

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2013.03.030

超高压处理对 S-卵白蛋白构象与功能特性的影响^{*}

黄群^{1,2} 金永国¹ 马美湖¹ 张晓维¹ 耿放¹ 孙术国^{1,2}

(1. 华中农业大学食品科学技术学院, 武汉 430070; 2. 吉首大学食品科学研究所, 吉首 416000)

摘要: 采用激光拉曼光谱、荧光光谱分析超高压(UHP)对 S-卵白蛋白构象的影响,并考察其对溶解性、乳化性和起泡能力等功能特性的影响。结果表明,经 UHP 处理后 S-卵白蛋白的分子量分布没有明显变化。随着压力增加,无规卷曲含量逐渐增加,二硫键构象变化使蛋白稳定性降低,酪氨酸残基包埋于侧链中,紧密折叠结构得以舒展。经 100 MPa 处理后 S-卵白蛋白的荧光强度略有增强,此后急剧下降,无峰位位移现象,说明 UHP 引起蛋白分子构象变化。S-卵白蛋白的溶解性、乳化性及起泡能力等功能特性均随压力增加而明显改善,以 300 MPa 处理较为理想,此后压力增加至 500 MPa 时反而下降。

关键词: S-卵白蛋白 超高压 拉曼光谱 蛋白构象 功能特性

中图分类号: TS253.1; Q512^{+.1} **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2013)03-0161-06

Effect of Ultra High Pressure on Conformation and Functional Properties of S-ovalbumin

Huang Qun^{1,2} Jin Yongguo¹ Ma Meihu¹ Zhang Xiaowei¹ Geng Fang¹ Sun Shuguo^{1,2}

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

2. Institute of Food Science, Jishou University, Jishou 416000, China)

Abstract: The effect of ultra high pressure (UHP) treatment on conformation of S-ovalbumin was studied with Raman spectra and fluorescence spectra analysis. The effect of UHP on some functional properties of S-ovalbumin, such as solubility, emulsibility and foamability, were also investigated. It was showed that no significant changed in the molecular weight distribution of S-ovalbumin after UHP. Along with the increase of pressure, the content of random coil of S-ovalbumin was increasing gradually, the stability decreasing owing to the conformation change of disulfide bonds, and tyrosine was buried in the side chain, accordingly the compactly plate sheet structure was to become loose. The fluorescence intensity showed a slight increase after UHP under 100 MPa, but then a sharp decline with the increase of pressure, no shift of the fluorescence emission peak happening, so it was pointed out that UHP induced conformational change. The solubility, emulsibility and foamability properties of S-ovalbumin had been improved significantly with the increase of pressure, and achieved the best effect at 300 MPa. Then, there was a drop down when the pressure was 500 MPa.

Key words: S-ovalbumin Ultra high pressure Raman spectra Protein conformation Functional properties

引言

超高压(Ultra high pressure, UHP)技术是食品

在常温或较低温度下,加压至 100 ~ 1 000 MPa 后保持一定时间,使淀粉、蛋白质和酶等生物大分子改变活性、变性或糊化,同时杀灭细菌等微生物,而达到

收稿日期: 2012-03-07 修回日期: 2012-03-22

^{*} 现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-41-K23)

