

醋蛋乳化液制备过程中蛋白质理化性质的变化

陈雨洁, 马美湖, 付星

(华中农业大学食品科技学院, 国家蛋品加工技术研发分中心, 湖北武汉 430070)

摘要: 该研究以鸡蛋为原料, 分别以蛋醋质量比 1:1、1:2、1:3、1:4 的比例添加米醋, 制备功能性醋蛋乳化液。为研究醋蛋乳化液中米醋对蛋液蛋白结构的作用, 对鸡蛋蛋白水解程度、蛋白分子量分布、蛋白颗粒大小、蛋白质二级结构以及变性温度进行分析。当蛋醋比 1:4, 浸泡 72 h 后, 水解度达到最大为 $12.82\% \pm 0.51\%$ ($p < 0.05$)。其中溶菌酶、卵黄高磷蛋白、IgY、低密度脂蛋白在米醋中不易分解, 卵转铁蛋白、卵白蛋白、卵粘蛋白及亚基、高密度脂蛋白降解更为明显。同时, 米醋处理的鸡蛋蛋白 α -螺旋、 β -折叠减少, β -转角增多, 蛋白二级结构趋于无序状态。并且蛋白粒径尺寸减小, 由单峰变为双峰甚至三峰。而相较于蛋液, 醋蛋乳化液热变性温度均有所升高, 体系热稳定性升高。综上, 米醋在水解鸡蛋蛋白的过程中可产生多种多肽和寡肽, 改变蛋白质的结构与性质。该研究可为醋蛋乳化液的品质特性研究和应用产品开发提供参考。

关键词: 醋蛋乳化液; 蛋白质; 水解; 结构表征

文章编号: 1673-9078(2019)03-80-86

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.3.013

Changes in Physicochemical Properties of Protein in Vinegar-egg Emulsion Processing

CHEN Yu-jie, MA Mei-hu, FU Xing

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Eggs were added to rice vinegar emulsion (egg vinegar quality ratio 1:1, 1:2, 1:3, 1:4), to prepare functional vinegar-egg emulsion. The degree of egg protein hydrolysis, protein molecular weight distribution, protein particle size, protein secondary structure, and denaturation temperature were analyzed during the hydrolysis. Results showed that the ratio of egg to vinegar 1:4, the degree of hydrolysis reached a maximum of $12.82\% \pm 0.51\%$ ($p < 0.05$) after soaking for 72 h. Lysozyme, yolk high-phosphorus protein, IgY and low-density lipoprotein were not easy to decompose in rice vinegar. But the degradation of egg transferrin, ovalbumin, egg mucin and subunit, and high-density lipoprotein were very obvious. Treated by the rice vinegar, the α -helix and β -sheet of the egg protein decreased, and the β -turn increased, showing that the secondary structure of the protein was disordered. And the protein particle size of egg was lowered, the particle size distribution changed from a single peak to a double peak or even a triple peak. Compared to the egg liquid, the heat denaturation temperature of the vinegar-egg emulsion was increased, it meant that the thermal stability was increased. In summary, eggs hydrolyzed by rice vinegar produced a large number of peptides and small molecule oligopeptides, the structure and properties of proteins were changed. This study provides a reference for the study of quality characteristics and products of vinegar-egg emulsion.

Key words: vinegar-egg emulsion; protein; hydrolysis; structural characterization

醋蛋乳化液是一种传统的中国保健饮品, 由高度醋浸泡整个鸡蛋数天后, 破膜, 均质稀释制成, 进一步添加蜂蜜或其他添加剂。醋蛋乳化液具有很高的营养价值并易被人体吸收, 同时蛋类蛋白质是功能性食

收稿日期: 2018-10-24

基金项目: “十三五”国家重点研发计划(2018YFD0400302); 湖北省自然科学基金项目(2017CFB349); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2662015QD020)

作者简介: 陈雨洁(1995-), 女, 硕士生, 研究方向: 畜产品科学与技术
通讯作者: 马美湖(1957-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 肉类蛋品科学研究

品和营养品开发的重要组成部分。鸡蛋中的蛋白质是食物中质量、种类和组成最优质的蛋白质, 其氨基酸的组成与人体需要最接近, 生物价也最高, 高达 94。醋具有多种营养和保健功能以及医疗价值。醋中含有酚类、黄酮类、碳水化合物、有机酸、蛋白质、氨基酸和多肽等, 具有杀菌和螯合重金属等作用^[1]。醋化蛋白质分解能够产生具有生物活性的小分子氨基酸和多肽^[2-3]。醋化蛋黄释放出胆碱、卵磷脂、起抗癌作用的阿维丁和生物素等物质。蛋壳中的钙与醋酸作用, 生成可被人体吸收的有机钙等^[4]。

蛋白质水解和其他加工方式可以有效地改变蛋白

质的结构,分子量与功能性质^[5],如改善蛋白质的溶解性、起泡性、乳化性及乳化稳定性等^[6-8]。同时在水解过程产生中较小的某些多肽和寡肽^[9,10]。据报道鸡蛋蛋白水解产物或肽可以发挥不同的生物活性,如抗菌、抗真菌、抗病毒、抗癌、抗突变、抗炎、抗高血压及抗氧化活性^[11,12]。已有研究发现醋蛋会产生一些新的生物活性成分如多肽,例如 ACE 抑制肽、抗氧化肽等^[13,14]。因此探究醋蛋乳化液在加工过程中蛋白结构的变化,可为醋蛋液的生理活性提供一定的依据。

