# 大豆伴球蛋白自组装纤维的乳化性质

#### 朱连昌, 唐传核

#### (华南理工大学轻工与食品学院,广东广州 510640)

摘要:大豆伴球蛋白(7S)在远离等电点热处理,会自组装成淀粉样蛋白纤维。本研究旨在开发 7S 自组装纤维在水包油乳液中的 应用潜力。研究采用 7S 在 pH 2.0 条件下 85 ℃热处理 3 h, 通过动态光散射(DLS)、硫磺素 T 荧光(Th T 荧光)和原子力显微镜(AFM) 观察,表明制备短棒状蛋白自组装纤维。利用未热处理的 7S 与热处理得蛋白纤维为稳定剂,研究了蛋白浓度(c)和油相比例(*ø*)对乳化 活性和储藏稳定性的影响。实验表明, c≥2.0%,蛋白纤维的乳化活性显著高于未热处理的 7S;这可能因为蛋白纤维的线性结构具有 更好的构象柔顺性,能高效的吸附在油水界面。c=6.0%, d<sub>43</sub> 在 *φ*=0.2~0.6 范围不受 *φ* 的影响。c≥4.0%,蛋白纤维的乳化稳定性显 著优于未热处理的 7S,且相对低聚合率(CI)及脂肪上浮率(CI%),使蛋白纤维表现出皮克林稳定剂的性质。这一发现为皮克林颗粒的 制备提供了一种新的方式。

关键词: 大豆 7S; 纤维聚集; 皮克林乳液; 乳化性质 文章篇号: 1673-9078(2016)3-56-61

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.3.010

# Emulsifying Properties of Self-assembled Fibrillar Aggregates of Soy

# β-Conglycinin

## ZHU Lian-chang, TANG Chuan-he

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China) **Abstract:** Soy  $\beta$ -conglycinin (7S) can self-assemble into any loid-like fibrils with heat treatment, at a pH distant from the isoelectric point. The aim of this study was to investigate the potential application of 7S self-assembled fibrils in oil-in-water emulsions. 7S was heated at 85 °C for three hours (pH 2.0). The product was analyzed by dynamic light scattering (DLS), thioflavin T (Th T) fluorescence assay, and atomic force microscopy (AFM). The results indicated that short, rod-shaped, self-assembled fibrils were successfully prepared. The influence of protein concentration (*c*) and oil fraction ( $\phi$ ) on the emulsifying activity and storage stability were studied using unheated 7S as well as 7S fibrils obtained from heat treatment as stabilizers. The results showed that at  $c \ge 2\%$ , the emulsifying activity of 7S-fibril was significantly higher than that of unheated 7S, which is probably since the linear fibrillar structure exhibits higher conformational flexibility and 7S-fibril can be effectively adsorbed onto the oil-water interface. At c = 6%, the droplet size ( $d_{4,3}$ ) was not affected by the  $\phi$  value within the range of 0.2 to 0.6. At  $c \ge 4.0\%$ , 7S-fibril showed much higher emulsifying stability than unheated 7S along with relatively low coalescence index (CI) and creaming index (*CI*%) as compared to unheated 7S. Thus, 7S-fibril exhibited the properties of Pickering stabilizer. The results of this study indicate a new approach for the preparation of Pickering-like stabilizer.

Key words: soy  $\beta$ -congly cinin; fibrillar aggregation; pickering emulsion; emulsifying property;

蛋白和多肽的两亲性分子结构,决定了其具有良好的乳化性和起泡性。蛋白分子能定向吸附和有序排列在两相界面,减小表面张力<sup>[1]</sup>。因此,大豆蛋白作为乳化剂广泛应用于食品的乳化和起泡体系。乳化性包括乳化活性和乳化稳定性两个方面。影响蛋白的乳收稿日期:2015-05-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31171632)

作者简介:朱连昌(1990-),男,硕士研究生,研究方向:植物蛋白研究与 应用

通讯作者:唐传核(1973-),男,博士,教授,研究方向:植物蛋白研究与 应用 化活性和乳化稳定性的因素很多,如蛋白浓度、pH、 离子强度和蛋白分子构象的柔顺性等<sup>[2]</sup>。