作者简介: 黄群, 博士生, 吉首大学讲师, 主要从事食品生物技术与农产品加工研究, E-mail: huangqunlaoshi@126.com

通讯作者: 马美湖, 教授, 博士生导师, 主要从事动物性食品科学与综合利用研究, E-mail: mameihuh@ yahoo.com.cn

杀菌、灭酶和改善食品功能性质的食品加工技术^[1]。超高压可较好地保留食品风味、色泽和营养,调整食品质构,延长食品保藏期^[2-4]。Maggi 等研究发现超高压下蛋白质的变性涉及中间体的形成,Sale 等发现低聚体蛋白的离解伴随着亚基的聚合或沉淀作用,Heinz 研究表明压力离解的亚基随时间、构象而变化,Hayakawa 等提出蛋白质高压改性的设想^[5-8]。在超高压改善蛋白性能方面,国内外主要集中于牛血清蛋白、乳清蛋白等小分子蛋白^[9-11]。卵白蛋白,又称卵清蛋白,占蛋清蛋白质质量的 54%~63%,为单体、球状磷糖蛋白^[12-13]。自然 N-卵白蛋白在禽蛋贮藏期间转化为热稳定形式——S-卵白蛋白^[14]。在 S-卵白蛋白形成进程中分子特性与功能性质会发生相应变化,导致某些功能特性的劣化,如凝胶硬度降低、泡沫稳定性下降等^[15-16]。本文利用拉曼光谱、荧光光谱为检测手段,分析超高压对 S-卵白蛋白结构的影响,并测定功能特性的变化趋势,揭示超高压影响 S-卵白蛋白功能特性的分子机理,为卵白蛋白的超高压改性提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

S-卵白蛋白(质量分数 98.32%),按文献^[15]制备;1-苯胺基萘-8-磺酸(ANS)、邻苯二甲醛(OPA),Sigma 公司;考马斯亮兰蛋白测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;Na₂HPO₄、NaH₂PO₄ 等为分析纯;试验用水为二次蒸馏水。

1.2 主要仪器与设备

UHPF-800-MPa-3L 型超高压设备,包头科发新型技术食品机械有限公司;RF-5301pc 型荧光分光光度计,日本岛津公司;inVia 型激光显微拉曼光谱仪,英国 Renishaw 公司;ALPHAL1-4LD 型真空冷冻干燥机,德国 CHRIST 公司;SCR20BC 型高速冷冻离心机,日本日立公司;FE20 型 pH 计,梅特勒托利多中国有限公司;DS-1 型高速组织捣碎机,上海标本模型厂;iMARK 型酶标仪,美国 Bio-Rad 公司。

1.3 超高压处理

冷冻干燥处理后的蛋白液的 UHP 处理在配置有温度与压力调控装置的反应单元中进行,质量分数为 10% 的 S-卵白蛋白溶液用聚乙烯密封,真空包装后进行 UHP 处理,温度控制在(25±2)℃,以免导致蛋白液过热变性。样品分别在 100、300 与 500 MPa 下处理 15 min。升压速率约 250 MPa/min,降压速率约 300 MPa/min。

1.4 SDS-PAGE 电泳

凝胶制备:分离胶质量分数 12%、浓缩胶质量分数 5%。样品处理:用蛋白上样缓冲液配成 1 mg/mL 溶液,沸水加热 3~5 min。电泳条件:浓缩胶中恒流 25 mA,样品进入分离胶后调至 40 mA,恒流 3 h。

1.5 光谱测定

1.5.1 拉曼光谱

干燥的 S-卵白蛋白放在拉曼光谱仪下,激光波长 785 nm,光栅密度为 600 grades/cm,功率 25 mW,狭缝宽度 200 μm,扫描范围 4 000~400 cm⁻¹,每次扫描时间 60 s,积分 10 次,以苯丙氨酸(波数 1 006 cm⁻¹)为归一化因子。

1.5.2 荧光光谱

用 pH 值 7.4 的磷酸盐缓冲液,将 S-卵白蛋白样品稀释至质量浓度 0.5 mg/mL,超声处理 5 min 混匀后,室温下分别测定荧光光谱,条件为:激发波长 280 nm,狭缝宽度 5 nm,扫描范围 300~500 nm。

1.6 功能特性测定

1.6.1 溶解性

称取 S-卵白蛋白样品溶于质量分数 0.9% NaCl 缓冲液中,配置成 0.4 mg/mL 的蛋白溶液。室温下磁力搅拌 1 h,取 15 mL 于离心管中,3 000 r/min 离心 20 min,收集上清液。利用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒测定上清液蛋白质量分数。蛋白溶解性根据上清液中蛋白质占原料中总的蛋白质的质量分数来计算。

1.6.2 起泡能力

S-卵白蛋白 1 g 溶解于 100 mL 蒸馏水中,室温下于高速组织捣碎机中均质 2 min(10 000 r/min),然后快速移至 250 mL 量筒,记下均质停止时泡沫体积,起泡性根据均质停止时泡沫体积与 100 mL 的百分比来计算。