目前已有多种方法用于水解蛋白质,包括酶,酸和碱水解^[15]。其中酶水解条件温和,可以特异性切割肽键,控制水解程度,产生溶解性比较好的小分子多肽^[16,17]。而酸水解常用盐酸水解,水解后的蛋白质常用作增味剂。通常,酸水解将蛋白质分解成单个氨基酸和小分子肽。其主要处理 β -折叠含量较多的蛋白,如卵白蛋白^[18,19]、 β -乳球蛋白^[20]等。在蛋清蛋白中主要被酸水解的有卵转铁蛋白,卵清蛋白和溶菌酶并产生某些分子量较小的多肽和寡肽。同时使蛋清蛋白获得更好的乳化性及乳化稳定性^[9]。

本文通过以醋蛋乳化液为研究对象,探究了醋蛋乳化液制作中米醋对鸡蛋蛋白结构性质的作用。采用电泳、傅里叶红外、差示扫描量热法等方法评价蛋白质结构性质,以期对醋蛋液的保健疗效及生产的提供参考价值,提高禽蛋的附加价值。

1 材料与方法

1.1 原料与仪器

1.1.1 实验材料

鸡蛋购自华中农业大学畜牧所;糯米醋购自市场;盐酸、茚三酮、乙二醇甲醚购自国药集团化学试剂有限公司;SDS-PAGE 试剂盒、5×蛋白上样缓冲液购自武汉塞维尔生物科技有限公司。

1.1.2 实验仪器

分析天平,美国 Ohaus;恒温水浴锅,天津泰斯特仪器有限公司;紫外可见分光光度计,美国贝克曼库尔特有限公司;差示扫描量热仪,德国耐驰公司;激光散射粒度分布仪(Master Sizer 2000),国马尔文仪器有限公司;傅里叶红外光谱仪,美国梅特勒公司。

1.2 实验方法

1.2.1 醋蛋乳化液的制备

选取大小均一的鸡蛋,用清水洗净晾干后,用75%的酒精擦拭表面消毒晾干待用。鸡蛋称重后,分别用1、2、3、4倍质量比例的米醋密封浸泡。室温25℃

条件下存放60h后,将壳膜打破捞出,过滤杂质后将米醋与蛋混合均匀,5000 r/min 的转速均质2min。室温再次浸泡12h。放置在4℃冰箱备用。醋蛋液依次记为蛋醋比1:1、蛋醋比1:2、蛋醋比1:3、蛋醋比1:4。

1.2.2 水解度的测定

蛋白质水解度的计算^[4]:

$$\text{水解度} = \frac{A - A_0}{A_{\text{总}}} \times 100\%$$

式中:A:醋蛋液中的总游离-NH₂数(mmol);A₀:蛋液中固有的游离-NH₂数(mmol);A_总:蛋液强酸水解后的总游离-NH₂数(mmol)。

游离-NH₂的测定:国标 GB/T 8314-2013。

蛋液完全水解液的制备:准确称取0.5mL蛋液于水解管中,加入6N的盐酸5mL,在真空装置上安装水解管抽真空,待真空度达到后用喷灯密封水解管。于110℃恒温器中反应24h,水解完后,把水解管开封,用旋转蒸发仪去除盐酸。干涸后用蒸馏水溶解,并定容至100mL。

1.2.3 蛋白质分子量变化

安装夹心式垂直板电泳槽并检漏,使用 SDS-PAGE 电泳试剂盒制备分离胶和浓缩胶,本试验中分离胶浓度选择12%,浓缩胶浓度为5%。用移液枪将分离胶注入两块玻璃板之间,水封。待凝固后注入浓缩胶,将梳子插入浓缩胶内,待浓缩胶凝固,加入电极缓冲液至淹没短板上沿3~5mm,然后拨去梳子。样品的处理:1mL全蛋液加9mL 0.88%生理盐水。1mL醋蛋乳化液加4mL 0.88%生理盐水。取40μL溶液至200μL的小离心管中,加入10μL 5×蛋白上样缓冲液,混匀后沸水浴加热3~5min,冷却至室温备用。用微量进样器上样原蛋液与醋蛋乳化液1:1泳道添加量为7μL,其余添加量为10μL。设置电泳仪条件:浓缩胶电压为80V,分离胶电压为120V。电泳完成后,凝胶先在固定液中间定30min;然后转移至染色液中,摇床染色30min;最后再置于脱色液中脱色3~4次,至背景颜色变浅为止。

1.2.4 傅里叶红外(FT-IR)光谱

采用 KBr 压片法进行红外光谱扫描分析。取醋蛋乳化液和原蛋液冻干粉末,分别加入一定量的溴化钾,于玛瑙研钵中研磨成均匀的粉末,在 Nicolet Nexus 470 型红外光谱仪上进行扫描测试,测定参数:测定温度25℃,扫描范围4000~400cm⁻¹;仪器分辨率4cm⁻¹;扫描次数32次,以空气为背景,每个样品扫描前扣除背景;每个样品做三个平行。

