

不同碱处理对蛋清凝胶物理化学变化的影响研究

张献伟^{1,2}, 蒋爱民¹

(1.华南农业大学食品学院, 广东广州 510640) (2.惠州市海洋与渔业局, 广东惠州 516001)

摘要: 采用两种碱处理加工方式制成蛋清凝胶制品(蛋清碱诱导凝胶和皮蛋清), 以TPA(Texture Profile Analysis)、溶解度、巯基与二硫键含量、表面疏水性、蛋白质组分、微观结构、蛋白质二级结构为考察指标, 研究蛋清碱诱导凝胶与皮蛋清凝胶特性的差异及其作用机理, 结果表明: 各碱处理组蛋清的蛋白质分子高度交联而形成凝胶网络结构, 且蛋清碱诱导凝胶组较为致密有序。蛋清碱诱导凝胶比皮蛋清具有较高的硬度(186.73±3.29 g)、内聚性(0.98±0.02)、咀嚼性(176.21±6.13)、溶解度(55.68±1.20%)、表面巯基(60.34±1.01 μmol/g)和二硫键含量(29.42±0.57 μmol/g), 且具有较低的总巯基含量(64.60±2.28 μmol/g)和表面疏水性(419.80±17.22)。蛋清碱诱导凝胶蛋白质二级构象以β-折叠为主(31.24%), 分子内具有较强的氢键总相互作用; 皮蛋清蛋白质二级结构中α+β构象较低(33.65%), β₁(21.21%)、T-转角(25.36%)和γ无规则卷曲(19.78%)较大。蛋清蛋白质组分在两种碱处理加工方式下都发生明显变性。

关键词: 碱处理; 蛋清; 凝胶; 物化特性

文章编号: 1673-9078(2014)2-192-197

Effect of Alkali Treatments on the Physicochemical Properties of Egg White Gels

ZHANG Xian-wei^{1,2}, JIANG Ai-min¹

(1.College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China)

(2.Administration of Ocean and Fisheries of Huizhou Municipality, Huizhou 516001, China)

Abstract: Difference of gel properties and the mechanisms between alkali-induced egg white gel and lime-preserved egg white were investigated by studying the variations of texture profile analysis (TPA), solubility, sulphhydryl content, disulfide bond content, surface hydrophobicity, protein fractions, microstructure and protein secondary structure of egg white gels obtained from different alkali treatments. The results showed that protein molecules of egg white obtained from both alkali treatments formed highly cross-linked gel network structures, and closer and more orderly protein aggregates with denser network were observed in alkali-induced egg white gel. The hardness (186.73±3.29 g), cohesiveness (0.98±0.02), chewiness (176.21±6.13), solubility (55.68±1.20%), exposed sulphhydryl content (60.34±1.01 μmol/g) and disulfide bond content (29.42±0.57 μmol/g) of alkali-induced egg white gel were higher than that of lime-preserved egg white, while total sulphhydryl content (64.60±2.28 μmol/g) and surface hydrophobicity (419.80±17.22) were lower. Protein secondary structure of alkali-induced egg white gel was mainly in β-sheet (31.24%), which showed the strong total hydrogen bonding interaction in the molecules. And the content of α+β conformation (33.65%) was lower in protein secondary structure for the lime-preserved egg white, but contents of β₁(21.21%), T-tum (25.36%) and γ-random (19.78%) coil were higher. Therefore, egg white proteins denatured obviously by the two alkali treatments.

Key words: alkali treatments; egg white; gels; physicochemical characteristics

目前, 为提高蛋品深加工利用水平, 利用碱处理制成色泽亮丽、营养丰富、风味独特的蛋制品是一个研究热点^[1]。蛋清约占鸡蛋总重的 60%, 是具有多种重要功能特性蛋白质的胶体混合物^[2], 经强碱作用形成凝胶状, 是皮蛋制品加工的基本特性, 其碱诱导凝