均质停止 30 min 后,记下此时泡沫体积,泡沫稳定性根据 30 min 时泡沫占均质停止时泡沫的体积分数来计算。

1.6.3 乳化性

S-卵白蛋白溶解于 pH 值 7.4、0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲溶液中(1 mg/mL)。取 30 mL 样品加入 10 mL 玉米油,于室温下 10 000 r/min 匀质 1 min 以形成乳化液。匀质后立即从乳化液底部吸取 100 μL,加到 5 mL 质量分数 0.1% 的 SDS 中混匀。以质量分数 0.1% 的 SDS 溶液作空白,于波长 500 nm 处测其吸光度 A₁,即为乳化活性 E_A。15 min 后,再次测定吸光度 A₂,得乳化稳定性 E_S = A₁t / (A₁ - A₂),t 表示时间。

2 结果与分析

2.1 UHP 对蛋白分子量的影响

不同压力处理后的 S-卵白蛋白 SDS-PAGE 电泳如图 1(图中从左至右为未经 UHP 处理、处理压力 100、300 和 500 MPa)所示。由图分析可知,与未经 UHP 处理的样品相比,经 UHP 处理后 S-卵白蛋白的分子量分布没有明显变化。

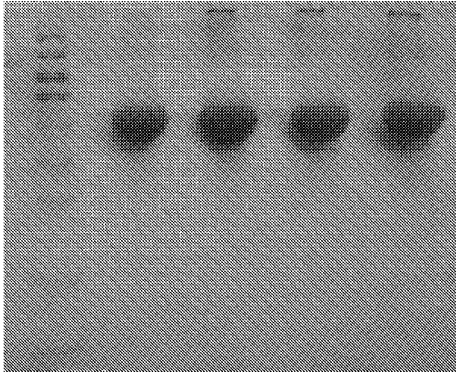


图 1 不同 UHP 处理 S-卵白蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Fig.1 SDS-PAGE profile of S-ovalbumin after UHP under various pressure treatments

2.2 拉曼光谱分析 UHP 对蛋白构象的影响

蛋白质构象或构型的变化引起拉曼激光散射的不同,呈现不同的吸收峰位置、强度和退偏比,从而得到酰胺 I、酰胺 III 带振动的二级结构信息,以及酪氨酸和色氨酸等侧链的构象信息及其随微环境的变化情况^[17-18]。图 2 为经不同压力处理(0.1 MPa 指未经 UHP 处理,下同)后的 S-卵白蛋白拉曼谱图。表 1 列出了拉曼谱图的特征峰归属。

