

物理、化学、生物法处理蛋黄颗粒对其乳化特性影响的研究进展

杨建荣¹, 吴越¹, 焦涵², 刘嘉涵¹, 吕建浩¹, 李鑫^{1*}

(1. 烟台大学生命科学学院, 山东烟台 264005) (2. 安徽荣达食品有限公司, 安徽广德 242200)

摘要: 蛋黄颗粒 (Egg Yolk Granules, EYGs) 是蛋黄经过稀释离心后的沉淀部分, 因其主要成分为脂蛋白, 所以具有一定的乳化性能。天然颗粒的乳化性能由于其内部结构的影响, 乳化性能较差, 但经过不同方式处理后可使其乳化性能得到明显改善。然而到目前为止, 关于蛋黄颗粒乳化性能的改善方式和效果等仍缺乏深入探讨和系统总结。基于此, 该研究综述了几种较为广泛的处理方式, 包括机械处理、加热处理、外源添加处理、化学处理和酶法处理等对蛋黄颗粒乳化性和乳化稳定性的改善效果, 发现大部分方法均可不同程度增强蛋黄颗粒的乳化性或乳化稳定性, 且作用机制不尽相同。该研究阐述了各种处理方式对蛋黄颗粒结构、乳化性能的影响及其作用机制, 为改善蛋黄颗粒乳化性能、明确作用机理提供了理论参考。同时, 对蛋黄颗粒的发展方向提出展望, 以期提高蛋黄颗粒在未来食品领域中的应用价值。

关键词: 蛋黄颗粒; 不同处理; 乳化性; 乳化稳定性

文章编号: 1673-9078(2022)12-129-138

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.12.0498

Research Progress in the Emulsifying Properties of Egg Yolk Granules after Physical, Chemical, and Biological Treatments

YANG Jianrong¹, WU Yue¹, JIAO Han², LIU Jiahao¹, LYU Jianhao¹, LI Xin^{1*}

(1. College of Life Science, Yantai University, Yantai 264005, China)

(2. Anhui Rongda Food Co. Ltd., Guangde 242200, China)

Abstract: Egg yolk granules (EYGs) are the precipitate of egg yolk obtained after dilution and centrifugation. These precipitates possess certain emulsifying properties owing to their main component, lipoproteins. Although the emulsifying properties of natural granules are relatively poor due to their internal structures, they can be significantly improved after different treatments. However, insightful discussion and systematic summary are still lacking in this field. In this article, several widely used methods, including mechanical, heat, exogenous addition, chemical, and enzymatic treatments, to improve the emulsifying properties and emulsion stability of EYGs are reviewed; their action mechanisms are found to be different. In order to provide theoretical references for improving the emulsifying properties of EYGs and determine the action mechanisms, the structures and emulsifying properties of EYGs after different treatments are expounded in this article. Moreover, the development directions of EYGs are proposed, aiming to improve their application value in future food systems.

Key words: egg yolk granules; different treatments; emulsifying activity; emulsion stability

引文格式:

杨建荣, 吴越, 焦涵, 等. 物理、化学、生物法处理蛋黄颗粒对其乳化特性影响的研究进展[J]. 现代食品科技, 2022, 38(12): 129-138

YANG Jianrong, WU Yue, JIAO Han, et al. Research progress in the emulsifying properties of egg yolk granules after physical, chemical, and biological treatments [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(12): 129-138

收稿日期: 2022-04-22

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2021QC065); 烟台大学博士科研启动基金资助项目 (SM20B61)

作者简介: 杨建荣 (1970-), 女, 副教授, 研究方向: 食品分析与蛋白性质, E-mail: edelweissyjr@163.com

通讯作者: 李鑫 (1989-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 蛋白质功能特性, E-mail: nallyxin@163.com

蛋黄结构复杂且致密, 不易分离。研究者们曾尝试多种方法对其进行分离, 例如分馏法、加热法、超临界流体萃取法^[1-3]。但这种方式分离得到的蛋黄组分, 其安全性有待考证。分馏法存在的弊端显而易见, 即有机溶剂残留问题; 加热会导致蛋黄中高浓度的蛋白质发生变性; 超临界流体萃取法由于成本较高, 在制备蛋黄组分时也不宜采用^[4]。因此, 从工业化角度

出发, 考虑操作难易程度及成本高低, 蛋黄颗粒和蛋黄浆质是目前蛋黄经过分离后最易获得的两种组分, 且稀释离心法是最好的分离方法^[5,6], 制备流程如图 1 所示。

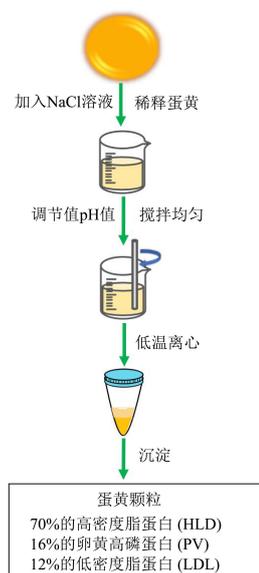


图 1 蛋黄颗粒的制备方法^[6]

Fig.1 Preparation of egg yolk granules

通过稀释离心法可将蛋黄分成两部分^[7]-浆质(上清部分)和颗粒(沉淀部分)。蛋黄颗粒中的蛋白质未被破坏, 仍保持着天然属性。颗粒主要由 70% 的高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL)、16% 的卵黄高磷蛋白 (phosvitin, PV) 和 12% 的低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL) 组成^[8,9]。乳化性是指油相和水相结合在一起形成乳状液的能力^[10]。研究发现, 经适宜的方法处理后, 颗粒具有比蛋黄和浆质更优越的乳化性, 因此有望成为食品中的乳化剂^[11]。由于乳化剂具有一端亲水, 另一端亲油的性质, 因此可以在界面定向排列, 从而阻止液滴的聚集并降低界面张力, 使乳状液趋于稳定^[12-14]。之前的研究一直认为蛋黄颗粒的乳化性能较差^[15,16], 直到有研究人员从 Pickering 乳状液的角度考虑, 发现与传统的化学乳化剂相比, 这种食品级的生物大分子颗粒具有更好的生物降解性、更高的安全性和良好的乳化性^[17]。

此外, 传统的乳化剂在其稳定的界面上吸附能力差, 具有可逆性, 而对于 Pickering 乳液来说, 颗粒可以在界面上形成物理屏障, 从而阻止界面的相互作用和液滴聚集。这种吸附是不可逆的, 因此具有更高的稳定性^[18-20]。在蛋黄中, 起主要乳化作用的是脂蛋白, 尤其是 LDL^[21]。它对于乳状液的形成和稳定发挥了重要作用^[22]。通常认为 LDL 在与油-水界面接触时会分解, 脂质核心会与油相发生结合^[23], 载脂蛋白和磷脂在界面上扩散并快速吸附形成一层薄膜^[24,25], 从而使

