解和磷酸化协同改性 OVA,既能在一定程度上提高 OVA 功能特性,又能改善 OVA 在加工过程中的特性。

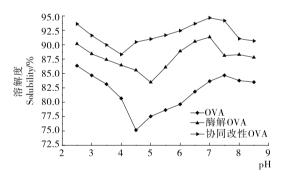


图1 协同改性前后 OVA 溶解性分析

Figure 1 Analysis of the ovalbumin solubility before and after the synergistic modification

2.1.2 凝胶性分析 由图 2 可知,酶解显著改善了 OVA 的 凝胶强度,OVA 在热处理 4 d 后凝胶强度达到 681 g,而酶解 后的 OVA 在热处理 4 d 后凝胶强度达到 740 g,显著高于未处理的 OVA,酶解使 OVA 球状结构破坏,形成了紧密的纤维状结构。在一定的加热时间内,协同改性 OVA 的凝胶强度明显高于 OVA。当加热到 3 d 时协同改性 OVA 的凝胶强度达到 783 g 较 OVA 提高了 180 g,可能是磷酸化改性的蛋白质表面电荷发生变化,在加热过程中促进了紧密有序的三维空间凝胶结构的形成,使其凝胶强度增大[12]。通过酶解和磷酸化协同改性 OVA 有效改善了 OVA 的凝胶特性,利于具有特殊功能性食品的加工。

2.1.3 乳化性和乳化稳定性分析 由图 3 可知,酶解 OVA 乳化活性指数和乳化稳定性较未改性 OVA 分别提高了 45.32%,

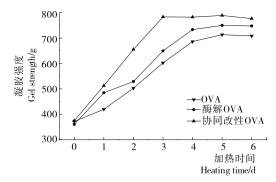


图 2 协同改性前后 OVA 凝胶强度分析

Figure 2 Analysis of ovalbumin gel strength before and after the synergistic modification

10.46%,因为酶解使得 OVA 的疏水基团增加,结合油滴的能力增强<sup>[13]</sup>,亲水基团伸展到水相中,提高了 OVA 的乳化性和乳化稳定性。协同改性 OVA 的乳化活性指数比 OVA 的提高了 18.46 m²/g,乳化稳定性提高了 12.44%。主要原因:① 磷酸化改性后,蛋白质中引入了 PO³-,PO³-增加液滴之间的斥力,易于分子的扩散,更利于蛋白质在油/水界面重新排列;② 磷酸化改性使得更多的疏水基团暴露出来,提高了蛋白质的亲油性,降低了乳化液的表面张力,使之更易形成乳状液滴<sup>[14]</sup>。

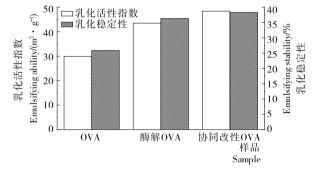


图 3 协同改性前后 OVA 的乳化性和乳化稳定性分析

Figure 3 Analysis of the emulsifying and emulsifying stability of the OVA before and after the synergistic modification

2.1.4 起泡性和泡沫稳定性分析 由图 4 可知,酶解会引起OVA 起泡性的下降,原因可能是:① OVA 分子的肽链断裂,无法形成稳定的泡沫黏膜;② 虽然酶解使 OVA 的溶解性增加,但酶解使其溶液的黏度下降,在搅打和起泡过程中不利于 OVA 分子在气液界面上快速吸附<sup>[15]</sup>。协同改性OVA 起泡性与 OVA 相比降低了 21.9%,泡沫稳定性降低了13.11%。蛋白质的起泡性与溶液的温度、pH 值有关。温度与蛋白质泡沫的形成和稳定有直接关系,温度太低或太高均不利于蛋白的起泡,蛋白质溶液一般在 30 ℃时起泡性最好,因此夏季的新鲜鸡蛋在搅打过程中易起泡。溶液的 pH 对蛋白泡沫的形成影响很大,蛋白质在等电点时,形成泡沫的能力较差,因此在搅打蛋白时通过调节蛋白的 pH,以增强蛋白质的起泡性<sup>[16]</sup>。