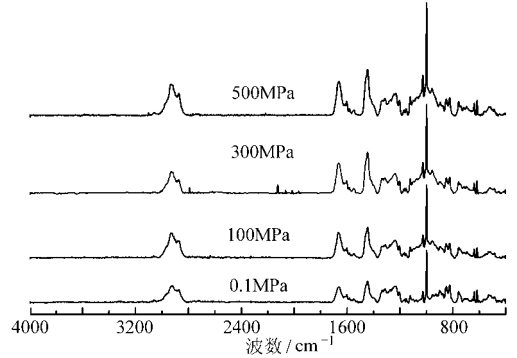


图 2 不同 UHP 处理 S-卵白蛋白的拉曼图谱

Fig.2 Raman spectra of S-ovalbumin after UHP under various pressure treatments

表 1 S-卵白蛋白拉曼图谱的特征峰归属

Tab.1 Assignment of characteristic bands in Raman spectra of S-ovalbumin

拉曼频率/cm ⁻¹				归属	结构信息
0.1 MPa	100 MPa	300 MPa	500 MPa		
515	516	519	518	S—S	扭式-扭式-扭式
529	531			S—S	扭式-扭式-反式
616	617	617	617	C—C 骨架振动	伸缩振动
638	639	639	639	酰胺 IV 带	O=C—N
	744	696/714/745	696/716/739	酰胺 V 带	N—H 变性振动
756/879	754	756	756	Trp	特征峰
824	825	824	824	Tyr	酚羟基的状态(暴露或包埋)
848	850	849	849	Tyr	酚羟基的状态(暴露或包埋)
900	893	900	894	C—C 骨架振动	α-螺旋
928				C—C 骨架振动	无规卷曲
954	955	957	958	C—C 骨架振动	无规卷曲
998	998	998	999	Phe	苯丙氨酸残基
1 027	1 027	1 027	1 027	Phe	苯丙氨酸残基
		1 073	1 073	C—N 骨架振动	伸缩
		1 099	1 099	C—N 骨架振动	伸缩
1 122	1 122	1 122	1 122	C—N 骨架振动	伸缩
1 204	1 203	1 202	1 203	Tyr 或 Phe	特征峰
1 229/1 237	1 240/1 310	1 238	1 230	酰胺 III 带	C—N 伸缩振动或 N—H 变形振动
		1 315	1 315	酰胺 III 带	α-螺旋
		1 334		脂肪族的 C—H	扭曲振动
1 444	1 444	1 444	1 444	CH ₂	弯曲
1 600	1 601	1 602	1 602	酰胺 I 带	C—H 伸缩振动或 N—H 变形振动
		1 663	1 663	酰胺键 C=O 伸缩, N—H 摇摆	无规则结构
1 659	1 666			酰胺 I 带(多肽骨架)	β-折叠
		2 878	2 873	脂肪族的 C—H	伸缩
2 934	2 964	2 929	2 918/2 930	脂肪族的 C—H	伸缩

蛋白质主链构象主要由处于 $1\ 225 \sim 1\ 275\ \text{cm}^{-1}$ 附近的酰胺 III 谱带 (Amide III) 和处于 $1\ 600 \sim 1\ 700\ \text{cm}^{-1}$ 附近的酰胺 I 谱带 (Amide I) 来确定, Amide III 主要为 C—N 伸缩振动和 N—H 面内弯曲振动, Amide I 主要为多肽链的 C=O 伸缩振动。目前关于 Amide III 对蛋白质二级结构的表征仍有争议, 故采用 Amide I 对蛋白质的二级结构进行分析^[17-18]。由图 2 和表 1 分析可知, 不同压力处理后 S-卵白蛋白 Amide I 发生了变化。一般来说 Amide I 中 $1\ 645 \sim 1\ 657\ \text{cm}^{-1}$ 为 α -螺旋、 $1\ 660\ \text{cm}^{-1}$ 附近为无规卷曲, $1\ 665 \sim 1\ 680\ \text{cm}^{-1}$ 为 β -折叠^[17]。分析可知, 经 UHP 处理后蛋白质 $1\ 663\ \text{cm}^{-1}$ 处出现无规卷曲特征峰。 $1\ 600\ \text{cm}^{-1}$ 处所对应的吸收峰归属于 Amide I 的 C—H 伸缩振动或 N—H 变形振动, 随着处理压力的升高而发生蓝移 ($1\ 600 \sim 1\ 602\ \text{cm}^{-1}$), 说明 UHP 处理导致 S-卵白蛋白的二级结构发生变化。

二硫键的伸缩振动频率是 C—S 键和 C—C 键的内旋转的函数, 蛋白质和多肽的 S—S 键的伸缩振动频率位于 $480 \sim 550\ \text{cm}^{-1}$ 。通常, 将位于 $510\ \text{cm}^{-1}$ 附近谱峰归属为扭式-扭式-扭式模式, $515 \sim 525\ \text{cm}^{-1}$ 附近谱峰归属为扭式-扭式-反式模式, $545\ \text{cm}^{-1}$ 附近谱峰归属为反式-扭式-反式模式。UHP 处理后 S-卵白蛋白 $500 \sim 550\ \text{cm}^{-1}$ 处谱带发生了明显变化, 说明 UHP 处理对其二硫键构象影响较大。UHP 处理前 S-卵白蛋白在 $500 \sim 550\ \text{cm}^{-1}$ 主要表现为 $515\ \text{cm}^{-1}$ 和 $529\ \text{cm}^{-1}$ 处 2 个谱峰, 表明未经 UHP 处理的 S-卵白蛋白二硫键为扭式-扭式-扭式和扭式-扭式-反式共存构象; 随着压力的升高, 位于 $529\ \text{cm}^{-1}$ 附近的吸收峰消失, 表明 UHP 处理后 S-卵白蛋白二硫键的构象变为扭式-扭式-扭式单一模式存在, 从而降低蛋白质的稳定性。