乳液保持稳定。蛋黄颗粒的乳化性能取决于其到达油-水界面的速度和覆盖界面的能力。在这方面, 天然蛋黄颗粒的乳化性能不如蛋黄浆质, 首先是因为其 LDL 含量低于浆质部分, 其次它的主要成分是由 PV 连接的球状蛋白质形成的相对较大的聚集体, 所以表面活性较低, 很大程度上限制了它的应用。因此, 许多研究人员尝试通过不同的方法对蛋黄颗粒进行处理来改善其乳化性能^[25,26]。基于此, 本综述的目的旨在比较不同处理方式对蛋黄颗粒结构和乳化性能的影响, 并挖掘蛋黄颗粒在食品中的潜在应用价值。具体改善方法如下。

1 机械处理法

目前机械处理法改善蛋黄颗粒乳化性能主要是指高强度超声处理。谢云霄^[27]研究发现在一定强度的超声处理下, 蛋黄颗粒会发生解离, 从而破坏蛋白质分子中的二硫键并释放游离巯基。同时, 超声过程中产生的自由基会与巯基发生反应, 产生新的二硫键或将巯基氧化, 最终导致游离巯基含量减少^[28,29]。蛋黄颗粒也由最初紧密的聚集体变为了规则的小型聚集体。另外, 磷酸钙桥^[30]的部分解离和颗粒的粒径降低都可以使颗粒更快、更稳地吸附于油-水界面, 因此乳化性也比未处理前提高了 9.54%。高强度超声处理一方面可以降低蛋黄颗粒粒径大小, 另一方面可以促使颗粒中少量的 LDL 得到释放, 所以颗粒乳化性增强, 但乳化稳定性未得到明显改善^[31]。

除了单独的超声处理方式, 唐世涛^[32]采用了超声联合枯草杆菌蛋白酶的方法对处理前/后的蛋黄颗粒 (Natural Granules/Ultrasonic Enzymatic Granules, NG/UEG) 所稳定的乳液乳化稳定性的变化进行了比较分析。通过扫描电镜 (Scanning Electron Microscope, SEM) 的观察发现, 蛋黄颗粒内部含有大量的 HDL, 因此 NG 和 UEG 均表现为密集的球形结构^[33], 但 NG 的整体结构紧紧相连, 组成了一个大的聚集体。经过超声联合酶解处理后, NG 的颗粒间相互作用发生改变, 导致 UEG 的结构较为松散, 颗粒间的积聚使得整体呈现簇状结构。此外, 在颗粒蛋白浓度相同时, 与 NG 相比, UEG 的乳化稳定性更高, 这说明超声联合酶解显著增强了蛋黄颗粒的乳化稳定性。但当颗粒蛋白质质量分数达 0.4% 后, 由于超过了乳液的乳化稳定性的变化浓度, 即超过了蛋黄颗粒的临界乳化浓度, 受乳滴界面面积或粒径的稳定性以及乳滴间的网络结构的影响, 多余的颗粒在水相中分散, 从而使乳液的粘度发生增加, 并减慢了液滴的移动速度, 因此乳液的重力不稳定现象发生减少^[34,35], 最终导致 UEG 的乳化稳定

性不再发生改变。乳化稳定性指数 (Emulsification Stability Index, ESI) 是乳液抵抗不稳定性变化 (如沉积或凝结等) 并保持分散的能力, 是衡量乳状液稳定状态的指标之一^[36]。总体上看, UEG 的乳化稳定性受颗粒蛋白浓度的影响更大, 随着颗粒蛋白浓度的升高, NG 稳定的乳液的 ESI 值始终处于稳定; 而 UEG 稳定乳液的 ESI 值增长了近 9.3 倍。这表明超声联合酶解处理对于蛋黄颗粒乳化稳定性具有明显的改善作用。

此外, 毕雅雯^[37]以超声辅助大豆分离蛋白 (Soy Protein Isolate, SPI) 对蛋黄颗粒结构变化和乳化性能的改善作用进行了分析研究。从显微镜中观察到, 经超声处理后, 蛋黄颗粒-SPI 复合乳液具有更小的球形液滴尺寸且分布更均匀, 基本没有聚集。这表明超声处理诱导蛋黄颗粒发生部分解离, 减小了颗粒的粒径, 因此颗粒能快速吸附于油-水界面^[38]。同时, 蛋黄颗粒-SPI 复合乳液的 Zeta 电位绝对值和表面疏水性增加也使保持界面稳定的能力得到提高^[39]。乳化活力指数 (Emulsification Activity Index, EAI) 指蛋白质吸附在油-水界面并促进乳液形成的能力^[40,41]。超声处理诱导的解离过程中释放少量 LDL 与 SPI 发生了相互作用, 使界面的蛋白质发生重排^[42], 最终蛋黄颗粒-SPI 复合物的 EAI 值和 ESI 值约提高了 0.43 mg/mL 和 246 min, 这表明 SPI 辅以超声处理可以有效改善蛋黄颗粒的乳化性和乳化稳定性。

因此, 可以通过超声处理、超声结合酶解协同作用或超声辅助大豆分离蛋白来改善蛋黄颗粒的乳化性能。

2 加热处理法

巴氏杀菌是蛋品生产中最常用的热处理手段, 因此, 巴氏杀菌处理后蛋黄颗粒乳化性能的变化情况也是多数研究人员关注的热点。例如 Denmat 等^[11]将巴氏杀菌处理前后的蛋黄颗粒的乳化性能进行了详细研究。发现在未经处理前, 用颗粒制备的乳状液粒径 (d_{50})、乳液析出的油量与加入的油量之比^[43], 即乳析率和最终油体积在乳液中的占比均较低, 因此颗粒具有更好的乳化性和乳化稳定性。当热处理温度在 55 °C~76 °C, 加热时间为 150 s 时, 颗粒稳定的样品的 d_{50} 值、乳析率和最终油体积在乳液中的占比均未发生明显改变, 因此加热未对其乳化性能产生影响。总之, 在此温度区间, 颗粒具有更高的耐热性, 且乳化性和乳化稳定性均没有发生显著变化。因此, 颗粒有望在食品乳状液方面成为蛋黄的良好替代品。

此外, Anton 等^[44]比较了 NG 与破碎颗粒 (Disrupted Granules, DG) 的乳化稳定性在热处理前后的变化。结果发现, 用 NG 和 DG 制备的两种乳液