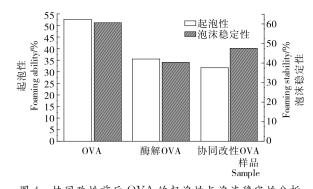


图 4 协同改性前后 OVA 的起泡性与泡沫稳定性分析
Figure 4 Analysis of the foaming ability and foam
stabilityof the OVA before and after the synergistic modification

#### 2.2 协同改性前后 OVA 的结构分析

2.2.1 傅里叶红外光谱分析 由图 5 可知,OVA(Ⅰ)、酶解 OVA(Ⅱ)及协同改性 OVA(Ⅲ)的红外图谱存在一定的差异,说明三者的结构有一定不同。蛋白质在红外区有若干特征吸收带,对分析二级结构最有价值的区域是 1 600~1 700 cm<sup>-1</sup>酰胺Ⅱ带和 1 220~1 330 cm<sup>-1</sup>酰胺Ⅲ带<sup>[17]</sup>;在 3 200~3 700 cm<sup>-1</sup>处为游离羟基的伸缩振动吸收带。

图 5 中 I、II、II 在 1 220~1 330 cm $^{-1}$ 处都有蛋白质的特征吸收峰,但 II 的吸收峰较强,其次是 I、II,说明酶解作用使 OVA 肽链断裂,蛋白质多以二级结构存在,因此酶解处理的蛋白质在酰胺 III 带 (1 220~1 330 cm $^{-1}$ )有强的吸收峰; $\alpha$ -螺旋特征吸收频率为 1 290~1 330 cm $^{-1}$ ,三者在 1 290~1 330 cm $^{-1}$ 均出现了蛋白质的特征吸收峰,且吸收强度 III > I ,说明在酶解和磷酸化后促进了  $\alpha$ -螺旋的形成,因为酶解和磷酸化作用引起了 N—II 键变形振动,从而使其在 1 290~1 330 cm $^{-1}$ 的吸收峰增强; $\beta$ -转角的特征吸收频率在 1 290~1 265 cm $^{-1}$ ,图中 I、II 、II 在 1 265~1 290 cm $^{-1}$ 处均出现了特征吸收峰,且吸收强度 III > II,说明酶解和磷酸化 OVA 促进了  $\beta$ -转角的形成,在改性过程中更多氨基酸的残基游离出来,其中脯氨酸具有环状结构和固定的肽平面角,这种特殊结构能够在一定程度上促进  $\beta$ -转角形成。

2.2.2 差示扫描量热分析 差示扫描量热法(DSC)是用来测定蛋白质的热变性温度,在系统升温过程中,是分析温度与样品和参比之间量热差的一种方法。

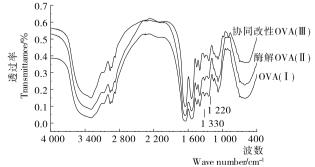


图 5 红外光谱图分析结果

Figure 5 Fourier transform infrared spectrometer

由图 6 可知,三者的 DSC 热变性温度曲线均出现了明显的放热峰,原因是蛋白质受热变性导致分子构象发生了变化。蛋白质的热稳定性与其氨基酸组成相关,疏水性氨基酸比亲水性氨基酸比例高的蛋白质一般热稳定较好[18]。酶解后的 OVA 球状结构遭到破坏,埋藏在分子内部的疏水基被释放出来,所以酶解 OVA 的热变性温度比 OVA 的升高 6.70  $\mathbb{C}$ ;协同改性后,OVA 球状结构遭到破坏,埋藏在分子内部的疏水基被释放出来,所以协同改性的 OVA 热变性温度较 OVA 升高了  $10.19 \mathbb{C}$ ,说明协同改性可以提高蛋白的热变性温度。