拉曼光谱可以反映蛋白质中某些氨基酸残基的微环境。 $850\ \text{cm}^{-1}$ 和 $830\ \text{cm}^{-1}$ 的两个峰是酪氨酸残基的振动谱带^[18]。这 2 个拉曼峰的比值可以反映酪氨酸的微环境, UHP 处理前后 S-卵白蛋白在 $830\ \text{cm}^{-1}$ 附近谱峰出现在 824 、 825 、 824 和 $824\ \text{cm}^{-1}$; $850\ \text{cm}^{-1}$ 附近谱峰出现在 848 、 849 、 849 和 $849\ \text{cm}^{-1}$; 通过计算 I_{850}/I_{830} 分别为 1.15 、 1.08 、 1.05 和 1.03 , 比值降低表明作为氢键供体的酚式羟基增加, 或酪氨酸残基越来越包埋于蛋白质侧链中。

由上述分析可知, S-卵白蛋白随着 UHP 处理压力的升高, 二级结构中无规卷曲含量逐渐增加, 同时二硫键构象发生变化, 说明 UHP 处理过程中蛋白质结构受到影响, 紧密的折叠结构得以舒展、变得松散。

2.3 荧光光谱分析 UHP 对蛋白构象的影响

由于选择性好、灵敏度高, 荧光光谱法是研究水溶液中蛋白质分子构象的常用方法, 为进一步验证拉曼光谱的试验结果, 测定了 S-卵白蛋白经 UHP 处理前后的发射荧光光谱。S-卵白蛋白中酪氨酸 (Tyr)、色氨酸 (Trp) 和苯丙氨酸 (Phe) 残基等芳香族氨基酸能发射内源荧光, 且其荧光主要由 Trp 残基所贡献^[15-16]; 拉曼光谱结果分析表明, 随着压力的增加酪氨酸残基 (Tyr) 包埋于蛋白质侧链中的程度增强。由 S-卵白蛋白的荧光谱图 (图 3) 分析可知, S-卵白蛋白经 $100\ \text{MPa}$ 处理后, 荧光强度略有增强; 此后继续增加压力至 $300\ \text{MPa}$, 荧光强度反而急剧下降; $500\ \text{MPa}$ 处理后的荧光强度与 $300\ \text{MPa}$ 基本一致; UHP 处理前后峰位没有发生蓝移或红移现象, 基本维持在 $335\ \text{nm}$ 左右。这可能是由于 $100\ \text{MPa}$ 处理诱导 S-卵白蛋白分子轻度展开, 芳香族氨基酸有一定程度的暴露而导致荧光强度略有增强; 此后压力继续增加, S-卵白蛋白分子进一步展开, 芳香族氨基酸尤其是酪氨酸残基 (Tyr) 反而包埋于侧链中, 导致荧光强度较大幅度降低。荧光强度改变可以说明蛋白结构发生改变, 使蛋白质分子伸展, 芳香族氨基酸残基间能量传递降低, 表明 UHP 处理引起了 S-卵白蛋白分子构象的变化^[19]。

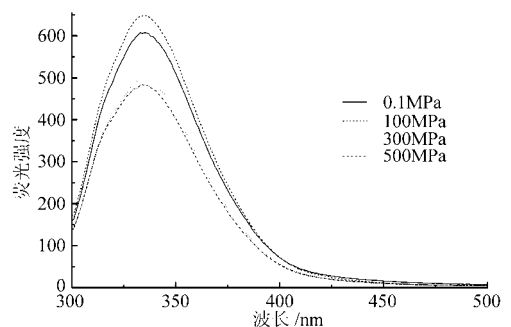


图 3 不同 UHP 处理 S-卵白蛋白的荧光光谱

Fig. 3 Fluorescence spectra of S-ovalbumin after UHP under various pressure treatments

