

巯基和疏水性对蛋白质乳化及凝胶特性的影响

邵俊花^{1,2}, 吴菊清², 周光宏^{2,*}, 魏朝贵², 徐幸莲², 刘登勇¹, 宋立¹, 贾娜¹

(1.渤海大学食品科学研究院, 化学化工与食品安全学院, 辽宁 锦州 121013;

2.南京农业大学 肉品加工与质量控制教育部重点实验室, 江苏 南京 210095)

摘 要: 利用化学修饰试剂 β -巯基乙醇和吐温-80处理蛋白质溶液, 研究蛋白质的巯基和疏水性对乳化和凝胶特性的影响, 确定二硫键和疏水相互作用在乳化和凝胶形成中的作用。结果表明: 巯基阻断剂 β -巯基乙醇的添加, 增加蛋白质溶液的自由巯基含量, 降低凝胶速率和总体黏弹性特征, 暗示阻断二硫键的形成降低了热诱导凝胶特性。但自由巯基含量与蛋白质的乳化特性无显著相关性; 蛋白质的表面疏水性指数越高, 越不利于形成稳定的乳化物, 对乳化凝胶特性无显著影响。以上结果说明, 一定的疏水性对于形成稳定的乳化物很重要, 而二硫键对形成良好的凝胶特性有贡献。

关键词: 巯基; 疏水性; 肌肉蛋白质; 乳化; 凝胶

Effects of Sulfhydryl Content and Hydrophobicity on Gel and Emulsifying Properties of Pork Proteins

SHAO Jun-hua^{1,2}, WU Ju-qing², ZHOU Guang-hong^{2,*}, WEI Chao-gui², XU Xing-lian², LIU Deng-yong¹, SONG Li¹, JIA Na¹

(1. Research Institute of Food Science, College of Chemistry, Chemical Engineering and Food Safety, Bohai University, Jinzhou 121013, China;

2. Key Laboratory of Meat Processing and Quality Control, Ministry of Education, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The effect of changes in sulfhydryl content and surface hydrophobicity induced by chemical modification with β -mercaptoethanol and Tween-80, respectively, on the emulsifying and gel properties of salt-soluble proteins of pork muscle were examined and the roles of disulfide bonds and hydrophobic interactions in forming emulsions and gels were elaborated. Free sulfhydryl content of salt-soluble protein solutions was increased with the addition of β -mercaptoethanol as a sulfhydryl blocking agent and delayed gel formation and reduced overall viscoelasticity were observed, suggesting that blocking the formation of disulfide bonds can deteriorate the heat-induced gelation characteristics of pork proteins. However, no significant correlation between the free —SH content and emulsifying properties of pork proteins was observed. On the other hand, higher surface hydrophobicity resulted in formation of less stable emulsions without significantly affecting the gel properties. These data suggest that an appropriate degree of hydrophobicity may be of great significance for the formation of stable emulsions and that disulfide bonds presumably contributes to good gel properties.

Key words: sulfhydryl; hydrophobicity; pork proteins; emulsion; gel

中图分类号: TS251

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)23-0155-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201323033

可溶性蛋白质对于脂肪乳化、脂肪球膜与蛋白基质结合及后续热加工过程中产品的保油保水性、质构具有重要作用^[1-2]。肉糜中蛋白质的构象决定了参与乳化的蛋白质残基的类型和数量, 而二硫键、氢键、静电力、疏水相互作用等是维持蛋白质构象的主要作用力, 这些作用力的改变会影响蛋白质的功能特性, 如乳化、凝胶、保水性等^[1]。Gordon等^[1]研究表明改变疏水作用、氢键和二硫键的形成, 影响乳化蛋白质的提取量和种类; Wu等^[2]认为二硫键在乳化凝胶形成过程中对脂肪的稳定起决定作

用。那么二硫键和疏水作用是如何影响蛋白质乳化和凝胶的形成? 又是哪些条件影响乳化凝胶的保油保水性? 未见相关的报道。

β -巯基乙醇和吐温-80是常见的蛋白质化学修饰试剂, β -巯基乙醇能阻断部分巯基被氧化而形成二硫键, 吐温-80则可以改变蛋白质的疏水性。本实验用这两种化学修饰试剂处理蛋白质溶液, 研究蛋白质的巯基和疏水性对乳化和凝胶特性的影响, 确定二硫键和疏水相互作用在乳化和凝胶形成中的作用。

收稿日期: 2012-10-30

作者简介: 邵俊花(1980—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为肉品加工与质量安全控制。E-mail: shaojh024@163.com