基金项目: 2013-08-18

作者简介: 张献伟(1988-), 男, 博士研究生, 食品加工与保藏

通讯作者: 蒋爱民(1957-), 男, 博士, 教授, 畜禽产品加工与质量安全控制

胶机制与皮蛋制品的形态和质地有着密不可分的联系^[3~4]。

蛋清碱诱导凝胶过程中, 蛋白质逐渐发生变性, 导致蛋白质分子的自然结构解体, 维系蛋白质分子间化学作用力的次级键如疏水相互作用、静电相互作用等发生重大改变, 蛋白质分子中的游离巯基发生氧化或通过SH-SS转换反应生成二硫键, 并且蛋清蛋白质分子从天然状态到变性状态的变化还包括二级构象变化, 例如α-螺旋、β-折叠和无规则卷曲含量都发生比

较明显的变化^[5], 这与一些凝胶性质如质构特性和溶解性可能存在一定的关联。

过去研究大部分以浸渍处理致使蛋清蛋白质碱变性以制成皮蛋清, 而以碱直接添加处理, 促使蛋清蛋白质产生凝胶(称为蛋清碱诱导凝胶), 对其与皮蛋清的功能特性与微细结构的差异性研究尚未见详细报道。本实验采用两种碱处理加工方式分别制成蛋清凝胶制品(蛋清碱诱导凝胶和皮蛋清), 以质构特性、溶解度、巯基与二硫键含量、表面疏水性、蛋白质组分、蛋白质二级结构、微观结构等为考察指标, 探讨不同碱处理加工方式对蛋清凝胶品质特性的影响及其作用机理, 旨在揭示蛋清蛋白质的碱诱导凝胶机理及其构效关系, 以拓宽其在食品加工领域中的应用, 同时为解释皮蛋加工相关机理和指导皮蛋加工相关基础研究方向提供一定参考和理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料与设备

1.1.1 原料

鲜鸡蛋、红茶末、食盐均为食品级。

DTNB(5, 5'-二硫代双(2-硝基)苯甲酸)、ANS(1-苯胺基-8 萘基磺酸盐), Sigma 公司; 标准蛋白质(14.4~97.4 kDa), 上海生物化学研究所; 牛血清蛋白(BSA), 国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

TA.XT.Plus 物性测试仪, 北京超微仪器科技有限公司; XL-30-ESEM 环境扫描电子显微镜, 荷兰 FEI 公司; DYY-BC 型电泳仪, 北京六一仪器有限公司; RF-5301PC 荧光分光光度计、UV-1800 紫外可见分光光度计, 日本岛津仪器有限公司; VERTEX 70 傅立叶变换红外光谱仪, 德国布鲁克仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 皮蛋清制备

采用溏心皮蛋浸泡法, 将前处理鸡蛋置于陶缸中, 沿壁缓慢倒入配制料液(见表 1), 于常温下(24~26 °C)腌制 28 d。

表 1 传统皮蛋加工工艺参数

Table 1 Processing parameters of traditional lime-preserved egg

组号	NaOH /%	Cu ²⁺ /%	Zn ²⁺ /%	Fe ²⁺ /%	NaCl /%	红茶 /%	蛋重: 料重
1	4.5	0.1	0.1	0.1	3.5	2.0	1:1.5

1.2.2 蛋清碱诱导凝胶制备

取新鲜鸡蛋数枚, 破壳后去除系带, 分离蛋清, 低速搅拌 1 min, 静置 2 h。将前处理鸡蛋清倒入已灭菌烧杯(100 mL)中, 添加配好的腌制液(见表 2), 搅拌均匀后使用保鲜膜密封, 移放至恒温箱中(24~26 °C)熟成 1 d。

表 2 蛋清碱诱导凝胶加工工艺参数

Table 2 Processing parameters of alkali-induced egg white gels

组号	NaOH /%	NaOH 标准溶液/(mol/L)	食盐 /%	茶多酚 /%
蛋清凝胶	0.65	2.0	0.5	0.06

1.2.3 测定方法

1.2.3.1 质地剖面分析 TPA 测定^[6]

将样品切割成 1.5×1.5×1.5 cm³ 块状, 每个样品进行两次轴向压缩, 压缩百分比为 50%, 中间间隔 5s, 测试探头 P/36R, 测试前速为 1 mm/s, 测试速度为 5 mm/s, 测试后速为 5 mm/s。通过软件可分析以下质构特性参数: 硬度(Hardness)、弹性(Springiness)、粘聚性(Cohesiveness)、咀嚼性(Chewiness)和回复性(Resilience)。

1.2.3.2 溶解度测定^[7]