1.2.5 蛋白质粒径分布

参考 Nobuhara^[21]等人使用的方法。使用 Nano-ZS

型马尔文电位粒径测定仪 (Malvern) 测定蛋白分子的粒径。水的折射系数 1.33, 吸收参数 0.001。蛋液用去离子水稀释约 50 倍, 以避免多次散射。所有的测量都在 25 °C 下进行。

1.2.6 差示扫描量热分析(DSC)

基于 Rao^[22]等人的方法。采用 DSC 204 F1 差示量热扫描仪(NETZSCH)分析醋蛋热性能的变化。称取冻干后的醋蛋粉末 5~10 mg 置于低压铝坩埚中, 压片密封。将装有样品的铝坩埚放入 DSC 的加热炉内, 用未加入样品的空铝坩埚作为参照放入加热炉的另一个加热端, 氮气作保护气体, 从 25 °C 升温至 150 °C, 加热速度控制为 10 K/min, 并在 150 °C 时平衡 5 min。

1.2.7 数据统计分析

每个试验重复 3 次, 取平均值。所有数据利用 Microsoft Excel 进行统计处理, 采用 Origin 7.5 进行作图分析。显著性分析采用 SPSS 软件分析。

2 结果与讨论

2.1 不同蛋醋比例对鸡蛋蛋白质水解度的影响

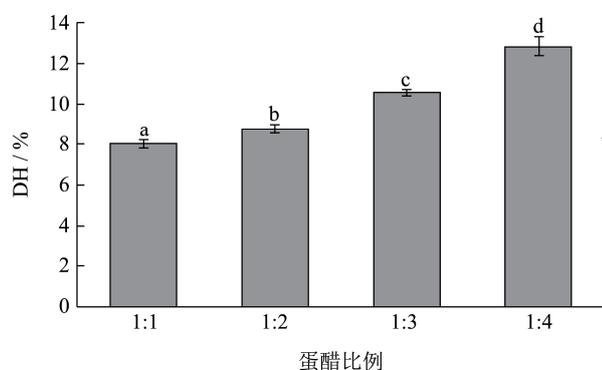


图1 不同蛋醋比例下鸡蛋蛋白质水解度的变化

Fig.1 The change in protein hydrolysis degree of egg under different ratios of egg vinegar

注: 图中小写字母不同表示各处理间差异性显著, $p < 0.05$ 。

水解度是水解效率的重要指标。因此, 通过改善水解度来提高多肽制备的效率是一个重要的手段^[20]。与盐酸对蛋白的高度水解成氨基酸相比, 乙酸对蛋白的水解更加温和, 有利于形成具有生物活性的多肽, 利于人体需要^[23,24]。本文研究米醋处理对鸡蛋蛋白质的水解度的影响, 结果如图1显示。可以看出, 随着米醋添加量从1倍增加到4倍, 蛋液蛋白质的水解度从 $8.01\% \pm 0.20\%$ 增至 $12.82\% \pm 0.51\%$ ($p < 0.05$) 显著增加了 4.81%。水解结果表明, 随着米醋量的增加, 提高了蛋液蛋白质的水解度。同时, 2 倍组比 1 倍组水

解度增加了 0.72%, 而 3 倍组相较于 2 倍组增加了 1.82%, 4 倍组比 3 倍组增加了 2.26%。说明增长幅度也在升高, 可能是刚开始蛋白质更多的水解成多肽, 并且多肽进一步时醋需要和蛋壳与蛋壳膜反应, 因此水解度差距较小。而到较高比例时, 有更多的蛋白质生成多肽水解成游离氨基酸。

2.2 不同蛋醋比例对鸡蛋蛋白质分子量的影响

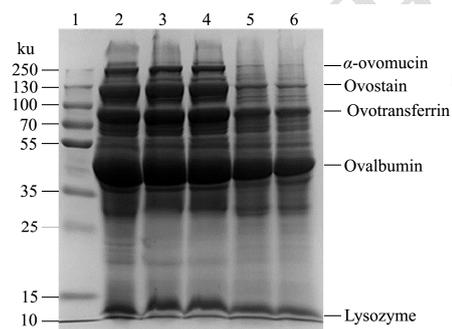


图2 蛋液与不同蛋醋比例的 SDS-PAGE 电泳图谱

Fig.2 Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis profiles of egg liquid and vinegar-egg

注: 凝胶上的泳道 1 为 250 ku 的蛋白 Marker; 泳道 2 为蛋液; 泳道 3 为蛋醋比 1:1; 泳道 4 为蛋醋比 1:2; 泳道 5 为蛋醋比 1:3; 泳道 6 为蛋醋比 1:4。