在 55 °C~79 °C 区间进行加热 150 s 时, 乳液的乳析率和最终油体积在乳液中的占比均未发生变化。这说明在此加热温度和时间条件下, 二者稳定的乳液的乳化稳定性未受到热处理的影响。但当温度达到 82 °C, 加热 150 s 时, 起着决定性作用的蛋白质发生了变性, 用 DG 制备的乳液乳化率有明显的上升趋势, 乳液产生了大量的分层。Kiosseoglou 等^[45]证明蛋白质变性数量与乳化性稳定性呈反比关系, 因此其乳化稳定性发生了降低^[46]。但是采用巴氏杀菌对蛋黄颗粒进行加热时, 无论是 NG 还是 DG, 经过聚丙烯酰胺凝胶电泳结果显示, LDL 和 α -HDL 均发生相同程度地变性, 而 PV 和 β -HDL 则均不发生变性, 这说明蛋黄颗粒的天然结构在巴氏杀菌条件下并不会直接引起所有蛋白质变性。因此, 可将热处理后 DG 乳化性的变化归因于颗粒中蛋白组分 LDL 和 α -HDL 的变性。

苏宇杰等^[47]关于热处理强度对蛋黄颗粒乳化性及结构的影响也进行了详细研究。结果表明, 短时间的热处理对蛋黄颗粒乳化性几乎没有影响, 但持续的升温使 HDL 发生部分变性, 降低了蛋白在油-水界面的吸附能力, 从而降低了颗粒的乳化性。而当颗粒中蛋白质的二级结构被破坏, 蛋白质分子由原来有序的紧密结构变成无序的松散结构时, 蛋白在油-水界面的吸附能力增强, 颗粒的乳化性及乳化稳定性也得到了相应增强^[21]。随着时间的延续, 当温度达到 65 °C 时, 因为 HDL 变性引起的乳化性下降与蛋白质无序排列而造成的乳化性增强处于平衡状态, 所以颗粒的乳化性趋于稳定。而当加热温度为 68 °C, 加热时间为 8 min 时, 蛋白质的无序排列大幅增强, 颗粒的 EAI 值约提高了 0.06。但随着时间的持续, HDL 变性引起的乳化性下降超过了蛋白质无序排列而造成的乳化性增强, 导致 EAI 值约降低 0.04, 但产生的蛋白质聚集体增强了蛋白的表面疏水性, 使颗粒在油-水界面上的吸附能力提高^[48], 因此具有稳定乳液的作用, 最终 ESI 值增加了 2.1。因此, 短时间的相对低温处理对蛋黄颗粒的乳化性和乳化稳定性影响不大, 但持续的高温处理会使颗粒乳化性降低, 乳化稳定性提高。

总体而言, 蛋黄颗粒具有较高的耐热性, 较温和的处理温度和短时间的加热环境对颗粒的乳化性和乳化稳定性影响不大, 但加热温度为 68 °C 且长时间加热时, 颗粒的乳化性会先升高后降低, 乳化稳定性增强; 而当温度达到 82 °C 时, 即使是短时间的加热, 也会使颗粒的乳化稳定性发生明显降低。

3 外源添加处理

外源添加对蛋黄颗粒乳化性能的改善效果也较为

显著^[49,50]。目前研究中主要使用的外源添加物包括亲水胶体、卵磷脂、植酸和 SPI 四类,但它们对颗粒乳化性能的改善作用机制并不相同。

3.1 添加亲水胶体

Ibanoglu 等^[51]对加入亲水胶体(离子型果胶和非离子型瓜尔胶)后蛋黄颗粒的乳化性进行了观察。研究发现,加入果胶后的颗粒,其乳化性和稳定性未发生明显改变;而加入瓜尔胶后,水相粘度的增加使液滴保持分散的状态并防止乳状液分层,且由于瓜尔胶具有更高的增稠能力,因此对乳状液的稳定作用更显著。

3.2 添加卵磷脂

卵磷脂是非常重要的表面活性物质^[52]。Shen 等^[53]利用大豆卵磷脂去探索其对 NG 和 DG 所造成的影响。试验观察到,NG 的聚集状态不规则,轮廓尺寸较大,加入卵磷脂后尺寸逐渐减小,有大颗粒的存在,分散系数增加,而 DG 的尺寸较小,没有观察到颗粒,而且 NG 和 DG 的溶解度均随着卵磷脂浓度的增加而增大。乳析指数(Creaming Index, CI)是下层清液的高度与乳液总高度的比值,CI 值越小,乳化性稳定性越好^[54,55]。加入卵磷脂后,DG 和 NG 的乳化稳定性由于颗粒和卵磷脂的协同作用均得到了增强,但用 NG 制得的乳液的 CI 值明显更高,说明 NG 的乳化稳定性不如 DG 的。而随着卵磷脂浓度的增加,大量蛋白质通过竞争吸附^[56]从液滴表面转移,导致乳液因表面活性剂诱导的耗竭絮凝而不稳定,DG 和 NG 的乳化稳定性都呈现出降低的趋势,因此过量的卵磷脂会导致乳化稳定性降低。另外,由于 DG 制得的乳液的 d_{50} 值更小,所以其乳化性更好。因此,添加卵磷脂可以显著增强蛋黄颗粒的乳化性能,但要注意剂量的使用。

3.3 添加植酸

另外,植酸也会增强蛋黄颗粒的乳化稳定性^[57]。植酸改性后的颗粒呈紧密连接的片状结构,且不再聚集。植酸的加入,不仅破坏了 NG 的钙桥结构使其更易溶,而且还会与释放出的可溶性物质发生静电结合,形成难溶的复合物。随着植酸浓度的增加,颗粒稳定的乳液的 CI 值不断下降,在植酸浓度为 0.2% 时,颗粒的 CI 值约降低 11.3。而且,由于植酸和乳液粘度的增加削弱了液滴的移动和聚合,使液滴的 d_{50} 值变小,从而有效地提高了乳液的稳定性。

3.4 添加 SPI

向蛋黄颗粒中添加 SPI 后^[37],显微镜下观察蛋黄颗粒-SPI 复合乳液具有更小的液滴尺寸,且液滴的聚集情况减慢。此外,蛋黄颗粒-SPI 复合物具有比颗粒更小的粒径,因此在界面上具有更强的吸附能力,EAI 值增加了近 0.11 mg/mL。SPI 和蛋黄颗粒蛋白共同吸附于油-水界面^[58],增大了油滴的表面电荷,使液滴间的排斥力增加并阻止了液滴的聚集^[59],形成界面膜稳定乳液^[60],改善了乳液的稳定性^[61],其 ESI 值约增加 6%,这说明加入 SPI 后,颗粒的乳化活性和乳化稳定性均得到提高。