称量 0.2 g 样品, 分别添加 10 mL 下列 3 种缓冲液: ①Tris-甘氨酸缓冲液: 0.1 mol/L Tris-0.1 mol/L 甘氨酸-4mmol/L 乙二胺四乙酸二钠, pH 8.0; ②Tris-甘氨酸缓冲液+8 mol/尿素+1% SDS; ③Tris-甘氨酸缓冲液+8 mol/尿素+1% SDS+1%β-巯基乙醇, 常温摇床振荡 30 min, 于离心机下 19, 900×g, 4 °C 离心 15 min。利用考马斯亮蓝法检测上清液中的蛋白质浓度, 凝胶溶解度计算公式为: 上清液蛋白质含量/总蛋白质含量×100%。

1.2.3.3 表面巯基、总巯基和二硫键的测定^[7]

分别量取 3 mL 溶解度测定方法中 3 种缓冲液处理后的蛋清蛋白质上清液(①Tris-甘氨酸缓冲液, 测定表面巯基 SH; ②Tris-甘氨酸缓冲液+8mol/L 尿素+1%SDS, 测定总巯基 SH; ③Tris-甘氨酸缓冲液+8 mol/尿素+1%SDS+1%β-巯基乙醇, 测定[总巯基 SH+(2×S-S)]), 添加 30 μL Ellman 反应试剂(4mg DTNB/mL Tris-甘氨酸缓冲液), 快速混合均匀, 常温下显色 30 min, 在 412 nm 处测定吸光度。以不加样品(Tris-甘氨酸缓冲液代替)而加 Ellman 试剂为空白, 巯基(μmol SH/g 蛋白质)的分子吸光系数为 13600 (mol·cm)⁻¹。

1.2.3.4 表面疏水性测定^[8-9]

称取 0.10 g 样品溶于磷酸钠缓冲溶液(0.1 mol/L, pH=7.6)中, 在室温(24~26 °C)下摇床振荡 30 min, 于离心机下 19, 900×g, 4 °C 离心 15 min。将提取的

蛋白质用磷酸钠缓冲溶液稀释至一定浓度（在 0.005~0.30 mg/mL 范围内），取 4 mL 上述溶液，加入 20 μ L 8mM ANS，混合均匀后在暗处静置 15 min，分别测定不同浓度的样品的荧光强度 FI_0 （激发波长 390 nm，狭缝校正 5 nm 和发射波长 470 nm，狭缝校正 5 nm，扫描时间分别为 0.5 s 和 0.01 s）。为消除蛋白质溶液浊度对荧光强度的影响，不添加荧光探针的每个浓度蛋白质的荧光强度 FI_1 同样测量。以蛋白质浓度为横坐标，校正后的 FI （ FI_0 和 FI_1 的差值）为纵坐标作图，曲线初始段的斜率即为蛋白质分子的表面疏水性指数 S_0 。

1.2.3.5 SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳测定^[10]

称取 3 g 样品，添加 27 mL 5% SDS 和 1% β -巯基乙醇，以 12000 r/min 均质 1 min。匀浆在 85 $^{\circ}$ C 加热 1 h，然后置于离心机中，在室温（24~26 $^{\circ}$ C）下，7500 g 离心 10 min。微量注射器吸取样品（含 20 μ g 蛋白质）注入浓缩胶的凹槽，垂直式凝胶电泳装置进行电泳，采用 200 伏特的恒压，电泳后的凝胶置于 25% 甲醇和 10% 乙酸溶液中，使用考马斯亮兰 R-250（0.25%）染色，再用 40% 甲醇和 10% 乙酸褪色，分离胶和浓缩胶的浓度分别为 12% 和 4%。

1.2.3.6 微观结构测定^[6]

将样品切成 0.3 \times 0.3 \times 0.3 cm³ 块状，用 2.5% 戊二醛和磷酸缓冲液（0.1 mol/L，pH 7.2）固定 4 h，然后用磷酸缓冲液漂洗 15 min（3 次），室温下（24~26 $^{\circ}$ C）再用 1% 四氧化钨固定 2 h，然后用磷酸缓冲液漂洗 10 min（3 次）。依次用 30%、50%、70%、80%、90%、100% 乙醇逐级脱水，每次 10 min。采用二氧化碳临界点干燥法用醋酸戊酯置换样品中乙醇。用银粉导电胶固定样品，再经离子溅射喷金后，置于扫描电子显微镜 SEM（Scanning Electron Microscope）下观察、拍照，加速电压为 10 kV。