为了研究水解的主要组分和水解产物, 使用 SDS-PAGE 电泳观测米醋量对醋蛋乳液蛋白分子的作用。相较于酶水解专一水解蛋白, 酸水解蛋白专一性弱, 常用于彻底水解蛋白。但蛋白质的三级结构和氨基酸顺序对水解程度仍有较大的影响^[25]。如图2所示, 当米醋量的增加, 蛋白质被逐渐分解, 在 1:3 时出现较大的变化。与水解度的变化幅度基本一致。1:1 与 1:2 相较于未经酸处理的蛋白质变化较小, 而小分子量的蛋白质增多。1:3 与 1:4 中主要的蛋清蛋白质如卵转铁蛋白 77.7 ku、卵白蛋白 45 ku、卵粘蛋白及亚基 (α -卵粘蛋白 230.9 ku) 发生较大的变化。而卵类粘蛋白 28 ku、溶菌酶 14.3 ku 相对变化较小。卵黄蛋白 (卵黄高磷蛋白 40 ku、IgY 67~70 ku 的重链和 22~30 ku 的轻链、LDL 片段载脂蛋白 55 ku、高密度脂蛋白 110 ku、70 ku α -卵黄球蛋白) 中高密度脂蛋白也有较大的变化。与 Chang^[9]等人对蛋清蛋白质的变化研究结果基本一致。同时, 在水解期间, 35~250 ku 产生一些轻和薄的条带, 证实了各种多肽的形成。当蛋醋比为 1:3 时, 100 ku 以上的条带几乎完全水解, 新的条带清晰可见。在 10 ku 产生的条带蛋醋比 1:3、1:4 也比 1:1、1:2 更深, 说明产生了分子量小于 10 ku 的

寡肽。可以推断, 酸水解过程中, 鸡蛋蛋白被水解成了多种多肽与寡肽。

2.3 傅里叶红外光谱分析不同蛋醋比例对鸡

蛋蛋白质构象的影响

傅里叶变换红外光谱, 是一种目前最为常用的分析多肽和蛋白质二级结构的方法, 它能灵敏地反映出肽链结构的变化^[26]。为研究不同浸泡比例下醋蛋乳化液在浸泡过程中蛋液蛋白质二级结构的变化, 进行傅里叶红外试验。蛋液与醋蛋乳化液的红外光谱图如图3所示。在酰胺一带(1600~1700 cm⁻¹)可观测到蛋液与醋蛋乳化液间有明显的变化。说明酸水解作用使鸡蛋蛋白肽键断裂, 结构发生了一定程度的变化。