4 化学处理法

4.1 盐处理

由于蛋黄颗粒中磷酸钙桥的存在,在低离子强度下,颗粒的结构稳定,不易溶解^[15,33];而当 NaCl 的浓度超过一定数值后,磷酸钙桥中的 Ca^{2+} 被 Na^+ 取代,HDL 和 PV 溶解^[15],钙桥发生分裂,从而使颗粒的溶解度增强,起到改善颗粒乳化性能的作用。

Anton 等^[62]通过 NaCl 处理蛋黄颗粒,对处理前后的 NG 和 DG 乳化性能进行了比较。结果发现,盐处理破坏了颗粒中的不溶性聚集体,解离出的可溶性物质(如 HDL 和 PV 等),使颗粒在油-水界面上的吸附能力和蛋白溶解度^[63]得到增强。当蛋白质质量分数从 0.15% 增加到 1.5% 时,用 NG 制备的乳液的乳化率始终高于 60%,而 DG 制备的乳液的乳化率降低了 23%。

同时,DG 稳定的液滴的 d_{50} 值很小,且盐离子对界面膜上的电荷具有屏蔽作用,会降低电荷间的排斥力并增强表面活性剂分子间的相互作用^[64],由于表面活性剂之间的相互作用通常会增强乳液液滴的稳定性,因为更刚性和结构化的层往往会抑制聚结,因此 DG 的乳液比 NG 的更能抵抗聚结。所以,除了 0.15% 的蛋白质浓度外,DG 的乳化性和乳化稳定性更强。

用 NaCl 将蛋黄颗粒中的 PV 进行提取后^[65],剩余颗粒由原来的紧密堆积结构变为了松散的单球形结构^[21,63]。因此,剩余颗粒与 NG 之间的性质存在很多差异。在低蛋白浓度下,由于 HDL-PV 复合物解离后的结构增强了剩余颗粒在油-水界面的吸附能力,所以剩余颗粒的 EAI 值高于全颗粒约 5.9 m²/g,甚至在 0.5% 浓度下,其 EAI 值与蛋黄的相近,因此剩余颗粒具有更高的乳化性。一段时间后在 500 nm 处的吸光度(A)反映了样品的乳化稳定性,吸光度越高,稳定性越强。在高蛋白浓度下,由于界面处样品的组成、表面活性和结构性质的不同^[66],剩余颗粒的 A 值高于 NG 约 0.18。同时,剩余颗粒中的 HDL 由于解离的发

生而具有优越的延展性,可更好地铺开稳定乳液,所以在此浓度下,剩余颗粒具有更高的乳化稳定性。

Mi 等^[67]发现 NG 是高度聚集的,随着 NaCl 浓度的增加,颗粒逐渐瓦解成小而均匀的聚集体。在低离子强度下,由蛋黄颗粒稳定的高内相乳液呈现出液体状浓缩乳液。液体形式的高内相乳液在实际应用中被认为是不稳定的^[68]。而在 NaCl 浓度超过 0.1 mol/L 时,由颗粒稳定的高内相乳液表现为凝胶状乳液,可以倒挂在瓶底而不会滑落。同时,颗粒稳定的高内相乳液的 d_{50} 值也发生了减小,这说明由于离子强度的增加,蛋黄颗粒逐渐从不溶性聚集体解离成更小的可溶性胶束,即相对的增加 NaCl 的浓度,可以使蛋黄颗粒的乳化稳定性增强^[69]。此外,解离后得到的 LDL 和 HDL 更容易被油水界面吸附^[63]。这也验证了 Laca 等^[8]报道的盐处理后的颗粒在形成和稳定水包油乳液方面比 NG 更有效。

另外, Gmach 等^[70]也发现,盐处理会造成颗粒的解离,使其获得更高的溶解度^[15,71],并且颗粒稳定的乳液的 d_{50} 值显著降低,从而增强乳化性。此外,NaCl 浓度的增加会加大溶液中离子的数量,导致活性组分的表面电荷被屏蔽,使表面活性剂之间的吸引力和膜的厚度增强。因此,粒径的减小也进一步证明了在合理范围内升高盐浓度有助于乳化稳定性的增强。

因此,在一定的浓度和时间范围内,盐处理可有效改善蛋黄颗粒的乳化性能。

4.2 酸碱处理

在不同的 pH 值条件下,蛋黄颗粒乳化性能的表现也会不同^[72]。例如 Shen 等^[53]研究发现,在碱的作用下,NG 的致密结构^[73]发生解离,其蛋白质间的离子键和二硫键被破坏,颗粒间的静电斥力和解离性由于负电荷数量的增加也得以增强^[15],最终颗粒的溶解度会得到明显提高。另外,碱处理后的颗粒的平均粒径也变得更小,其稳定的乳液抗分层能力更强。所以适当地增强 pH 值可以使颗粒解聚、增加颗粒的溶解度和表面电荷,并且减小粒径,从而增强乳化性能。

Wang 等^[74]报告指出,蛋黄颗粒稳定的液滴在强酸环境下呈非球形且大小不均,调节酸碱度后,液滴具有明显的厚层,这证明了蛋黄颗粒具有 Pickering 型稳定剂的特性。蛋黄颗粒主要是由 LDL 胶束和 HDL 颗粒组成的,LDL 和 HDL 之间的结合状态随着 pH 值的变化而改变。在弱酸性条件下,颗粒呈球形且形成了大的聚集体;当 pH 值处于颗粒的等电点时,LDL 由于低电力而与 HDL 颗粒紧密结合^[75],所以颗粒的体积和尺寸均较大,但排斥力的减弱使少数颗粒分散

在聚集体表面,导致其更加聚集。同时,最低浓度的颗粒可以稳定高内相乳液,等浓度的蛋黄却不能。乳液较小的 d_{50} 值也决定了其良好的乳化性^[76]。当 pH 值进一步增加,颗粒聚集状态变得更松散且乳化性也变差。总之,pH 值的变化不会破坏蛋黄颗粒结构,但会改变颗粒的聚集状态,而且只要条件适宜,蛋黄颗粒会具有比全蛋黄更高的乳化稳定性。

另外, Gmach 等^[70]发现,NG 的乳化能力较差^[77],但其所制备的乳液样品的粒径随着 pH 值的增加而减小,颗粒蛋白的溶解度也大幅增加^[78]。正如 Mi 等^[67]观察到的,pH 值的增加使颗粒从大聚集体中解离出更小的颗粒和胶束^[30],最终可以在油-水界面更快地附着^[79],并在油滴周围形成薄屏障以防止聚结。因此,pH 值的改变对颗粒的影响很大,其数值的升高使颗粒的乳化性能得到了明显增强。