2.4 UHP 对功能特性的影响

2.4.1 溶解性

由图 4 分析可知, 经 100 、 $300\ \text{MPa}$ 的 UHP 处理后, S-卵白蛋白的溶解性随压力的增加而明显提高, 但是当压力增加至 $500\ \text{MPa}$ 时溶解性急剧下降且低于未经 UHP 处理的样品。这可能是由于在压力作用下, S-卵白蛋白溶液的聚集状态遭到破坏, 大颗粒破碎为较小颗粒, 蛋白与水的接触面积增大。拉曼光谱分析也表明, 在 UHP 作用下 S-卵白蛋白分子得以伸展、球状结构变得松散, 内部极性基团和疏水基团暴露出来, 结合水增多, 蛋白质的水化作用增强, 溶解性从而得以提高^[10]。但压力增加至 $500\ \text{MPa}$

时,蛋白质内部的疏水基团大量暴露在分子表面,与水分子之间的氢键作用减少,使蛋白质表面不能与水相溶而失去水膜,解缔的蛋白质重新聚合,导致溶解性较大幅度下降。

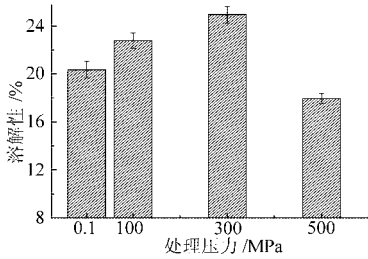


图4 UHP处理对S-卵白蛋白的溶解性的影响

Fig. 4 Effect of UHP on solubility of S-ovalbumin

2.4.2 乳化性

蛋白质分子与水、脂肪等多相体系中分子间相互作用而形成乳化性,是衡量蛋白质促进油-水型乳状液形成能力的指标,受氨基酸种类、数量及憎水亲水基团的影响。由图5分析可知,S-卵白蛋白的乳化性随压力增大而显著升高,在300 MPa时达最大值;而当压力继续增加至500 MPa时乳化性反而明显降低,这与UHP处理对S-卵白蛋白溶解性的影响结果一致。这主要是由于UHP处理使蛋白质分子肽链逐步伸展,内部疏水基团暴露出来,亲油性增强;同时极性侧链基团水合作用增强,亲水性提高;两者达到较好平衡,从而使得乳化性提高。此后压力继续增大,蛋白质结构破坏程度加剧,表面疏水性减少,蛋白表面积缩小,油水界面所吸附的蛋白降低,从而导致乳化活性和乳化稳定性均下降^[20]。

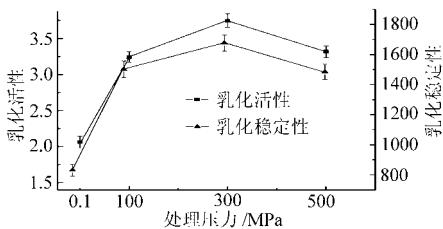


图5 UHP处理对S-卵白蛋白乳化性的影响

Fig. 5 Effect of UHP on emulsibility of S-ovalbumin

2.4.3 起泡能力

UHP处理对S-卵白蛋白起泡能力的影响如图6所示。由图分析可知,随着压力的增大,S-卵白蛋白溶液的起泡性稍有提高,由最初的146%增加至300 MPa处理后的160%,当压力增加至500 MPa时反而下降

降至137%。UHP处理后S-卵白蛋白的泡沫稳定性得到较好改善,也呈现出与起泡力相似的变化趋势,以300 MPa最为理想,此后反而明显下降。这可能是由于UHP处理中,维持蛋白质空间结构的非共价键相互作用力被打断,S-卵白蛋白分子得以一定程度地伸展、柔顺性增加,此外疏水基团的外露使空气-水界面的表面张力有所下降,蛋白质能更好地扩散到空气-水界面,从而使起泡能力提高^[21-22]。