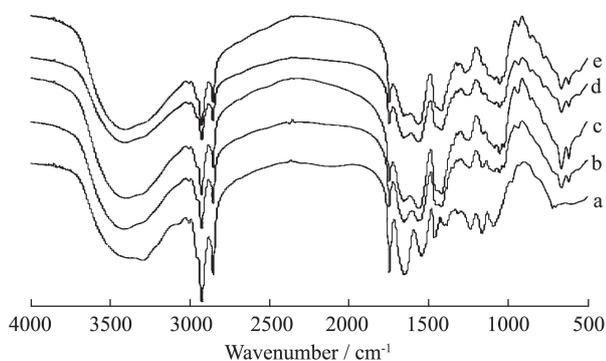


图3 蛋液和醋蛋液的红外光谱图

Fig.3 FT-IR spectra of egg liquid and vinegar-egg

注: a.蛋液; b.醋蛋液蛋醋比 1:1; c.醋蛋液蛋醋比 1:2; d.醋蛋液蛋醋比 1:3; e.醋蛋液蛋醋比 1:4。

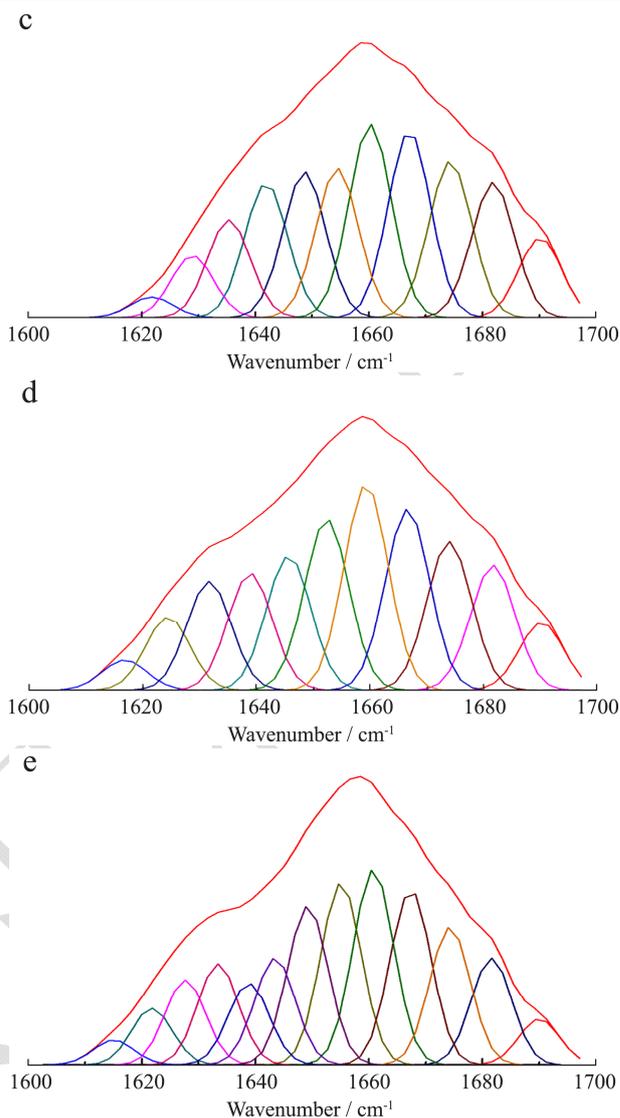
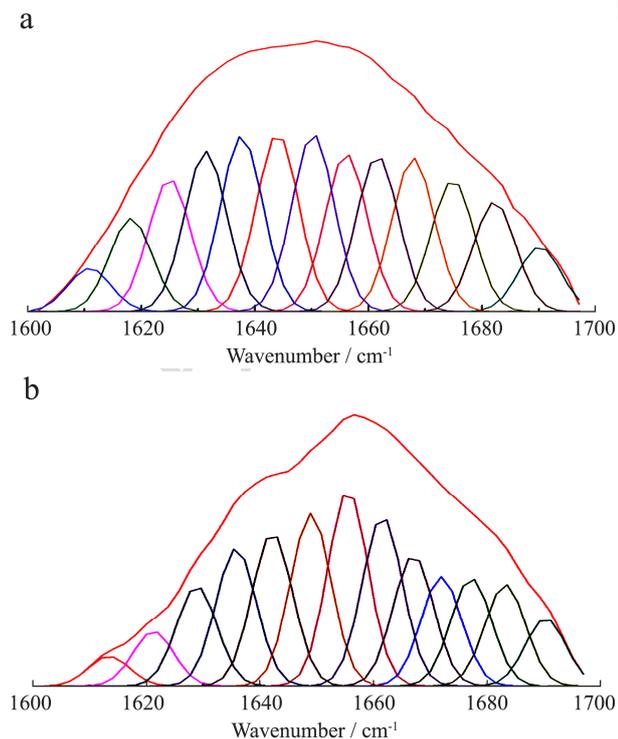


图4 蛋液与醋蛋液在 1600~1700 cm⁻¹范围内的酰胺 I 带 FT-IR 光谱图和曲线拟合结果

Fig.4 The FT-IR spectrograms and curve-fitting results of amide I band for egg liquid and vinegar-egg in the range of 1600~1700 cm⁻¹

注: a: 蛋液; b: 蛋醋比 1:1; c: 蛋醋比 1:2; d: 蛋醋比 1:3; e: 蛋醋比 1:4。

据报道, 酰胺 I 带的形状被用来确定位于 1600~1700 cm⁻¹ 处的蛋白质二级结构^[27,28]。采用二阶导数红外去卷积光谱对傅里叶红外图谱进行拟合。对蛋液与醋蛋乳化液的 FT-IR 分析依次进行基线校正、去卷积处理、二阶导数拟合处理, 经多次拟合确保拟合残差最小^[29]。蛋液与醋蛋乳化液的 FT-IR 酰胺 I 带去卷积二阶导数拟合图谱如图 4 所示。

拟合图谱中各子峰与二级结构对应关系为: 即 α -螺旋范围是 1650~1660 cm⁻¹, β -折叠范围是 1610~1642 cm⁻¹, β -转角范围是 1660~1680 cm⁻¹, β -antiparallel 范围是 1680~1700 cm⁻¹, 无规则卷曲范围是 1642~1650

cm⁻¹[30]。通过计算各子峰积分面积得到蛋液与醋蛋乳化的二级结构定量信息,即 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角、 β -antiparallel 和无规卷曲的相对百分含量,见图 5。

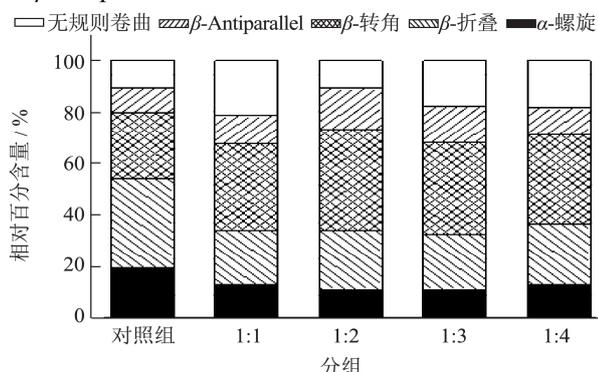


图 5 蛋液和醋蛋液的二级结构相对百分含量

Fig.5 Relative percent content of secondary structure of egg liquid and vinegar-egg