*通信作者: 周光宏(1960—), 男, 教授, 博士, 研究方向为畜产品加工与质量安全控制。E-mail: ghzhou@njau.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜猪背最长肌(宰后24~48h, pH5.6~5.9), 购于农贸市场。剔除瘦肉上可见的结缔组织和脂肪, 绞碎, 每份500g, 分装于聚乙烯真空包装袋中, -18℃条件下贮存备用。

大豆油(金龙鱼, 100%油) 苏果超市; 氯化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、盐酸、氢氧化钠、 β -巯基乙醇、5,5'-二硫代二硝基苯甲酸盐(DNTB)均为分析纯。

1.2 仪器与设备

高速组织捣碎机 上海精科实业有限公司; 磁力搅拌器 江苏国华仪器厂; 涡流混合器 江苏省金坛市医疗仪器厂; UV-2450紫外分光光度计 日本岛津公司; 实验室pH计 美国Mettler Toledo公司; Beckman Avanti J-E高速离心机 美国Beckman Coulter公司; MUL-9000 H2O纯水机 昆山总馨机械有限公司; SIM-F124 SANYO制冰机 日本三洋公司; MM-12型绞肉机(直径0.6cm) 广东省韶关市新通力食品机械有限公司; Ultra-turrax乳化均质机 德国IKA公司; YP1201N电子天平 上海精密科学仪器公司; MCR301旋转流变仪 奥地利安东帕公司; M2e多功能酶标仪 美国MD公司。

1.3 方法

1.3.1 蛋白提取及含量测定

全肉盐溶性蛋白的提取根据Zorba^[3]的方法进行, 具体操作步骤如下: 将0.4mol/L NaCl溶液100mL与25g碎肉放入搅拌机, 18000r/min混合1min。两层纱布过滤去掉结缔组织。滤液用0.4mol/L NaCl溶液和0.1mol/L NaOH溶液调节蛋白质量浓度(30mg/mL)和pH 6.6。用30mg/mL的蛋白溶液分别制备10mg/mL和15mg/mL的蛋白溶液备用。

提取出的可溶性蛋白质的浓度用双缩脲法测定^[4], 利用牛血清白蛋白作为标准。双缩脲试剂的制备: 称1.50g硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)和6g酒石酸钾钠($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 于500mL水溶解, 在搅拌下加入300mL 10g/100mL NaOH溶液, 用水稀释到1L后贮存于塑料瓶中, 此试剂可长期保存。

1.3.2 乳浊液的制备

蛋白溶液中加入化学修饰试剂搅拌均匀, 反应30min。将10mL油加入到含有化学修饰试剂的蛋白溶液(10mg/mL)中, 用Ultra-turrax乳化均质机以均质速率17500r/min进行乳化均质1min。所得到的乳化液0.5h之内全部用完。具体添加量见表1。

1.3.3 乳化活性和乳化稳定性测定

研究豆油的盐溶性蛋白乳化液在不同化学修饰试剂下的乳化活性和乳化稳定性, 蛋白质的乳化活性通过浊度法进行测定^[5]。24mL蛋白溶液(30mg/mL)+6mL油的混合物在50mL塑料离心管中进行均质(起始温度为0~4℃), 采用Ultra-turrax乳化均质机在9500r/min速率条件下进行均质。

将均质后的乳化液放在带有25mL刻度的小烧杯里, 环境温度在4℃左右, 立即从烧杯底部取20 μ L乳化液放入小试管中, 再用0.1% SDS溶液5mL稀释; 然后同样地分别在10、30、60、120、180min后, 从烧杯底部取出20 μ L的乳化液, 并用5mL的0.1% SDS溶液稀释, 用分光光度计在500nm波长处测定其吸光度。分别求出乳化液的乳化活性(EAI)和乳化稳定性(ESI), 其中ESI以乳浊液存放30min, 于500nm波长处测得的吸光度表示。EAI按照下列公式计算。

$$\text{EAI}(\text{mL/g}) = \frac{4.606 \times A_{500\text{nm}}}{\rho \times (1 - \phi)} \times 10^4 \times \text{DF}$$

式中: $A_{500\text{nm}}$ 为500nm波长处的吸光度; ρ 为乳化之前蛋白的质量浓度/(g/mL); ϕ 为乳化液中油所占的体积比例; DF为稀释倍数。

1.3.4 表面疏水性

表面疏水性用1-苯氨基萘-8-磺酸(ANS)作为荧光探针进行测定, 方法参照Kato^[6]、Haskard^[7]等方法。用磷酸缓冲液(10mmol/L, pH7.0)制备 8×10^{-3} mol/L ANS⁻的贮备液, 15mg/mL蛋白溶液。在5个10mL的离心管中分别加入4mL储备液、20 μ L的ANS⁻贮备液, 然后再分别依次加入10、20、30、40 μ L和50 μ L 15mg/mL的蛋白溶液。用涡流漩涡混合器充分混合。在390nm(激发波长)和470nm(发射波长)测量(20℃)荧光强度, 狭缝5nm, 以荧光强度对蛋白质质量浓度作图, 初始段的斜率即为蛋白质分子的表面疏水性指数, 扫描速率10nm/s。