近年来自助装纤维引起食品工作者的广泛关注。 自组装(self-assembly)指构筑单元通过相互作用(如 疏水相互作用,氢键,静电斥力,范德华力等)自发 形成有序的高级结构的过程。根据 Tang<sup>[3]</sup>报道,蛋白 自组装纤维化聚集可认为分三步:(1)蛋白在远离等 电点条件下,加热变性,构象发生变化;(2)蛋白在 进一步加热时发生水解,形成基本的构建单元,开始 聚集形成晶核;(3)纤维化反应继续,形成更长的蛋 白纤维。蛋白的自组装一般可以形成宽度~4 nm,长 度 0.1~2 µm, 甚至更长的线性淀粉样纤维聚集体。

近年来,利用食品级纳米颗粒或聚集体制备皮克 林乳液的研究越来收到科研工作者的关注。Liu<sup>[4]</sup>通过 95 ℃热处理15 min,再加 300 mM NaCl制备了 SPI 纳米颗粒,由该颗粒稳定的乳液显示了良好的储存稳 定性。蛋白自组装纤维也是纳米尺度的食品级颗粒, 而当前蛋白纤维自组装的研究应用,主要集中在食品 添加剂(增稠剂,胶凝剂)方向,以及制备食品蛋白 纤维型凝胶<sup>[5]</sup>,关于蛋白自组装纤维作为乳化剂,研 究蛋白纤维聚集体的乳化性质的报道并未发现。

本研究以 7S 球蛋白为研究对象,首先在 pH 2.0 下 85 ℃加热,通过纤维化反应制备蛋白纤维聚集体; 然后通过改变蛋白浓度和油相比例,经高速剪切制备 乳液,研究热处理和未经热处理的样品的乳化活性及 乳化稳定性差异,进一步拓展蛋白自组装纤维的应用 研究。

1 材料与方法

#### 1.1 实验材料与仪器

低温脱脂大豆粕购于山东禹王公司; 食品级大豆 油,市售; ThT 购于美国 Sigma-Aldrich 公司; 其他 化学试剂均为分析纯。

Malvern Zetasizer Nano ZS 粒度仪, Malvern Mastersizer 3000, 英国 Malvern 公司; 荧光分光光谱 仪, 日本 HITACHI 公司; 原子力显微镜, 美国 Veeco 公司; T25 高速分散机, 德国 IKA; 光学显微镜, 中 国 Fhenix 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大豆 7S 球蛋白的制备

本文采用 Nagano 方法<sup>[6]</sup>从低温豆粕中得到大豆 7S 球蛋白,根据 Tang 的报道<sup>[7]</sup>,该方法制的得 7S 球 蛋白的纯度约为 75%,凯氏定氮测得样品总蛋白含量 89.75 ±1.13%。

## 1.2.2 7S 球蛋白的热处理

大豆 7S 球蛋白溶于蒸馏水,均匀搅拌 2 h (2M HCl 维持溶液 pH=2.0),水化过夜,10000 r/min×20 min 得的 6.0% (*m/V*)蛋白溶液。蛋白溶液使用前需 过膜 0.22 µm,过膜后的溶液,分装在不同玻璃瓶中 密封,一个置于 85 ℃水浴锅中加热 3 h。加热完毕, 立即取出并用冰浴冷却,进行下列实验。

### 1.2.3 ThT 荧光分析

将 8 mg Th T 溶于 10 mL 磷酸缓冲溶液(10 mM, pH 7.0, 150 mM NaCl)中制得 Th T 浓缩液,充分溶解

后过膜 0.22 μm。Th T 储液用 4 ℃的冰箱密封避光保 存,保存期不超过一周。实验前,用上述磷酸缓冲液 将浓缩液稀释 50 倍,制得工作液。将 30 μL 待测样 品与 5 mL Th T 工作液混合,震荡混匀后静置 2 min 后 进行测量。设定仪器的激发波长为 460 nm,发射波长 490 nm,狭缝间隙 5 nm,扫描范围为 470~600 nm。

1.2.4 动态光散射 (DLS)

动态光散射测量是在 Malvern Zetasizer Nano ZS 仪器上进行的。用过 0.22 µm 超滤膜的 pH=2.0 的蒸馏 水把待测样品稀释至 0.1% (*m*/V),取 1.3 mL 稀释液 加入到比色皿中,室温 25 ℃条件下测量。