结果显示醋蛋乳化液不同比例下的浸泡相较于对照组的二级结构组分含量有明显的变化: 即相较于蛋液, 醋蛋乳化液的 α -螺旋 (1650~1660 cm⁻¹) 从 19.34% 降低到 10%~13%; β -折叠 (1610~1642 cm⁻¹) 从 34.93% 降低到 21%~24%, β -转角 (1660~1680 cm⁻¹) 从 25.44% 增到 33%~40%, β -Antiparallel (1680~1700 cm⁻¹) 从 10.03% 增加到 10%~16%, 无规则卷曲 (1642~1650 cm⁻¹) 由 10.26% 增至 10%~22%。由酸水解蛋白似乎诱导 α -螺旋、 β -折叠向 β -转角和无规则卷曲二级结构转变。由于 α -螺旋、 β -折叠代表有序的蛋白二级结构, 其含量的下降, 表明经过米醋处理的蛋液蛋白的二级结构变得更加无序[31]。刘丽莉等人在研究碱性蛋白酶对卵白蛋白的作用也观察到 β -转角含量增加的结果 β -转角的特定构象在一定程度上取决于它的氨基酸序列, 蛋白质水解后破坏了其原来的肽链结构, 露出更多的氨基酸的残基, 在一定程度迫使 β -转角形成[32]。同时也发现, 醋蛋乳化液不同比例之间的变化似乎很小, 有可能是因为酸水解较小作用于溶菌酶而导致的。由电泳试验可观测到该结果。根据 Qian 等人的研究, 尽管溶菌酶在蛋清蛋白中所占的比例较小, 约为 3.40%, 但对蛋清蛋白质二级结构变化起主要作用[33]。

2.4 不同蛋醋比例对蛋液粒径分布的影响

通过动态光散射测定不同米醋量处理后的蛋液粒径分布。蛋白分子在水溶液中的聚集状态会改变分子的结构状态, 呈现不同的粒径分布。经酸处理后的蛋液粒径分布峰向左移动, 未处理的蛋液粒径在 1000~10000 nm, 而处理后的集中在 10~100 nm 左右。表明经过酸处理后的蛋白质颗粒会变小。粒径越小, 说明体系越稳定[34]。有报道称, 蛋清蛋白在酸处理条

件下可以有效地诱导蛋白质部分扩展, 避免形成聚集体[35]。同时, 在新鲜鸡蛋中, 卵粘蛋白是一种高分子量高度糖基化的蛋白质, 可以通过静电相互作用与其他蛋清蛋白聚集。尤其是卵粘蛋白的羧基可以与溶菌酶的氨基相互作用以形成溶菌酶-卵粘蛋白复合物, 形成蛋清的凝胶样结构[36]。醋蛋乳化液中卵粘蛋白的分解, 也可能是导致蛋白质分子粒径减小的原因之一。同时在图 6 中观察到, 相比于蛋液单一峰, 醋蛋乳化液多是双峰甚至三峰, 大小分布明显不均匀, 推测是由醋蛋乳化液制作过程中产生的许多新物质如多肽而导致的。而粒径越来越小, 似乎也说明了蛋白质分解成多肽直至更小分子量的肽和寡肽。

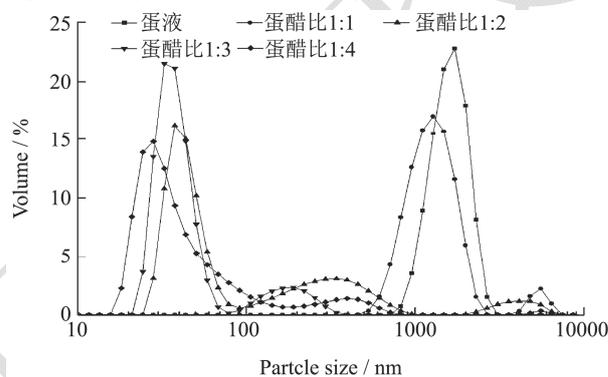


图 6 蛋液与不同蛋醋比例醋蛋液下粒径分布的变化

Fig.6 The change in particle size distribution under egg liquid and different ratios of egg vinegar