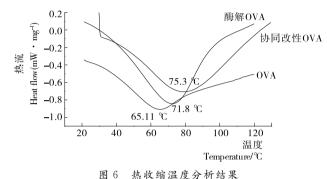


Figure 6 Analysis of differential scanning calorimetry

2.2.3 扫描电镜分析 SEM 是通过高倍数放大样品,从分子形态上分析样品结构。对改性前后的 OVA 进行 SEM 分

由图 7(a)可知,OVA 为典型的球蛋白;图 7(b)为酶解 OVA,因肽链的断裂,球状结构遭到破坏;图 7(c)为协同改性 OVA,可以看出协同改性后的 OVA,因磷酸根与蛋白结合,使蛋白的结构发生变化,形成了层叠的片状结构。



图 7 改性前后 OVA 的微观结构

Figure 7 Modification of the microstructure before and after Ovalbumin (×200)

# 3 结论

析,结果见图7。

(1) 通过对 OVA、酶解 OVA 和协同改性 OVA 功能特性进行分析,得出协同改性 OVA 溶解度较酶解 OVA 和 OVA 都有较大的提高,凝胶强度分别提高了 49,96 g,乳化活性指数分别提高了 4.90,18.46 m²/g,乳化稳定性分别提高了 1.97%,12.43%,起泡性分别降低了 3.72%,20.90%,泡沫稳定性分别降低了 7.13%,13.11%。

(2) 对 OVA、酶解 OVA 和协同改性 OVA 进行结构分析,通过 FT-IR 光谱、DSC、SEM 分析表明:卵白蛋白因酶解导致其肽链发生断裂,使得更多的氨基酸残基暴露出来, $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠均有所增加;协同改性OVA热变性温度较酶

- 应用研究进展「JT. 云南化工, 2010, 37(1): 58-61.
- [5] 程传玲,杨艳勤,刘仕民,等.美拉德反应产物在烟草工业中的应用[J].郑州轻工业学院学报:自然科学版,2014,29(1):59-62.
- [6] CERNY C. Origin of carbons in sulfur-containing aroma compounds from the Maillard reaction of xylose, cysteine and thiamine[J]. LWT-Food Science and Technology, 2007, 40(8): 1309-1315.
- [7] CERNY C, GUNTZ-DUBINI R. Identification of 5-hydroxy-3-mercapto-2-pentanone in the Maillard reaction of thiamine, cysteine, and xylose[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(22): 10 679-10 682.
- [8] DU Qin-qin, LIU Shu-ying, XU Rui-feng, et al. Studies on structures and activities of initial Maillard reaction products by electrospray ionisation mass spectrometry combined with liquid chromatography in processing of red ginseng [J]. Food Chemistry, 2012, 135(2): 832-838.
- [9] SHIPAR M A H. Formation of the Heyns rearrangement products in dihydroxyacetone and glycine Maillard reaction: A computational study[J]. Food Chemistry, 2006, 97(2): 231-243.
- [10] ZHOU Wan-hong, WANG Jun, WU Da. Determination of important flavour precursor compounds (Amadori compounds) in cigarettes by LC-MS/MS[J]. Journal of Analytical Chemistry, 2014, 69(7): 691-695.
- [11] 黄梅桂. 大豆肽美拉德反应体系中色泽抑制及其机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012: 24.
- [12] HUANG Mei-gui, ZHANG Xiao-ming, ERIC K, et al. Inhibi-

- ting the color formation by gradient temperature-elevating Maillard reaction of soybean peptide-xylose system based on interaction of *L*-cysteine and Amadori compounds[J]. Journal of Peptide Science, 2012, 18(5): 342-349.
- [13] LERTITTIKUL W, BENJAKUL S, TANAKA M. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH[J]. Food Chemistry, 2007, 100(2): 669-677.
- [14] 蒋思翠,何林美,伍阳,等. L-苯丙氨酸参与的 Amadori 化合物的合成及其在卷烟中的应用[J]. 香料香精化妆品,2013(4): 17-20.
- [15] 谢剑平. 烟草香料技术原理与应用[M]. 北京: 化学工业出版 社,2009.
- [16] 蔡培钿,白卫东,钱敏.美拉德反应在肉味香精中的研究进展 [J].中国酿造,2009,28(5):7-10.
- [17] WANG He-ya, QIAN He, YAO Wei-rong. Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity [J]. Food Chemistry, 2011, 128(3): 573-584.
- [18] COLEMAN W M, CHUNG H L. Pyrolysis GC-MS analysis of Amadori compounds derived from selected amino acids and glucose[J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2002, 62 (2): 215-223.
- [19] BRUDZYNSKI K, MIOTTO D. The relationship between the content of Maillard reaction-like products and bioactivity of Canadian honeys[J]. Food Chemistry, 2011, 124(3): 869-874.
- [20] 张晓鸣, 食品风味化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009: 156-160.