总之,适当地增加 pH 值可以通过降低蛋黄颗粒稳定的乳液的 d_{50} 值和增加溶解度来显著提高颗粒的乳化性能。

5 酶法处理

除机械处理、加热处理、外源添加处理和化学处理等方法外,酶法处理也是研究人员常用来改性蛋黄的手段之一,可以起到改善蛋黄颗粒乳化性能的效果,通常采用较多的有磷脂酶和枯草杆菌酶两种^[77,80,81]。

5.1 磷脂酶处理

采用磷脂酶处理蛋黄颗粒时,研究者们多倾向用磷脂酶 A₁ (PLA₁) 来改善蛋黄颗粒的乳化性能^[82,83]。这主要是因为 PLA₁ 可以催化磷脂底物水解,切断甘油三酯 Sn-1 位置的酯键,并将缩醛磷脂转化为溶血磷脂。因此,PLA₁ 是一种羧酸酯水解酶^[84,85]。对于 PLA₁ 水解蛋黄颗粒改善其乳化性的研究,大多研究者表示这与其颗粒结构变化有关。例如 Jin 等^[86]利用 PLA₁ 对蛋黄颗粒进行改性后,从 SEM 图像中观察到 PLA₁ 改性后的颗粒具有接近球状蛋白的良好结构^[33],这与未改性前的颗粒相比具有更加规则的结构。乳液形成后,在 500 nm 处立即测量出的吸光度为乳液的乳化活性。试验发现 PLA₁ 处理后的蛋黄颗粒所稳定的乳液的吸光度增加了 0.08。其乳化性能的提高也是源于蛋黄颗粒结构的细微变化。首先,由于 PLA₁ 处理后蛋黄颗粒中的脂蛋白被大量破坏,带负电荷的脂肪酸被释放出来,导致蛋白分子极性特征增加、对蛋白质组分的亲和力降低;其次,酶解破坏了 LDL 的微观结构,使溶液中产生了大量的溶血卵磷脂,从而导致了界面张力的降低。

此外, 黄丹^[83]也对 PLA₁ 处理后的蛋黄颗粒结构与乳化性的关系进行了相应研究。结果发现, PLA₁ 处理前后蛋黄颗粒粒子从均匀趋向散乱, 且粒径出现增大的现象。这是因为 PLA₁ 破坏了颗粒结构中的磷钙桥结构, 使其更加松散, 导致粒径分布范围更加广泛、粒径大小增加。同时, 改性后的颗粒分散液中蛋白质溶解度也相应增加, 促进了其乳化性的提高。蛋黄颗粒中 HDL 含量较高, 因此能够提供更多的脱辅基蛋白, PLA₁ 酶解后, 随着溶血磷脂的生成, 酶解改

变了其结构, 从而增加了脱辅基蛋白的分子灵活性, 使其更加有效地形成更厚的多层膜围绕在油滴附近, 将最终油体积在乳液中的占比约降低了 0.03, 增加蛋黄颗粒溶液的乳化稳定性^[66,87]。由此可见, PLA₁ 处理蛋黄颗粒可一定程度地破坏其微观结构、增强蛋黄颗粒在油-水界面的吸附能力, 也可形成多层稳定的界面膜, 显著增强蛋黄颗粒的乳化性和乳化稳定性。

5.2 枯草杆菌酶处理

表 1 不同处理对蛋黄颗粒乳化性能的影响

Table 1 Different treatments on egg yolk granule emulsification properties

处理方式	条件	乳化性	乳化稳定性	参考文献
机械处理法	超声 酶添加量: 40 U/g 蛋黄原液 超声: 60 W, 20 min 超声结合大豆分离蛋白 蛋黄颗粒: 大豆分离蛋白=1:1	提高 9.54% 增强	\	[27] [32] [37]
加热处理法	55 °C~76 °C	不变	不变	[11]
	55 °C~82 °C	\	55 °C~79 °C: 不变 82 °C: 降低	[44]
	加热	<59 °C 且 <1 h: 不变 59 °C~68 °C	59 °C: 增强	[47]
	59 °C~68 °C	59 °C: 先降低后增强; 65 °C: 不变 68 °C: 先增强后降低	65 °C: 不变 68 °C: 增强	[47]
外源添加处理	亲水胶体: 0.1% (m/V)	果胶: 不变 瓜尔胶: 增强	果胶: 不变 瓜尔胶: 增强	[51]
	外源物质 卵磷脂浓度: 0%~1%	增强	浓度 < 0.25%: 增强 浓度 > 0.50%: 降低	[53]
	植酸浓度: 0%、0.05%、0.2%	\	增强	[57]
	蛋黄颗粒: 大豆分离蛋白=1:1	增强	增强	[37]
盐处理	0.50 mol/L NaCl	增强	增强	[62]
	NaCl: 颗粒=10:1	增强	增强	[65]
	NaCl: 0.01~0.5 mol/L	\	NaCl 浓度 > 0.2 mol/L: 增强	[67]
	0.15 mol/L NaCl 0.55 mol/L NaCl	增强	增强	[70]
化学处理法	pH 值 9.0	\	增强	[53]
	pH 值 ≤ pI, pH 值 > pI	\	pH ≤ pI: 良好 pH > pI: 降低	[74]
	酸碱处理 pH 值 3.0 pH 值 4.0 pH 值 6.5	增强	\	[70]
酶法处理	加酶 磷脂酶 A ₁	增强	增强	[86]
	枯草杆菌酶	增强	增强	[88]

枯草杆菌酶是学术界常用来改善蛋黄颗粒乳化性能的另一酶, Li 等^[88]发现, 蛋黄颗粒为直径约 2 μm

的球状颗粒^[33], 且聚集紧密。酶解后, 单个颗粒的大小并未发生明显改变, 但聚集相对松散, 这与 Jin 等^[86]

所观察到的现象一致。另外, 酶解后亲水和疏水基团的暴露, 加上肽链之间的弱空间位阻, 使得疏水相互作用进一步发生^[89]。枯草杆菌酶在芳香族氨基酸残基处与色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和苯丙氨酸(Phe)的优选切割位点相连^[90], 水解后, 极性基团的产生增加了电荷密度, 亲水性较好的小分子肽数量也发生增加, 最终增强了颗粒的亲水性, 上述组合效应导致颗粒的表面疏水性降低。同时, 电荷密度由于磷钙桥的暴露和极性基团的产生而增加, 这使静电斥力得到了提高, 从而限制了水中颗粒聚集体的产生^[76], 所以酶解颗粒(the Enzymatically Hydrolyzed Granules, EG)拥有更强的亲水性。亲水性的增强, 提高了蛋白质在油-水界面的吸附, 因此蛋黄颗粒的乳化性得到了明显改善^[91,92]。随着蛋白质浓度的增加, 未处理颗粒稳定的乳液的CI值下降了39%, ESI值始终为50; 而EG稳定的乳液的CI值一直处于1.5%左右且抗乳液分层的能力更高, 同时EG的ESI值增加了392, 这都说明EG的乳化稳定性更高。酶解处理不仅使颗粒的结构发生了改变, 影响颗粒在乳液等中的聚集状态, 使颗粒在界面上的吸附能力增强, 同时还增强表面电荷, 提高了表面润湿性等。因此, 枯草杆菌酶处理过的蛋黄颗粒拥有更高的乳化性和乳化稳定性。酶法处理可以改变蛋黄颗粒的结构, 使其聚集状态发生改变, 并显著增强蛋黄颗粒的乳化性能。