1.2.5 原子力显微镜 (AFM) 观察

将待测样品,用过 0.22 μm 超滤膜的 pH 2.0 的蒸 馏水稀释至 2 μg/mL,取 2 μL 样品分散在干净的云母 片上,室温下风干后移至原子力显微镜观察。显微镜 采用轻敲模式 (Tapping Mode)成像,扫描探针为商 用氮化硅针尖,微悬臂常数 180 μm,力常数为 3.2 N/m。所有图像只经过自动平滑处理,以消除扫描方 向上的低频噪音。

1.2.6 乳液的制备

浓度为 6%的未热处理和热处理的蛋白溶液,用 过 0.22 µm 超滤膜的 pH 2.0 的蒸馏水稀释至 0.5%~6.0% (mN),加 0.01 %叠氮钠作防腐剂。乳液 的制备参考 Folter 方法<sup>[8]</sup>,T25 高速分散机 10000 r/min,同时缓慢加入油相至  $\phi$  =0.2~0.6,加完后继续 均质 2 min。最终,每个乳液样品体积为 20 mL。

1.2.7 乳液粒度分布 (d4.3)

乳液粒度分布在 Mastersizer 3000 仪器上进行,测 定新制乳液和乳液储存 7 d 后的粒度分布。参数设置: 大豆油滴折射率 1.456,分散剂折射率 1.330。pH 2.0 的水和 1% Tween-80 溶液为分散介质。

絮凝指数 (FI) 定义为: FI=[ (d<sub>4,3-water</sub>) / (d<sub>4,3-Tween</sub>) -1.0]×100 (2)

结合指数 (CI) 定义为: CI=[ (d<sub>43</sub>-Tween,7d<sup>-</sup>d<sub>4,3</sub>-Tween,0 d)/(d<sub>43</sub>-Tween,0d)]×100 (3)

1.2.8 脂肪上浮率 (CI%)

取 10 ml 新制备的乳液置于玻璃管(直径 1.5 cm, 高度 12 cm)中,于室温下贮藏。同时记录不同时间 的清液层高度(H<sub>s</sub>,下层)和总高度(H<sub>c</sub>)。

脂肪上浮率 (CI%) 定义为: Creaming Index (%) = (H<sub>s</sub>/H<sub>t</sub>)×100% (4)

1.2.9 乳液界面蛋白含量

取新制的乳液 1 mL 在 13000 r/min 离心 45 min, 用一次性注射器取出下层清液。取 100  $\mu$ L 清液用水稀 释至 1 mL, 然后 Bradford 法<sup>91</sup>测蛋白含量 ( $C_f$ )。 蛋白吸附率 AP(%)=(C<sub>0</sub>-C<sub>f</sub>)×100/C<sub>0</sub> (5)
界面蛋白浓度 Γ(mg/m<sup>2</sup>)= (C<sub>0</sub>-C<sub>f</sub>)×d<sub>3,2</sub>/6φ (6)
注: C<sub>0</sub>为乳液中总蛋白含量; φ为油相比例,本文中 φ=0.6;
d<sub>3,2</sub>为乳液表面平均半径。

1.2.10 统计分析

所有数据平行测定三次的平均值,作图用 Origin Pro 8.0 软件。

## 2 结果与讨论

## 2.1 动态光散射 (DLS)

光在非均一介质中传播时,一部分被吸收,一 部分被散射。蛋白溶液中,分子做布朗运动,散射光 能量频率变化,利用这一原理,DLS 可检测蛋白溶液 中的微小聚集体,散射的光强与聚集体的出现同步。 图 1a 显示,85 ℃热处理 3 h 的粒径体积分布较未热处 理的样品显著增大,说明 7S 球蛋白在 85 ℃热处理过 程中发生聚集,形成大量粒径 100 nm 左右的蛋白聚 集体。图 1b 显示,85 ℃处理 0 h 较 3 h 的蛋白样品, 颗粒的平均粒径(z-Average)也从 71.59±0.47 nm 增 大到 115.7±0.65 nm,证明热处理促使蛋白聚集,形成 粒径更大的聚集体。







球蛋白自组装纤维化显著特点之一是形成具有 很多β-折叠结构的淀粉样纤维<sup>[10]</sup>。硫磺素T(ThT) 是一种阳离子的苯并噻唑染料,与β-折叠结构结合后 荧光强度显著增强。图 2b显示,在热处理初期(0~30 min),最大荧光强度从1182±3.4到6654±71,至1h以 后保持平稳,表明7S在热处理0~1h阶段,β-折叠结 构数量显著增加,大量形成自组装的结构单元,随着 加热时间的延长(1~3h),纤维化反应继续,结构单 元自组装成有序的淀粉样纤维。