2.5 不同蛋醋比例对醋蛋蛋白质热稳定性的影响

影响

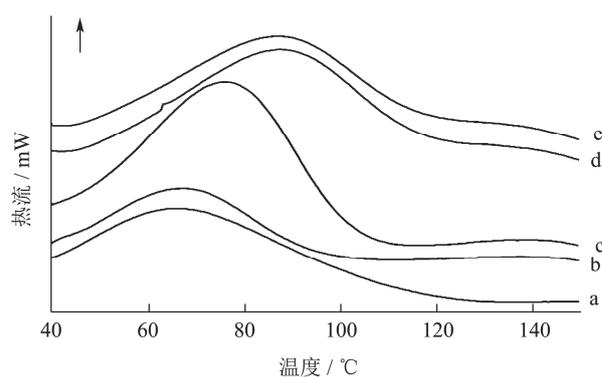


图 7 蛋液与不同蛋醋比例醋蛋液下 DSC 热特征曲线的变化

Fig.7 The change in DSC under egg liquid and different ratios of egg vinegar

注: a.蛋液; b.醋蛋液蛋醋比 1:1; c.醋蛋液蛋醋比 1:2; d.醋蛋液蛋醋比 1:3; e.醋蛋液蛋醋比 1:4。

差示扫描量热法能直接给出蛋白质热变性过程的温度和能量变化, 是研究蛋白质构象变化和结构稳定性的一种非常有效的方法, 其中热变性温度反映蛋白

质的热稳定性^[37]。蛋白质分子变性过程中,肽链中化学键断裂,蛋白质分子间或分子内的静电相互作用、氢键、疏水相互作用等发生变化,并伴随着二硫键的形成与断裂,使得蛋白质的肽链由天然的折叠状变得松散展开。这些变化取决于蛋白质浓度,温度,时间,pH值,盐浓度,糖浓度等。米醋处理蛋液蛋白质使未处理的蛋液组变性温度从64.55℃增至87.32℃,提高了产品的耐热性。其中蛋醋比1:1与未处理的蛋液变性温度相差不大,而蛋醋比1:2时发生较明显的变化,在蛋醋比1:3与蛋醋比1:4时,变性温度较为接近。与水解度的变化基本一致,说明变性温度是随着蛋白质水解度的增长而增长。但与酶水解导致蛋白变性温度降低不同的是,酸水解导致变性温度升高。其原因可能是米醋中含有的盐离子等物质稳定蛋白质分子导致变性温度升高^[38],其作用大于酸水解蛋白带来的影响。或是酸水解过程中多肽链内部裂解肽键,暴露出更多的亲水性氨基酸残基,含有高比例的疏水性氨基酸残基比亲水性较强的蛋白质一般更为稳定^[32,39]。

3 结论

通过添加不同量的米醋,对鸡蛋进行不同程度的处理,鸡蛋蛋白质结构特性发生改变。米醋使鸡蛋水解,当蛋醋比1:4,浸泡时间为72h时,水解度达12.82%±0.51% ($p<0.05$)。其中,溶菌酶、卵黄高磷蛋白、IgY、低密度脂蛋白在米醋中较为稳定,而卵转铁蛋白、卵白蛋白、卵粘蛋白及亚基、高密度脂蛋白降解更为明显。米醋酸水解使鸡蛋蛋白结构中 α -螺旋、 β -折叠减少, β -转角增多。但醋蛋乳化液之间的二级结构变化差异较小。同时,醋蛋乳化液中蛋白粒径不断减小,由单峰变成多峰,有助于醋蛋乳化液体系稳定。醋蛋乳化液的热变性温度随米醋添加量的上升而增加,蛋醋比1:4时,热变性温度升高了22.77℃,体系热稳定性升高。本研究为今后醋蛋乳化液产品开发与功能性质的研究提供了一定的理论依据。

参考文献

- [1] Ubeda C, Callejón R M, Hidalgo C, et al. Employment of different processes for the production of strawberry vinegars: Effects on antioxidant activity, total phenols and monomeric anthocyanins [J]. LWT - Food Science and Technology, 2013, 52(2): 139-145
- [2] 马千里,黄永春,杨锋,等.醋蛋中ACE抑制肽的研究初探[J].食品科学,2008,29(10):207-210
MA Qian-li, HUANG Yong-chun, YANG Feng, et al. Study on ACE Inhibitory Peptides in Vinegar-Egg [J]. Food Science, 2008, 29(10): 207-210
- [3] 杨锋,马千里,黄永春.醋蛋中ACE抑制肽的分离及稳定性研究[J].食品科学,2009,30(24):77-79
YANG Feng, MA Qian-li, HUANG Yong-chun. Separation and stability of ACE inhibitory peptides in vinegar-egg [J]. Food Science, 2009, 30(24): 77-79
- [4] 杨萍芳.苹果醋及醋蛋液生产工艺的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2007
YANG Ping-fang. Research on the Production Process of Apple Vinegar and Vinegar-Egg [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2007
- [5] Chang J, Kang X, Yuan J L. Enhancing emulsification and antioxidant ability of egg albumin by moderately acid hydrolysis: Modulating an emulsion-based system for mulberry seed oil [J]. Food Research International, 2018, 109: 334
- [6] Chang C H, Li X, Li J H, et al. Effect of enzymatic hydrolysis on characteristics and synergistic efficiency of pectin on emulsifying properties of egg white protein [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 65: 87-95
- [7] Liu Y F, Oey I, Bremer P, et al. Proteolytic pattern, protein breakdown and peptide production of ovomucin-depleted egg white processed with heat or pulsed electric fields at different pH [J]. Food Research International, 2018, 108: 465
- [8] Wouters A G B, Rombouts I, Fierens E, et al. Foaming and air-water interfacial characteristics of solutions containing both gluten hydrolysate and egg white protein [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 77: 176-186
- [9] Binsi P K, Viji P, Panda S K, et al. Characterisation of hydrolysates prepared from engraved catfish (*Nemapteryx caelata*) roe by serial hydrolysis [J]. Food Sci Technol, 2016, 53(1):158-170
- [10] Shen X, Fang T, Gao F, Guo M. Effects of ultrasound treatment on physicochemical and emulsifying properties of whey proteins pre- and post-thermal aggregation [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 668-676
- [11] Erdmann K, Cheung B W, Schröder H. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2008, 19(10): 643-654
- [12] Goetz J, Koehler P. Study of the thermal denaturation of selected proteins of whey and egg by low resolution NMR [J]. LWT- Food Science and Technology, 2005, 38: 501-512
- [13] 陈黎斌,杨严峻.分离纯化醋蛋水解物制备降血压肽的研究[J].食品科技,2011,4:78-80