综上所述, 表1汇总了本文中所涉及到的机械处理、加热处理、外源添加处理、化学处理和酶法处理等处理方式对蛋黄颗粒乳化性能的改善效果的总结, 从而可以更直观的看出不同处理方式的具体条件对乳化性能的影响。

6 结语

由于内部结构的影响, 天然颗粒的乳化特性与其它人工合成的小分子乳化剂相比乳化性能较差。但通过不同的处理方式, 如适当的机械处理、加热处理、酶法处理、化学处理和添加外源物质等都会不同程度地影响颗粒的理化性质, 使其结构发生变化, 并降低其粒径和增强溶解度等, 进而改善其乳化性能。但要注意处理方法的具体参数。例如通过控制加热的温度和时间不同会使颗粒乳化性发生增加或降低的相反变化。因此, 根据具体情况去选择适宜的处理条件对蛋黄颗粒乳化性能的发挥至关重要。此外, 由于蛋黄颗粒内大量HDL的存在, 颗粒表现为紧密的球形结构, 一般的处理方式只会对颗粒的聚集状态产生影响, 并不会改变其结构; 但一定程度的盐处理会破坏颗粒使其结构松散、粒径变小。虽然蛋黄颗粒潜在的乳化性

能已被挖掘, 但就目前的研究而言, 蛋黄颗粒在食品领域还未能进行广泛的应用。这是鉴于蛋黄颗粒结构的复杂性和改善的高难度, 研究者们很难对其结构进行完全、透彻的解析, 只能不断探索、深入研究。同时, 如何克服工业上大规模的生产及有效利用率等问题仍是未来需要研究并解决的目标。而本文综述表明, 采用多种处理方法对蛋黄颗粒理化性质及结构进行修饰和改善, 能够有效提高其乳化性能。因此, 基于研究的不断深入和科技的持续进步, 相信改性后的蛋黄颗粒这种高安全性和强乳化性乳化剂会在未来食品领域中得到广泛应用。

参考文献

- [1] Aro H. Extraction of several egg compounds at a pilot scale [J]. *Bioactive Egg Compounds*, 2007: 241-247
- [2] L Kwan, E Li-Chan, N Helbig, et al. Fractionation of water-soluble and-insoluble components from egg yolk with minimum use of organic solvents [J]. *Journal of Food Science*, 1991, 56(6): 1537-1541
- [3] Liot M. Method of obtaining long shelf life liquid egg products: U.S. Patent 6, 403, 141 [P]. 2002-6-11
- [4] Froning G W. Egg products industry and future perspectives [J]. *Egg Bioscience and Biotechnology*, 2008: 307-320
- [5] Anton M, Le Denmat M, Beaumal V, et al. Filler effects of oil droplets on the rheology of heat-set emulsion gels prepared with egg yolk and egg yolk fractions [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2001, 21(1-3): 137-147
- [6] Li X, Li J, Chang C, et al. Foaming characterization of fresh egg white proteins as a function of different proportions of egg yolk fractions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 90: 118-125
- [7] Laca A, Paredes B, Rendueles M, et al. Egg yolk granules: Separation, characteristics and applications in food industry [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2014, 59(1): 1-5
- [8] Strixner T, Kulozik U. Continuous centrifugal fractionation of egg yolk granules and plasma constituents influenced by process conditions and product characteristics [J]. *Journal of Food Engineering*, 2013, 117(1): 89-98
- [9] Burley R W, Cook W. Isolation and composition of avian egg yolk granules and their constituent α - and β -lipovitellins [J]. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1961, 39(8): 1295-1307
- [10] 王宇. 乳化盐对酪蛋白胶束及单纯体系干酪性质影响[D]. 天津: 天津科技大学, 2015
- [11] Denmat M, Anton M, Gandemer G. Protein denaturation and