原子力显微镜 (AFM) 原理是根据样品表面和一 个微型力敏原件之间的原子间相互作用力大小,来反 映样品的形貌学特征。图 2a 的原子力显微镜照片显 示,85℃热处理 3 h,7S 自组装形成大量长度约为 100 nm,高度约为 1.5 nm 的短棒状纤维。图 2a 中还出现 了几个高度约为 3 nm 的团装结构,这可能是两条纤 维在垂直方向上发生重叠,经过探针扫描,表现为纤 维团状结构。





Fig.2 Panel a: AFM images of preheated and unheated 7S samples. Panel b: Changes in the Th T maximum fluorescence spectroscopic profiles of 7S sample during heating processing

Modern Food Science and Technology



图 3 蛋白浓度(0.5~6.0%)的未热处理 7S(a)和 7S-纤维(b) 乳液的粒度分布,(c)油滴平均粒径(d<sub>3</sub>)随蛋白浓度的变化 Fig.3 Typical droplet size distribution profiles of fresh

emulsions stabilized by unheated 7S (a) and preheated 7S (b) at c of 0.5% to 6.0%. c: c dependence of average droplet size d<sub>4,3</sub> 注: 显微镜照片标尺长度为 100 µm。

考察蛋白浓度对乳化活性的影响,将 c=6.0%的热处理和未热处理的 7S 蛋白溶液,pH 2.0 的水稀释至 0.5~6.0% (m/V),油相  $\phi$  =0.4;乳液粒度测量分散剂为 1% Tween-80 溶液。图 3A 为未热处理 7S 为稳定剂的乳液样品,总体来看,乳液粒径的体积分布随蛋白浓度增大(0.5~6.0%)而减小,平均粒径从 38.3±0.31  $\mu$ m 减小到 22.4±4.43  $\mu$ m,但减小的趋势并不显著。图 3B 为热处理 3 h 制得的蛋白纤维为稳定剂的乳液样品,蛋白浓度 0.5~4.0%,乳液粒度也主要集中在 10~100  $\mu$ m,而 c =6.0%时出现双峰,说明乳液存在部分粒径在 1  $\mu$ m 左右的油滴,平均粒径从 31.8±0.22  $\mu$ m

减小到 7.4±2.08 μm。Tang<sup>[11]</sup>研究发现蛋白吸附到油水 界面后,一般会发生结构重排,从而影响蛋白的乳化 性质,因此结构柔顺性是影响蛋白的重要因素。蛋白 纤维在高浓度时,乳化活性显著提高,可能是因为蛋 白纤维的线性结构柔顺性更好,能够更高效的吸附来 稳定油水界面。

2.3.2 油相比例 ( ø ) 对乳化活性的影响

除了蛋白浓度,  $\phi$  也会显著影响乳液平均粒径  $(d_{43})^{[4]}$ 。本文研究了蛋白浓度为0.5%、2.0%、6.0% 时,  $d_{43}$ 随 $\phi$ 的变化趋势。研究发现, 每组样品的 $d_{43}$ 都随着蛋白浓度的增加而下降,这也证明了2.3.1中的 结论。图 3a 显示蛋白浓度为0.5%,  $\phi$ 从0.2~0.6,  $d_{43}$ 从 27.1±3.37 µm 增加到48.6±2.08 µm; 而 c = 6.0%,  $d_{43}$ 随 $\phi$ 的变化而无显著变化,这一现象也可以从乳液 的显微镜照片直观得到。其原因可能为: c = 0.5 %时, 蛋白颗粒数量不足以覆盖油水界面, 油水界面界面张 力较大, 油滴合并使粒径变大, 表现为 $d_{43}$ 随 $\phi$ 增大 而增大; 而c = 6.0%时蛋白颗粒足以稳定油水界面, 油滴处于稳定状态,  $d_{43}$ 随 $\phi$ 变化并不显著。



#### Modern Food Science and Technology

#### 2016, Vol.32, No.3



图 4 未热处理 7S (a, c) 和 7S-纤维(b, d) 稳定的乳液平均粒 径  $(d_{4,3})$  随 c 和  $\phi$  的变化及微观结构图; 显微镜照片标尺为 100 µm