- CHEN Li-bin, YANG Yan-jun. Preparation of antihypertensive peptides by separation and purification of hydrolyzed vinegar-egg [J]. Food Science and Technology, 2011, 4: 78-80
- [14] Wang S Y, Chang C Y, Chen C W. Effects of vinegar-egg on growth inhibition, differentiation human leukemic U937 cells and its immunomodulatory activity [J]. Journal of Food & Drug Analysis, 2018, 26(2): 731-740
- [15] Pasupuleti V K, Braun S. State of the Art Manufacturing of Protein Hydrolysates [M]. Protein Hydrolysates in Biotechnology. Springer Netherlands, 2008
- [16] Nyemb K, Guérin-Dubiard C, Dupont D, et al. The extent of ovalbumin *in vitro* digestion and the nature of generated peptides are modulated by the morphology of protein aggregates [J]. Food Chemistry, 2014, 157: 429-438
- [17] Kuipers B J H, Alting A C, Gruppen H. Comparison of the aggregation behavior of soy and bovine whey protein hydrolysates [J]. Biotechnology Advances, 2007, 25(6): 606-610
- [18] Lara C, Gourdinbertin S, Adamcik J, et al. Self-assembly of ovalbumin into amyloid and non-amyloid fibrils [J]. Biomacromolecules, 2012, 13(12): 4213-4221
- [19] Veerman C, De S G, Sagis L M, et al. Irreversible self-assembly of ovalbumin into fibrils and the resulting network rheology [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2003, 33(1): 121-127
- [20] Bolder S G, Vasbinder A J, Sagis L M C, et al. Heat-induced whey protein isolate fibrils: Conversion, hydrolysis, and disulphide bond formation [J]. International Dairy Journal, 2007, 17(7): 846-853
- [21] Nobuhara T, Matsumiya K, Nambu Y, et al. Stabilization of milk protein dispersion by soybean soluble polysaccharide under acidic pH conditions [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 34(1): 39-45
- [22] Rao Q, Labuza T P. Effect of moisture content on selected physicochemical properties of two commercial hen egg white powders [J]. Food Chemistry, 2012, 132(1): 373-384
- [23] Jin Y, Liang R, Liu J, et al. Effect of structure changes on hydrolysis degree, moisture state, and thermal denaturation of egg white protein treated by electron beam irradiation [J]. LWT - Food Science and Technology, 2017, 77: 134-141
- [24] 孙蓉. 南瓜叶蛋白的分离及其产物的生理功能评价[D]. 重庆: 西南大学, 2013
- SUN Rong. Isolation of pumpkin leaf protein and evaluation of its physiological function [D]. Chongqing: Southwest University, 2013
- [25] 崔春, 赵谋明, 曾晓房, 等. 酸法和酶法水解植物蛋白的差异及原因探讨[J]. 中国调味品, 2006, 7: 9-13
- CUI Chun, ZHAO Mou-ming, ZENG Xiao-fang, et al. Differences and causes of hydrolysis of plant proteins by acid and enzymatic methods [J]. Chinese Condiments, 2006, 7: 9-13
- [26] 豆玉新. 动态超高压微射流均质对卵清蛋白改性机理的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2008
- DOU Yu-xin. Study on the mechanism of dynamic ultra-high pressure microfluidization homogenization on ovalbumin [D]. Nanchang: Nanchang University, 2008
- [27] Carbonaro M, Nucara A. Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region [J]. Amino Acids, 2010, 38(3): 679-690
- [28] Goormaghtigh E, Ruyschaert J M, Raussens V. Evaluation of the information content in infrared spectra for protein secondary structure determination [J]. Biophysical Journal, 2006, 90(8): 2946-2957
- [29] 刘春雷, 孙立斌, 李相昕, 等. 大豆 7S 和 11S 蛋白二级结构与表面疏水性相关性的研究[J]. 食品科学, 2015, 36(17): 28-32
- LIU Chun-lei, SUN Li-bin, LI Xiang-xin, et al. Correlation between secondary structure and surface hydrophobicity of soybean 7S and 11S proteins [J]. Food Science, 2015, 36(17): 28-32
- [30] He S, Shi J, Walid E, et al. Reverse micellar extraction of lectin from black turtle bean (*Phaseolus vulgaris*): optimisation of extraction conditions by response surface methodology [J]. Food Chemistry, 2015, 166: 93-100
- [31] Xiong Z, Zhang M, Ma M. Emulsifying properties of ovalbumin: Improvement and mechanism by phosphorylation in the presence of sodium tripolyphosphate [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 29-37
- [32] 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, 37(10): 54-61
- LIU Li-li, WANG Huan, LI Dan, et al. Optimization of proteolytic process of egg white ovalbumin and its structural properties [J]. Food Science, 2016, 37(10): 54-61
- [33] Qian J Y, Ma L J, Wang L J, et al. Effect of pulsed electric field on structural properties of protein in solid state [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 74: 331-337
- [34] Søren J, Claus R, Richard I. Stabilisation of acidified skimmed milk with HM pectin [J]. Food Hydrocolloids, 2010, 24(4): 291-299

现代食品科技