- emulsifying properties of plasma and granules of egg yolk as related to heat treatment [J]. *Journal of Food Science*, 2010, 64(2): 194-197
- [12] 马钰.磁响应型超支化聚酰胺-胺破乳剂的设计制备及其破乳行为特征研究[D].大庆:东北石油大学,2020
- [13] Wu J, Ma G H. Recent studies of Pickering emulsions: Particles make the difference [J]. *Small*, 2016, 12(34): 4633-4648
- [14] Zhu F. Starch based Pickering emulsions: Fabrication, properties, and applications [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 85: 129-137
- [15] Causeret D, Matringe E, Lorient D. Ionic strength and pH effects on composition and microstructure of yolk granules [J]. *Journal of Food Science*, 1991, 56(6): 1532-1536
- [16] Le Denmat M, Anton M, Beaumal V. Characterisation of emulsion properties and of interface composition in O/W emulsions prepared with hen egg yolk, plasma and granules [J].*Food Hydrocolloids*, 2000, 14(6): 539-549
- [17] Wang L, Wang J, Wang A. Novel pickering high internal phase emulsion stabilized by food waste-hen egg chalaza [J]. *Foods*, 2021, 10(3): 599
- [18] Xia T, Xue C, Wei Z. Physicochemical characteristics, applications and research trends of edible Pickering emulsions [J].*Trends in Food Science & Technology*, 2021, 107: 1-15
- [19] Bai L, Greca L G, Xiang W, et al. Adsorption and assembly of cellulosic and lignin colloids at oil/water interfaces [J]. *Langmuir*, 2018, 35(3): 571-588
- [20] Jiang H, Sheng Y, Ngai T. Pickering emulsions: Versatility of colloidal particles and recent applications [J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2020, 49: 1-15
- [21] Kiosseoglou V. Egg yolk protein gels and emulsions [J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2003, 8(4-5): 365-370
- [22] Wang Y, Jiang Q, Jing W, et al. Pore structure and surface property design of silicon carbide membrane for water-in-oil emulsification [J]. *Journal of Membrane Science*, 2022, 648
- [23] 王宁,马美湖.鸡蛋黄低密度脂蛋白理化及加工特性研究进展[J].*中国粮油学报*,2015,30(12):140-146
- [24] Mirheydari M, Putta P, Mann E K, et al. Interaction of two amphipathic α -helix bundle proteins, apoLp-III and apoE 3, with the oil-aqueous interface [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2021, 125(18): 4746-4756
- [25] Deplazes E, Tafalla B D, Murphy C, et al. Calcium ion binding at the lipid-water interface alters the ion permeability of phospholipid bilayers [J]. *Langmuir*, 2021, 37(48): 14026-14033
- [26] 黄丽燕,张强,韩兆鹏,等.蛋黄乳化性研究进展[J].*食品科技*, 2012,37(12):44-47
- [27] 谢云霄.高强度超声处理对蛋黄特性的影响机理研究[D].成都:成都大学,2020
- [28] Wang S, Zhou B, Shen Y, et al. Effect of ultrasonic pretreatment on the emulsification properties of *clanis bilineata tingtauca mell* protein [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2021, 80: 105823
- [29] Hazra T, Sindhav R, Sudheendra C V K, et al. A comparative study on the effects of boiling and ultrasonication on radical scavenging activity, casein particle size, and whiteness of milk [J]. *Veterinary World*, 2021, 14(7): 1784
- [30] Anton M. Egg yolk: structures, functionalities and processes [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(12): 2871-2880
- [31] Geng F, Xie Y, Wang Y, et al. Depolymerization of chicken egg yolk granules induced by high-intensity ultrasound [J]. *Food Chemistry*, 2021, 354: 129580
- [32] 唐世涛.超声联合蛋白酶酶解对蛋黄粉溶解性及乳化稳定性的影响[D].武汉:华中农业大学,2019
- [33] Chang C, Powrie W, Fennema O. Microstructure of egg yolk [J]. *Journal of Food Science*, 1977, 42(5): 1193-1200
- [34] 许朵霞,祖丽皮亚·艾合麦提,王旭,等.层层组装对叶黄素乳状液环境响应物理稳定性的影响[J].*中国食品学报*,2016, 16(5):38-45
- [35] Zhang Y, Chen Y, Xiong Y, et al. Preparation of high internal phase Pickering emulsions stabilized by egg yolk high density lipoprotein: Stabilizing mechanism under different pH values and protein concentrations [J]. *LWT*, 2022: 113091
- [36] 李子晗,费子璇,张瑞丽,等.低钠条件下pH值对肌原纤维蛋白乳化性能的影响[J].*包装工程*,2022,43(1):89-97
- [37] 毕雅雯.超声辅助大豆分离蛋白改善蛋黄乳化性研究[D].南昌:江西农业大学,2021
- [38] Achouri A, Zhang W. Effect of succinylation on the physicochemical properties of soy protein hydrolysate [J]. *Food Research International*, 2001, 34(6): 507-514
- [39] Wang Y, Shen Y, Qi G, et al. Formation and physicochemical properties of amyloid fibrils from soy protein [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 15(3): 609-616
- [40] Li C, Wang L, Xue F. Effects of conjugation between proteins and polysaccharides on the physical properties of emulsion-based edible films [J]. *Journal of the American Oil*

- Chemists' Society, 2019, 96(11): 1249-1263
- [41] Alamprese C, Rollini M, Musatti A, et al. Emulsifying and foaming properties of a hydrophobin-based food ingredient from *trichoderma reesei*: A phenomenological comparative study [J]. *LWT*, 2022: 113060
- [42] Xiong Y, Li Q, Miao S, et al. Effect of ultrasound on physicochemical properties of emulsion stabilized by fish myofibrillar protein and xanthan gum [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2019, 54: 225-234
- [43] Zhao X J, Tang N N, Lian Y, et al. Analysis of the rates of emulsification in intraocular silicone oil tamponades of differing viscosities [J]. *International Journal of Ophthalmology*, 2020, 13(5): 761
- [44] Anton M, Denmat M L, Gandemer G. Thermostability of hen egg yolk granules: Contribution of native structure of granules [J]. *Journal of Food Science*, 2000, 65(4): 581-584
- [45] Kiosseoglou V, Sherman P. The influence of egg yolk lipoproteins on the rheology and stability of O/W emulsions and mayonnaise: 2. Interfacial tension-time behaviour of egg yolk lipoproteins at the groundnut oil-water interface [J]. *Colloid & Polymer Science*, 1983, 261(6)
- [46] Khalesi M, FitzGerald R J. Investigation of the flowability, thermal stability and emulsification properties of two milk protein concentrates having different levels of native whey proteins [J]. *Food Research International*, 2021, 147: 110576
- [47] 苏宇杰,杨新宇,周岷,等.热处理对鸡蛋蛋黄性质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(10): 70-75
- [48] 刘佩,陈澄,秦新光,等.乳清分离蛋白聚集体乳化性能及其 Pickering 乳液稳定性[J]. *食品科学*, 2021, 42(12): 24-30
- [49] 王岸娜,陈丛丛,吴立根.小麦面筋蛋白研究进展[J]. *粮油食品科技*, 2017, 25(5): 19-23
- [50] 蒋丽梅.木糖和谷氨酰胺转氨酶复合改性对花生蛋白膜性能影响的研究[D].沈阳:沈阳农业大学, 2016
- [51] Ibanoglu E, Erçelebi E A. Thermal denaturation and functional properties of egg proteins in the presence of hydrocolloid gums [J]. *Food Chemistry*, 2007, 101(2): 626-633
- [52] 高进,马美湖.蛋黄卵磷脂的分离纯化研究进展[J]. *农业工程技术(农产品加工业)*, 2008, 3: 20-25
- [53] Shen Y, Chang C, Shi M, et al. Interactions between lecithin and yolk granule and their influence on the emulsifying properties [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 101: 105510
- [54] 张泽宇,王健,葛洪如,等.超声糖基化大豆分离蛋白冻融稳定性的研究[J]. *现代食品科技*, 2016, 32(10): 198-204, 219
- [55] 朱志强,杨敬一,徐心茹.矿粉微粒制备 Pickering 乳液降低原油乳状液黏度的研究[J]. *现代化工*, 2019, 39(10): 141-145
- [56] Cheng J, Dudu O E, Li X, et al. Effect of emulsifier-fat interactions and interfacial competitive adsorption of emulsifiers with proteins on fat crystallization and stability of whipped-frozen emulsions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 101: 105491
- [57] 刘晶.植酸改善蛋黄乳液稳定性研究[D].南昌:江西农业大学, 2021
- [58] Ma X, Chi C, Pu Y, et al. Conjugation of soy protein isolate (SPI) with pectin: effects of structural modification of the grafting polysaccharide [J]. *Food Chemistry*, 2022: 132876
- [59] Ge X, Mo L, Yu A, et al. Stimuli-responsive emulsions: Recent advances and potential applications [J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2021
- [60] Lilan, Xu, Yan, et al. Changes in physico-chemical properties, microstructure, protein structures and intermolecular force of egg yolk, plasma and granule gels during salting [J]. *Food Chemistry*, 2018, 275
- [61] 李良,张小影,朱建宇,等.大豆-乳清混合蛋白对 O/W 乳液稳定性及流变性的影响[J]. *农业机械学报*, 2019, 50(12): 372-379
- [62] Anton M, Beaumont V, Gandemer G. Adsorption at the oil-water interface and emulsifying properties of native granules from egg yolk: effect of aggregated state [J]. *Food Hydrocolloids*, 2000, 14(4): 327-335
- [63] Anton M, Gandemer G. Composition, solubility and emulsifying properties of granules and plasma of egg yolk [J]. *Journal of Food Science*, 1997, 62(3): 484-487
- [64] Kiosseoglou V, Sherman P. Influence of egg yolk lipoproteins on the rheology and stability of O/W emulsions and mayonnaise 1. Viscoelasticity of groundnut oil-in-water emulsions and mayonnaise [J]. *Journal of Texture Studies*, 1983, 14(4): 397-417
- [65] Chalamaiah M, Esparza Y, Hong H, et al. Physicochemical and functional properties of leftover egg yolk granules after phosvitin extraction [J]. *Food Chemistry*, 2018, 268: 369-377
- [66] Anton M, Martinet V, Dalgalarondo M, et al. Chemical and structural characterisation of low-density lipoproteins purified from hen egg yolk [J]. *Food Chemistry*, 2003, 83(2): 175-183
- [67] Mi S, Xia M, Zhang X, et al. Formation of natural egg yolk granule stabilized Pickering high internal phase emulsions by means of NaCl ionic strength and pH change [J]. *Foods*, 2022, 11(2): 229
- [68] Guo B, Hu X, Wu J, et al. Soluble starch/whey protein isolate complex-stabilized high internal phase emulsion: Interaction