Fig.4 Changes in the average droplet size  $(d_{4,3})$  of fresh emulsions stabilized by unheated 7S (a, c) and 7S-fibril (b, d) 7S at varying c or  $\phi$  values and corresponding microstructure images. The scale bar in the microscope image indicates 100 µm

#### 2.4 乳化稳定性

## 2.4.1 蛋白浓度对乳化稳定性的影响

乳液是热力学不稳定体系,油水两相会向自由能

最小的状态移动[12]。油滴间的絮凝和聚合是破坏乳液 稳定体系的主要方式。针对油滴的絮凝和结合,在  $\phi$ =0.6研究蛋白浓度对乳化稳定性的影响。研究发现, 蛋白纤维稳定的乳液样品,随着蛋白浓度的增加 (0.5~6.0%), FI 显著增加(61.36~361.23), 其原因 可能为吸附到油水界面的蛋白纤维之间相互作用,促 进了油滴絮凝。乳液室温储藏7d后,由蛋白纤维稳 定的乳液样品 FI 显著高于未热处理 7S 稳定的乳液样 品,而CI值显著低于未热处理7S稳定的乳液样品, 尤其 *c* = 6.0% (FI: 932.03>383.44, CI: 10.14<40.37), 这一现象与 Liang<sup>[13]</sup>报道的 PPI 做皮克林稳定剂一致。 说明, c=6.0%, 蛋白纤维表现出皮克林颗粒的性质。

蛋白吸附率(AP%)随着蛋白浓度增加而增加, 界面蛋白浓度也表现出相同的趋势。但热处理制得的 蛋白纤维为稳定剂的乳液样品中,蛋白浓度 2.0~ 6.0%,界面蛋白浓度从 10.45 mg/m<sup>2</sup> 降到 4.45 mg/m<sup>2</sup>, 造成这一现象的原因为, c =6.0%表面平均粒径 d3.2 =3.05 µm, 远小于 c = 2.0% 的 d<sub>32</sub> = 23.4 µm, 因此具有 更大的比表面积。

表 1 蛋白浓度(0.5~6.0 %) 对新制和储存 7 d 的乳液平均粒径(d3)、FI、CI和界面蛋白浓度的影响

Table 1 Effect of c values (0.5% to 6.0% [m/V]) on the average droplet size (d43), flocculation and coalescence indices (FI and CI), and protein concentration at the interface of fresh emulsion (0 d) and the emulsion stored for seven days

			$d_{4,3}$	ım		F	<b>F</b> I		Interfacial p	rotein adsorption
	с%	0 d		7 d		b d	7.4	74	A D0/	$\Gamma/(mg/m^2)$
		2.0-water	1%Tween	2.0-water	1%Tween	0 u	7 u	7 u	AF %	1/(mg/m)
Unheated 7S	0.5	63.2±7.01	48.6±2.08	411.7±51.35	191.4±10.40	30.14	114.93	293.83	71.61	4.23
	2	70.8±5.66	29.7±1.70	168.3±17.13	61.4±5.43	138.42	174.13	106.91	84.37	11.05
	6	98.4±27.31	17.4±1.13	117.8±21.28	24.4±7.25	465.55	383.44	40.37	90.23	17.16
Fibrils	0.5	95.7±5.53	59.3±1.76	327.1±4.91	124.7±8.31	61.36	162.31	110.29	73.28	3.78
	2	71.1±9.85	31.7±2.08	209.3±34.35	46.4±4.31	124.33	351.09	46.37	80.35	10.45
	6	63.6±13.47	13.8±1.55	156.9±6.29	15.2±1.03	361.23	932.03	10.14	87.52	4.45

2.4.2 脂肪上浮率(CI%)