1.2.3.7 蛋白质二级结构的傅立叶红外光谱测定

测试前用干燥的空气连续吹扫样品仓，消除水蒸气影响，再将样品均匀地铺满在表面衰减全发射采样器 ATR（Attenuation Total Reflection）附件的晶片上进行全波段扫描，扫描范围 400~4000 cm⁻¹，扫描次数 500 次，分辨率 4 cm⁻¹。以相应的空气和水作为背景，扣除背景后得到红外光谱图。

2 结果与讨论

2.1 蛋清碱诱导凝胶与皮蛋清 TPA 的差异性

表 3 蛋清碱诱导凝胶与皮蛋清 TPA 的差异性

Table 3 Difference in TPA of lime-preserved egg white and alkali-induced egg white gel

加工方式	TPA				
	Hardness/g	Springiness	Cohesiveness	Chewiness	Resilience
皮蛋清	176.67 \pm 15.66	0.97 \pm 0.01	0.93 \pm 0.01	158.04 \pm 14.71	0.85 \pm 0.01
蛋清碱诱导凝胶	186.73 \pm 3.29	0.97 \pm 0.01	0.98 \pm 0.02	176.21 \pm 6.13	0.84 \pm 0.02

由表3可知，各碱处理加工的蛋清凝胶都具有较高的硬度，表明新鲜蛋清在两种碱处理加工方式的作用下充分变性形成坚实的网络状凝胶结构，表现较好的凝胶特性，并且蛋清碱诱导凝胶的硬度大于皮蛋清组

（ $P<0.05$ ），这可能由于蛋清碱诱导凝胶组具有较强的维系凝胶网络结构的化学作用力^[10]。蛋清碱诱导凝胶的弹性和回复性与皮蛋清组差异不显著（ $P>0.05$ ），但其内聚性和咀嚼性都分别显著高于皮蛋清组（ $P<0.05$ ）。

2.2 蛋清碱诱导凝胶与皮蛋清溶解度和化学作用力的差异性

表 4 蛋清碱诱导凝胶与皮蛋清化学作用力的差异性

Table 4 Difference in solubility and chemical interactions of lime-preserved egg white and alkali-induced egg white gel

加工方式	溶解度/%			巯基与二硫键含量 (μ mol/g 蛋白质)			表面疏水性 S_0
				表面巯基	总巯基	二硫键	
	缓冲液①	缓冲液②	缓冲液③				
皮蛋清	12.51 \pm 1.47	43.08 \pm 1.04	47.13 \pm 1.55	56.05 \pm 1.50	69.27 \pm 1.36	26.54 \pm 1.30	658.27 \pm 30.14
蛋清碱诱导凝胶	12.33 \pm 0.48	49.36 \pm 1.08	55.68 \pm 1.20	60.34 \pm 1.01	64.60 \pm 2.28	29.42 \pm 0.57	419.80 \pm 17.22

由表 4 可知，两组碱处理加工的蛋清凝胶在缓冲液①中的溶解度都较低，且两者差异不显著（ $P>0.05$ ），表明新鲜蛋清在两种碱处理加工方式的作用下充分变性形成坚实的网络状凝胶结构，均具有较好的凝胶特

性。各碱处理组蛋清凝胶在含有尿素和 SDS 的缓冲液②中具有较高的溶解度，表明氢键和疏水相互作用是参与形成和维持蛋白质凝胶的重要作用力，在蛋清凝胶形成过程中，蛋白质空间结构的疏水区域及其二级