- and stability [J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 111: 106377
- [69] Ma L, Zou L, McClements D J, et al. One-step preparation of high internal phase emulsions using natural edible Pickering stabilizers: Gliadin nanoparticles/gum arabic [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 100: 105381-105381
- [70] Gmach O, Golda J, Kulozik U. Freeze-thaw stability of emulsions made with native and enzymatically modified egg yolk fractions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 123: 107109
- [71] Chang C, Powrie W, Fennema O. Studies on the gelation of egg yolk and plasma upon freezing and thawing [J]. *Journal of Food Science*, 1977, 42(6): 1658-1665
- [72] Yang Y, Zhao Y, Xu M, et al. Effects of strong alkali treatment on the physicochemical properties, microstructure, protein structures, and intermolecular forces in egg yolks, plasma, and granules [J]. *Food Chemistry*, 2020, 311: 125998
- [73] Naderi N, Doyen A, House J D, et al. The use of high hydrostatic pressure to generate folate-enriched extracts from the granule fraction of hen's egg yolk [J]. *Food Chemistry*, 2017, 232: 253-262
- [74] Wang A, Xiao Z, Wang J, et al. Fabrication and characterization of emulsion stabilized by table egg-yolk granules at different pH levels [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(4): 1470-1478
- [75] Strixner T, Sterr J, Kulozik U, et al. Structural study on hen-egg yolk high density lipoprotein (HDL) granules [J]. *Food Biophysics*, 2014, 9(4): 314-321
- [76] Gouda M, Zhang S, Liu Y, et al. Effects of four natural antioxidant phenyl terpenes on emulsifying and rheological properties of egg yolk [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2017: 83
- [77] Hevonoja T, Pentikäinen M O, Hyvönen M T, et al. Structure of low density lipoprotein (LDL) particles: basis for understanding molecular changes in modified LDL [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2000, 1488(3): 189-210
- [78] Daimer K, Kulozik U. Impact of a treatment with phospholipase A₂ on the physicochemical properties of hen egg yolk [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2008, 56(11): 4172-4180
- [79] Gmach O, Bertsch A, Bilke-Krause C, et al. Impact of oil type and pH value on oil-in-water emulsions stabilized by egg yolk granules [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2019, 581: 123788
- [80] Liu W J, Li X L, Li S G, et al. Emulsifying and emulsion stabilizing properties of hydrolysates of high-density lipoprotein from egg yolk [J]. *Food Chemistry*, 2022, 369: 130891
- [81] 胡新平,杨严俊.磷脂酶A改性的蛋黄功能性性质及其对蛋制品品质影响[J].*食品研究与开发*,2005,3:3-7
- [82] 黄丹,马美湖,蔡朝霞,等.磷脂酶A₁改性制备高乳化性蛋黄粉的工艺条件优化[J].*食品科学*,2010,31(6):20-25
- [83] 黄丹.高乳化性蛋黄粉的制备、性能表征及应用研究[D].武汉:华中农业大学,2010
- [84] Wang T, Cheng J, Wang N, et al. Study on the stability of intermediates in the process of enzymatic hydrolysis of phosphatidic acid by phospholipase A₁ [J]. *LWT*, 2021, 142: 111015
- [85] 张薇薇,纵伟,张康逸.水相体系酶法制备溶血磷脂酰乙醇胺研究[J].*中国油脂*,2015,40(2):81-84
- [86] Jin Y, Huang D, Ding T, et al. Effect of phospholipase A₁ on the physicochemical and functional properties of hen's egg yolk, plasma and granules [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2013, 37(1): 70-79
- [87] Niu R, Zhou L, Chen F, et al. Effect of enzyme on the demulsification of emulsion during aqueous enzymatic extraction and the corresponding mechanism [J]. *Cereal Chemistry*, 2021, 98(3): 594-603
- [88] Li Q, Tang S, Mourad F K, et al. Emulsifying stability of enzymatically hydrolyzed egg yolk granules and structural analysis [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 101: 105521
- [89] Tang S, Zhou X, Gouda M, et al. Effect of enzymatic hydrolysis on the solubility of egg yolk powder from the changes in structure and functional properties [J]. *LWT*, 2019, 110: 214-222
- [90] Tamm F, Gies K, Diekmann S, et al. Whey protein hydrolysates reduce autoxidation in microencapsulated long chain polyunsaturated fatty acids [J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2015, 117(12): 1960-1970
- [91] 赵妍嫣,卢星星,夏楠,等.大豆蛋白乳液的研究进展[J].*食品安全质量检测学报*,2020,11(17):5942-5947
- [92] 常静.桑葚籽油稳定性分析及氧化保护体系构建[D].武汉:湖北工业大学,2018