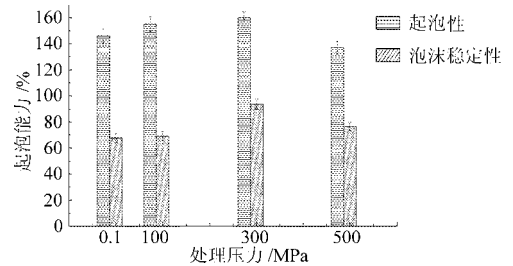


图6 UHP处理对S-卵白蛋白起泡能力的影响

Fig. 6 Effect of UHP on foaming ability of S-ovalbumin

3 结论

(1) SDS-PAGE分析表明,S-卵白蛋白经UHP处理后分子量分布没有明显变化。

(2) 拉曼光谱分析表明,UHP处理导致S-卵白蛋白二级结构中无规卷曲含量逐渐增加,对二硫键的较大影响降低了蛋白稳定性,酪氨酸残基包埋于侧链中,蛋白紧密的折叠结构得以舒展。

(3) 经100 MPa处理的S-卵白蛋白的荧光强度略有增强,此后压力继续增加而荧光强度急剧下降,说明蛋白构象改变、分子伸展。

(4) 经100 MPa和300 MPa处理后,S-卵白蛋白溶解性随压力增加而明显提高,但增加至500 MPa时溶解性急剧下降。

(5) S-卵白蛋白乳化性随压力增大而显著升高,在300 MPa时达最大值;压力继续增加至500 MPa时乳化性反而明显降低。

(6) S-卵白蛋白起泡性随压力增大而稍有提高,由最初的146%增加至300 MPa处理后的160%,当压力增加至500 MPa时下降至137%;UHP处理后的泡沫稳定性有一定改善,均以300 MPa较为理想。

参考文献

- Lullien P V, Balny C. High pressure as a tool to study some proteins' properties: conformational modification, activity and oligomeric dissociation[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2002, 3(3): 209 ~ 221.
- Van Der P I, Van L A, Hendrickx M. Foaming properties of egg white proteins affected by heat or high pressure treatment[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(4): 1 410 ~ 1 426.
- 赵红霞, 张守勤, 吴华, 等. 高压处理蛋黄酱动态粘弹特性的研究[J]. 农业机械学报, 2002, 33(2): 61 ~ 63.