结构发生改变。因为氢键是形成与凝胶有关的 β -折叠结构的主要作用力,并且蛋白质分子结构中疏水区域的改变,提升疏水相互作用,促使蛋白质分子间交联凝聚的加强^[11]。同时,含有巯基乙醇的缓冲液③可明显提高各碱处理组蛋清凝胶的溶解度($P<0.05$),表明蛋清碱诱导凝胶形成过程中-SH发生氧化而生成较多的S-S键,并参与形成、维持和强化凝胶网络结构,增加蛋清凝胶的凝胶特性^[10,12]。此外,蛋清碱诱导凝胶在缓冲液②和③中的溶解度显著高于皮蛋清组($P<0.05$),表明蛋清在碱直接作用下,体系中蛋白质充分变性,埋藏在天然蛋白质分子内部的疏水基团和巯基暴露较多,在疏水相互作用下,变性的蛋白质分子相互交联缠绕形成凝集体,同时,暴露在分子表面的活性巯基经碱氧化或通过SH-SS转化反应生成较多的二硫键,硬化预先形成的蛋白质凝聚物而形成坚实的凝胶网络结构,并且在凝胶结构形成的过程中,变性蛋白质分子之前暴露的疏水基团交联埋藏在网络结构中,呈现较低的表面疏水性,这与蛋清碱诱导凝胶组具有较高的表面巯基和二硫键含量及较低的总巯基含量和表面疏水性相对应($P<0.05$),一定程度解释了蛋清碱诱导凝胶比皮蛋清组具有较高的硬度、内聚性和咀嚼性等凝胶品质特性。

2.3 蛋清碱诱导凝胶与皮蛋清蛋白质体系组分的差异性

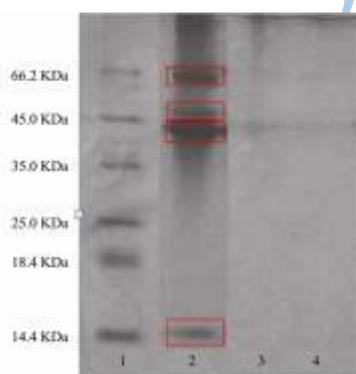


图1 蛋清碱诱导凝胶与皮蛋清蛋白质组分的电泳图

Fig.1 SDS-PAGE of fresh egg white, lime-preserved egg white and alkali-induced egg white gel

Note: 1: molecular weight standard; 2: fresh egg white; 3: egg white gel treated with 0.65% aOH; 4: lime-preserved egg white.

图1显示不同碱处理加工方式的蛋清凝胶蛋白质体系组分的差异。结果表明,两组碱处理加工的蛋清凝胶蛋白质电泳图都无任何蛋白质条带,表明蛋清中的蛋白质体系组分在两种不同碱处理下都发生明显变

性而形成凝胶,并且在蛋清凝胶形成过程中,可能大部分蛋白质发生了变性。该结果与Ganasen and Benjakul、Su and Lin和张蓉真等^[10,13-14]的研究成果相一致。

2.4 蛋清碱诱导凝胶与皮蛋清微观结构的差异性

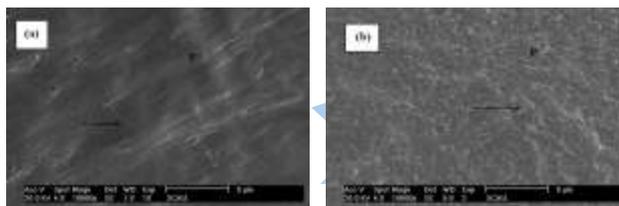


图2 蛋清碱诱导凝胶(a)与皮蛋清(b)的微观结构图

Fig.2 SEM (scanning electron microscopic) photograph of alkali-induced egg white gel (a) and lime-preserved egg white (b)

Note: Magnification: 10000 \times . Scale bar = 5 μ m; P = protein aggregate; arrow head = voids.

Mayer and Hood^[15]曾指出鸡蛋蛋白具有连续性纤维状的蛋白质网状结构特性,这些蛋白质的网状结构并不都是均质的,而是有许多空洞存在这些网状结构中。由图2所示,各碱处理组蛋清的蛋白质分子高度交联凝聚,形成致密的凝胶网络结构,该结果与Ganasen and Benjakul^[4,10]的研究成果相一致。Sun and Hayakawa^[16]报道蛋清凝胶的网络结构主要取决于环境条件,如pH,能显著影响体系中共价和非共价键的产生,进而影响蛋白质分子的空间结构的稳定性和蛋白质分子间的聚合。通过对比可知,蛋清碱诱导凝胶SEM图中蛋白质分子高度交联形成更加致密有序的网络结构,但凝胶结构中带有较少的不规则大孔洞;皮蛋清组SEM图显示蛋清凝胶稍微疏松的网络结构并带有较多的不规则小孔洞,而且蛋白质分子排列较为杂乱无序,这可能因为凝胶体系中pH的差异致使蛋清蛋白质分子间发生不同方式和程度的交联凝聚。