## (上接第20页)

解 OVA 和 OVA 分别升高了 7.13,10.19 ℃;此外,由于磷酸基团的嵌入使蛋白的结构发生了变化,分子结构由球状体变成了层叠的片状结构。

## 参考文献

- [1] 高艳华,王联结. 国内外食品蛋白质发展概况[J]. 食品研究与开发,2003,24(5):58-60.
- [2] 潘超然. 卵白蛋白提取及其口服液的研制[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2005, 34(4): 531-534.
- [3] 张治国,王君虹,陈新峰,等. 酶解蛋清粉制备蛋清蛋白肽工艺条件研究[J]. 浙江农业科学,2010(2):318-320.
- [4]涂勇刚,聂旭亮,徐明生,等.响应曲面法优化木瓜蛋白酶改善 蛋清蛋白起泡性能工艺[J].食品科学,2011(20):84-88.
- [5] LI Can-peng, CHEN De-yi, PENG Jian-lin, et al. Improvement of functional properties of whey soy protein phosphorylated by dry-heating in the presence of pyrophosphate[J]. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 2010, 43(6): 919-925.
- [6] 刘丽莉,王焕,李丹,等.鸡蛋清卵白蛋白酶解工艺优化及其结构性质[J].食品科学,2016(10):54-61.
- [7] WIRIYAUMPAIWONG S, SOPONRPNNARIT S, PRACHAYAW-ARAKORN S. Comparative study of heating processes for full-fat soybeans[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 65(3): 371-382.
- [8] 卫生部. GB 5009.5—2010 食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.

- [9] DUARTE M L, FERREIRA M C, MARYAO M R, et al. An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIRspectroscopy[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2002, 31(1/2/3): 1-8.
- [10] WANG Xin-wei, WANG Yang-liang, XU Su-ming. DSC analysis of a simply supported anisotropic rectangular plate [J]. Composite Structures, 2012, 94(8); 2 576-2 584.
- [11] 金丽丽,朱秀清,赵兴明,等.磷酸化修饰对大豆分离蛋白酶解液溶解性的影响[J].食品工业,2014(8):98-103.
- [12] 徐幸莲,王霞,周光宏,等.磷酸盐对肌球蛋白热凝胶硬度、保水性和超微结构的影响[J].食品科学,2005,26(3):42-46.
- [13] LAM R S H, NICKERSON M T. Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure-function approach [J]. Food Chemistry, 2013, 141(2): 975-984.
- [14] 张利兵,赵妍嫣,姜绍通.小麦醇溶蛋白磷酸化改性工艺及性质的研究[J].食品工业科技,2012,33(12):318-321.
- [15] 杨瑾, 唐传核. 鸡蛋清蛋白水解物的物化及功能性质的研究 [J]. 现代食品科技, 2011, 27(11): 1 316-1 319.
- [16] 黄群,杨万根,金永国,等.卵白蛋白起泡性影响因素研究[J]. 食品与机械,2014,30(5):54-56,63.
- [17] MILLER L M, BOURASSA M W, SMITH R J. FTIR spectroscopic imaging of protein aggregation in living cells [J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2013, 1 828(10): 2 339-2 346.
- [18] GENG Xiao-peng, CUI Bing, LI Yan, et al. Preparation and characterization of ovalbumin and carboxymethyl cellulose conjugates via glycosylation[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 37: 86-92.