乳液油滴间絮凝和结合,会形成更大的油滴聚集 体,由于油与水密度差异,所以迅速出现分层,形成 脂肪上浮现象。图 5 给出了蛋白纤维和未热处理 7S (*c*=0.5~6.0%)在 *o*=0.4 的脂肪上浮情况。图 5A 显 示, 未热处理 7S (c =0.5~6.0%) 稳定乳液储存一段时 间都出现不同程度的脂肪上浮,并在第3天均达到最 大值,脂肪上浮率也随蛋白浓度的增加而降低,但结 果并不显著。下层水相清澈,与油相有明显的分界面。 而图 5b 显示, c<2.0%时,呈现和图 5a 相同情况;相 反 c≥4.0% 时,乳液在开始几天很稳定,甚至在第7天 才开始出现脂肪上浮的现象,且下层水相浑浊,分界 面不清晰,表现出良好的乳化稳定性。这一现象的原 因可能为,高浓度蛋白纤维稳定的乳液粘度较大,在 一定时间内阻碍脂肪上浮。可见,随着蛋白浓度的增 大,乳液的稳定性增强,蛋白纤维较未热处理 7S 表 现更好的乳化稳定性,与表1数据一致。

#### 结论 3

本文研究了大豆 7S 球蛋白 (6%, m/V) 在 pH 2.0, 85 ℃热处理 3 h, 自组装形成大量长度约为 100 nm, 高度约为 1.5 nm 的短棒状纤维。以制得的蛋白纤维与 未热处理的 7S 为稳定剂,制备水包油乳液。研究通 过考察乳化活性和乳化稳定性,对比了蛋白纤维与未 热处理的7S的乳化性质。研究结果表明, c≥2.0%时, 蛋白纤维的乳化活性显著高于未热处理的 7S; 且在 c=6.0%时, d₄3 在 φ =0.2~0.6 范围不受油相比例的影 响。这可能因为蛋白纤维的线性结构柔顺性更好,能 高效的吸附在油水界面。在 c≤2.0%时,蛋白纤维和未 热处理的 7S 制备的乳化稳定性差异不大;但在 c≥4.0%,蛋白纤维的乳化稳定性显著优于未经热处理 的样品,且相对低结合率(CI)及脂肪上浮率(CI%), 使蛋白纤维在 c≥4.0%表现出皮克林稳定剂的性质。





Fig 5. Evolution of percentage of creaming index (CI%) for the emulsion stabilized by unheated 7S (a) & 7S-fibril (b) at a comparable *c* value of 0.5~6.0%. The Specific  $\phi$  value of 0.4.

参考文献

- Foegeding E A, Davis J P. Food protein functionality: A comprehensive approach [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(6):1853-1864.
- [2] Shen L, Tang C H. Role of conformational flexibility in the emulsifying properties of bovine serum albumin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2013, 61: 3097-3110
- [3] Liu J, Tang CH. Heat-induced fibril assembly of vicilin at pH 2.0: Reaction kinetics, influence of ionic strength and protein concentration, and molecular mechanism [J]. Food Research

International, 2013, 51: 621-632

- [4] Liu F, Tang C H. Soy protein nanoparticle aggregation as pickering stabilizers for oil-in-water emulsion [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2013, 61: 8888-8898
- [5] Tang C H, Wang C S. Formation and characterization of amyloid-like fibrils from soy β-conglycinin and glycinin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58: 11058-11066
- [6] Nagano T, Hirotsuka M, Mori H, et al. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybeans [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(6): 941-944
- [7] Luo L J, Liu F, Tang C H. The role of glycinin in the formation of gel-like soy protein-stabilized emulsions [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 32: 97-105
- [8] de Folter J W, van Ruijven M W M, Velikov K P. Oil-in-water Pickering emulsions stabilized by colloidal particles from water- insoluble protein zein [J]. Soft Matter. 2012, 8: 6807-6815
- [9] M A Redmile-Gordon, E Armenise, R P White, et al. A comparison of two colorimetric assays, based upon Lowry and Bradford techniques, to estimate total protein in soil extracts [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 67: 166-173
- [10] Oboroceanu D, Wang L, Brodkorb A, et al. Characterization of β-lactoglobulin fibrillar assembly using atomic force microscopy. polyacrylamide gel electrophoresis, and in situ Fourier transform infrared spectroscopy [J]. Journal of Agricultural and food Chemistry, 2010, 58(6): 3667-3673
- [11] Tang C H, Shen L. Role of conformational flexibility in the emulsifying properties of bovine serum albumin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2013, 61: 3097-3110
- Tcholakova S, Denkov N D, Ivanov I B, et al. Coalescence stability of emulsions containing globular milk proteins [J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2006: 123-126, 259-293
- [13] Liang H N, Tang C H. Pea protein exhibits a novel Pickering stabilization for oil-in-water emulsions at pH 3.0 [J]. Food Science and Technology, 2014: 1-7