2.5 蛋清碱诱导凝胶与皮蛋清蛋白质二级结构的差异性

凝胶样品的傅氏转换红外光谱仪FT-IR (Fourier Transform infrared spectroscopy)测试图谱经选定波数范围1600~700 cm^{-1} 进行二阶导数拟合后如图3。

对上述蛋清凝胶谱图二阶导数拟合峰面积进行统计,以峰面积的百分含量,作为对应结构的百分含量,

结果如表 5。

表 5 蛋清碱诱导凝胶和皮蛋清蛋白质二级结构的差异性

Table 5 the variation of secondary structure constitution of alkali-induced egg white gel and lime-preserved egg white

加工方式	β_1 /%	β_2 /%	β /%	α /%	T/%	γ /%	$\alpha+\beta$ /%
	1600~1625	1690~1700	1626~1639	1650~1658	1660~1689	1640~1650	
蛋清碱诱导凝胶	12.38	-	31.24	14.52	23.48	18.39	45.76
皮蛋清	21.21	-	17.99	15.66	25.36	19.78	33.65

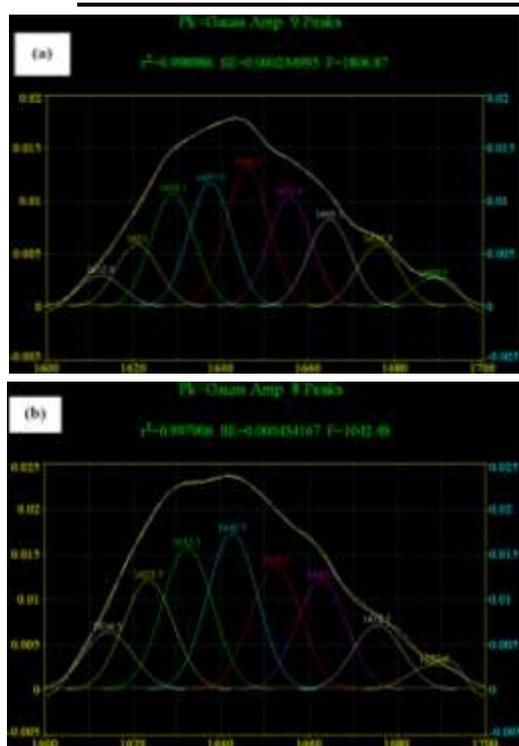


图 3 蛋清碱诱导凝胶 (a) 和皮蛋清 (b) FT-IR 1600~1700cm⁻¹ 拟合谱

Fig.3 FTIR curve fittingspectra of alkali-induced egg white gel (a) and lime-preserved egg white (b) (1600~1700cm⁻¹)

由表 5 可知，蛋清碱诱导凝胶中的蛋白质二级结构以 β -折叠为主， $\alpha+\beta$ 构象含量占总构象的 45.76%，表明蛋清凝胶体系中蛋白质分子内具有较强的氢键总相互作用，使蛋白质分子内构象连接紧密，并且具有较低的 T-转角和 γ 无规则卷曲含量，蛋白质分子交联规则而有序，形成稳定致密的凝胶网络结构（见图 2a），但 β_1 结构含量较低，表明蛋白质分子间的氢键相互作用低于皮蛋清组。皮蛋清组蛋白质二级结构以 T-转角含量最多，且具有较高的 β_1 和 γ 无规则卷曲结构，表明皮蛋清在加工过程中蛋清蛋白质通过分子间的强氢键作用交联形成凝胶网络结构，但凝胶结构略显粗糙，分子交联较为无序（见图 2b），且稳定性弱于蛋清碱诱导凝胶组，表现为稍差的凝胶品质（见表 3），此外，皮蛋清组蛋白质二级结构的 α -螺旋略高于蛋清碱诱导凝胶组，但其 β -折叠含量明显较低，且 $\alpha+\beta$ 构象含量占总构象的比例远低于蛋清碱诱导凝胶组，