- Zhao Hongxia, Zhang Shouqin, Wu Hua, et al. Dynamic viscoelasticity property of mayonnaise during high pressure processing[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2002, 33(2): 61 ~ 63. (in Chinese)
- 4 Puppo M C, Speroni F, Chapleau N, et al. Effect of high-pressure treatment on emulsifying properties of soybean proteins[J]. Food Hydrocolloid, 2005, 19(2): 289 ~ 296.
- 5 Maggi A, Cassara A, Rovere P, et al. Use of high pressure for inactivation of butyric clostridia in tomato serum[J]. Industria Conserve, 1995, 70(3): 289 ~ 293.
- 6 Sale A J H, Gould G W, Hamilton W A, et al. Inactivation of bacterial spores by hydrostatic pressure[J]. Microbiology, 1970, 60(3): 323 ~ 334.
- 7 Heinz V. High pressure germination and inactivation kinetics of bacterial spores[M] // Isaacs N S. High pressure food science, bioscience and chemistry. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1998: 436 ~ 441.
- 8 Hayakawa I, Kanno T, Yoshiyama K, et al. Oscillatory compared with high pressure sterilization on *Bacillus stearothermophilus* spores[J]. Journal of Food Science, 1994, 59(1): 164 ~ 167.
- 9 徐树来, 张守勤, 刘静波, 等. 切分蔬菜高压保鲜技术的研究进展及发展对策[J]. 农业机械学报, 2003, 34(2): 132 ~ 135.
Xu Shulai, Zhang Shouqin, Liu Jingbo, et al. Research status and developing strategy on preservation of cut-vegetable on high pressure[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2003, 34(2): 132 ~ 135. (in Chinese)
- 10 Molina E, Papadopoulou A, Ledward D A. Effects of combined high-pressure and heat treatment on the textural properties of soy gels[J]. Food Chemistry, 2003, 80(3): 367 ~ 370.
- 11 Molina E, Papadopoulou A, Ledward D A. Emulsifying properties of high pressure treated soy protein isolate and 7 s and 11 s globulins[J]. Food Hydrocolloids, 2001, 15(3): 263 ~ 269.
- 12 黄群, 马美湖, 黄茜, 等. 鸡蛋清卵白蛋白与溶菌酶的两步超滤法分离[J]. 农业机械学报, 2012, 43(3): 146 ~ 151.
Huang Qun, Ma Meihu, Huang Xi, et al. Separation of ovalbumin and lysozyme from chicken egg white using two-stage ultrafiltration technique[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(3): 146 ~ 151. (in Chinese)
- 13 Huang Qun, Qiu Nin, Ma Meihu, et al. Estimation of egg freshness using S-ovalbumin as an indicator[J]. Poultry Science, 2012, 91(3): 739 ~ 743.
- 14 黄群, 马美湖, 金永国, 等. 贮存条件对蛋清 S-卵白蛋白形成的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(5): 288 ~ 292.
Huang Qun, Ma Meihu, Jin Yongguo, et al. Effect of storage condition on S-ovalbumin formation in albumen[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28(5): 288 ~ 292. (in Chinese)
- 15 Huang Qun, Ma Meihu, Huang Xi, et al. Effect of S-configuration transformation of ovalbumin on its molecular characteristics and emulsifying properties[J]. Asian Journal of Chemistry, 2012, 24(4): 1 675 ~ 1 679.
- 16 黄群, 马美湖, 蔡朝霞, 等. S-构型转化对卵白蛋白微观结构的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(12): 3 319 ~ 3 332.
Huang Qun, Ma Meihu, Cai Zhaoxia, et al. Effect of S-configuration transformation on the microstructure of ovalbumin[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2011, 31(12): 3 319 ~ 3 332. (in Chinese)
- 17 Wong H W, Choi S M, Phillips D L, et al. Raman spectroscopic study of deamidated food proteins[J]. Food Chemistry, 2009, 113(2): 363 ~ 370.
- 18 刘燕燕, 曾新安, 韩忠, 等. Raman 光谱分析脉冲电场对大豆分离蛋白的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(12): 3 236 ~ 3 239.
Liu Yanyan, Zeng Xinan, Han Zhong, et al. Raman spectra study of soy protein isolate structure treated with pulsed electric fields[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2010, 30(12): 3 236 ~ 3 239. (in Chinese)
- 19 贾俊强, 马海乐, 赵伟睿, 等. 超声波处理对小麦胚芽球蛋白理化和功能性质的影响[J]. 农业机械学报, 2009, 40(8): 105 ~ 110.
Jia Junqiang, Ma Haile, Zhao Weirui, et al. Effect of ultrasound treatment on physicochemical and functional properties of wheat germ globulin[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(8): 105 ~ 110. (in Chinese)
- 20 Linares E, Larre C, Lemeste M, et al. Emulsifying and foaming properties of gluten hydrolysates with an increasing degree of hydrolysis: role of soluble and insoluble fractions[J]. Cereal Chemistry, 2000, 77(4): 414 ~ 420.
- 21 李迎秋, 陈正行. 高压脉冲电场对大豆分离蛋白功能性质的影响[J]. 农业工程学报, 2006, 22(8): 194 ~ 198.
Li Yingqiu, Chen Zhengxing. Effect of high intensity pulsed electric field on the functional properties of protein isolated from soybean[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2006, 22(8): 194 ~ 198. (in Chinese)
- 22 赵红霞, 张守勤, 周丰昆. 高压加工对鲜蛋液流变特性的影响[J]. 农业机械学报, 2004, 35(6): 138 ~ 141.
Zhao Hongxia, Zhang Shouqin, Zhou Fengkun. Rheological property of egg liquid during high pressure processing[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2004, 35(6): 138 ~ 141. (in Chinese)
- 23 金声琅, 殷涌光, 王莹. 脉冲电场协同加热对乳清蛋白凝胶质构特性的影响[J]. 农业机械学报, 2013, 44(1): 142 ~ 146.
Jin Shenglang, Yin Yongguang, Wang Ying. Effects of combined pulsed electric field and heat treatment on texture characteristics of whey protein gels[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013, 44(1): 142 ~ 146. (in Chinese)