进一步表明皮蛋清组蛋白质分子内的总氢键相互作用较弱，分子内结构连接不够紧密，一定程度地弱化蛋清凝胶网络结构。

3 结论

不同碱处理加工方式对蛋清凝胶制品的品质特性、化学作用力和蛋白质结构变化具有显著的影响。蛋清碱诱导凝胶比皮蛋清具有较高的硬度、内聚性、回复性、溶解度、表面巯基含量和二硫键含量，同时具有较低的总巯基含量和表面疏水性。蛋清蛋白质体系组分在两种碱处理方式下都发生明显变性。SEM 扫描电镜图表明蛋清碱诱导凝胶组蛋白质分子高度交联形成更加致密有序的网络结构。FT-IR 图谱表明蛋清碱诱导凝胶蛋白质二级构象以 β -折叠为主，分子内具有较强的氢键总相互作用，而皮蛋清蛋白质二级结构中 $\alpha+\beta$ 构象较低， β_1 、T-转角和 γ 无规则卷曲较大。

参考文献

- [1] 熊善柏,赵思明,侯畅,等.一种无壳皮蛋的制备方法及产品 [P].中国专利:CN101356979A,2009-02-04
Xiong X B, Zhao, SM, Hou C. et al. Preparation method and product of a non- shell preserved egg [P]. Chinese patent: CN101356979A, 2009-02-04
- [2] Hatta H, Hagi T, Hirano K. Chemical and physicochemical properties of hen eggs and their application in foods [M]. In "Hen Eggs: Their Basic and Applied Science". Eds. Yamamoto T, Juneja LR, Hatta H, Kim M. CRC Press: Tokyo, 1997, pp. 117-133
- [3] Ganasen P, Benjakul S. Physical properties and microstructure of pidan yolk as affected by different divalent and monovalent cations [J]. Food Science and Technology, 2010a, 43: 77-85
- [4] Ganesan P, Benjakul S. Influence of Different cations on chemical composition and microstructure of pidan white and yolk during pickling and aging [J]. International Journal of Food Properties, 2010b, 13(5): 1150-1160
- [5] Mine Y, Noutomi T, Haga N. Thermally induced changes in egg white proteins [J]. J. Agric. Food Chem., 1990, 38: 2122-

- 2125
- [6] Kaewmanee T, Benjakul S, Visessanguan W. Effects of salting processes and time on the chemical composition, textural properties, and microstructure of cooked duck egg [J]. *J. Food Sci.*, 2011a, 76(2): 139-147
- [7] Shimada K, Chefel J C. Determination of sulfhydryl groups and disulfide bonds in heat-induced gels of soy protein isolate[J]. *J. Agric. Food Chem.*, 1988, 36(1): 147-153
- [8] Alizadeh-Pasdar N, Li-Chan E. Comparison of protein surface hydrophobicity measured at various pH values using three different fluorescent probes [J] *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48: 328-334
- [9] Van der Plancken I, Van Loey A, Hendrickx M E. Effect of heat-treatment on the physicochemical properties of egg white proteins: A kinetic study [J] *J. Food Eng.*, 2006, 75: 316-326
- [10] Ganasen P, Benjakul S. Chemical composition, physical properties and microstruction of pidan white as affected by different divalent and monovalent cations [J]. *J. Food Biochem.*, 2011a, 35: 1528-1537
- [11] Kato A, Nakai S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins [J]. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1980, 624: 13-18
- [12] Mine Y. Recent advances in egg protein functionality in the food system [J]. *World's Poultry Sci. J.*, 2002, 58: 31-39
- [13] 苏和平,林庆文.碱处理对鸭蛋蛋白成分之影响[J].*中国畜牧学会会志*,1998,27(2):271-282
Su H P, Lin C W. Effect of alkalization treatment on the components of duck egg albumen [J]. *J. Chin. Soc. Anim. Sci.*, 1998, 27(2): 271-282
- [14] 张蓉真,刘树滔,林晓辉,等.皮蛋加工过程中蛋白质变化的研究[J]. *福建农业科技*,1998,1: 67-68
Zhang R Z, Liu S T, Lin X H, et al. Study on the change of protein during pidan processing [J]. *Fujian Agricultural Science and Technology*, 1998, 1: 67-68
- [15] Mayer R, Hood L F. The effect of pH and heat on the ultrastructure of thick and thin hen's egg albumen [J]. *Poultry Sci.*, 1973, 52: 1814-1817
- [16] Sun Y, Hayakawa S. Thermally induced aggregation in mixtures of α -lactalbumin with ovobumins from different avian species [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(5): 2511-2517