1.3.5 总巯基和自由巯基的测定

参考Ellman等^[8]方法, 并由Beveridge等^[9]改进。用5,5'-二硫代二硝基苯甲酸盐(DNTB)滴定的具体方法如下: 取3mL的蛋白质溶液, 加入3mL 0.1mol/L磷酸盐缓冲液(含有1mmol/L EDTA和1% SDS), 再加入0.1mL DNTB, 剧烈振荡后在25℃条件下水浴反应1h。然后将混合物以10000 \times g离心30min。以未加DNTB为对照, 取上清液在412nm波长处测定其吸光度, 以13600L/(mol \cdot cm)消光系数计算巯基含量。总巯基: 15mg的蛋白样品悬浮

表1 不同处理肌肉蛋白乳浊液的具体配方
Table 1 Formulations of pork protein emulsions

处理方式	油添加量/mL	10mg/mL蛋白溶液添加量/mL	化学修饰试剂添加量/mL
A0、B0(空白组)	10	40	0
A1(0.1% 2-巯基乙醇)	10	40	0.05
A2(0.2% 2-巯基乙醇)	10	40	0.10
A3(0.3% 2-巯基乙醇)	10	40	0.15
A4(0.4% 2-巯基乙醇)	10	40	0.20
B1(0.4%吐温-80)	10	40	0.20
B2(0.6%吐温-80)	10	40	0.30
B3(0.8%吐温-80)	10	40	0.40
B4(1.0%吐温-80)	10	40	0.50

于10.0mL的缓冲液(含8mol/L尿素);自由巯基:15mg的蛋白样品悬浮于10.0mL的缓冲液(不含8mol/L尿素)。

1.3.6 流变性质的测定

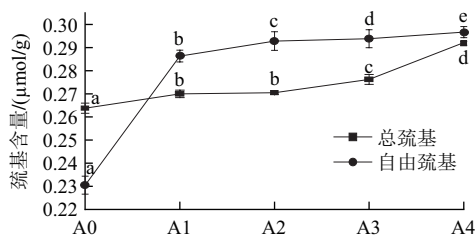
用MCR301型旋转流变仪测定样品的动态流变学特性,采用50mm平板测试。首先将制备的乳浊液均匀涂布于测试平台,赶走气泡。然后上下两个圆盘对紧,由控制的循环水围绕在凝胶样品周围进行加热,测试参数为:频率0.1Hz,应变为2%,上下狭缝为0.5mm,起始温度20℃,升温速率2℃/min,终止温度80℃。测定过程中,肉糜与空气接触处,加一层硅油密封。每组3个重复。测定指标为流变储能模量 G' ,损耗模量 G'' ,相位角 δ 。

1.4 统计学分析

用SPSS 13.0统计软件进行相关性分析和方差分析,方差分析采用ANOVA分析,数据进行正态分布检验,符合正态分布的多重比较采用Duncan's法,并应用Pearson系数进行相关性分析;不符合正态分布的用Kruskal-Wallis检验,差异显著性为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 巯基含量对乳化及凝胶特性的影响分析



小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。下同。

图1 巯基阻断剂对肉类蛋白质巯基含量的影响

Fig.1 Effect of β -mercaptoethanol on the —SH content of pork proteins

由图1可知,空白组即未加 β -巯基乙醇的蛋白溶液中总巯基含量较大,显著高于其他4组($P<0.05$)。加入 β -巯基乙醇以后,随着 β -巯基乙醇含量的增加,总巯基含量呈上升趋势,这可能跟 β -巯基乙醇本身的巯基有关。另一方面, β -巯基乙醇的添加显著提高了蛋白溶液中自由巯基的含量,添加量为0.2%时自由巯基含量最大。

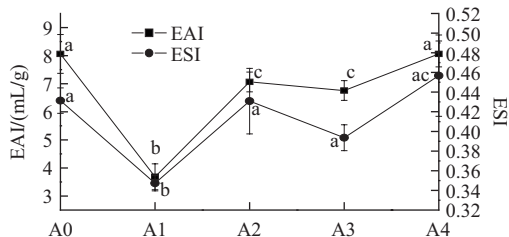


图2 巯基阻断剂对肉类蛋白质乳化特性的影响

Fig.2 Effect of β -mercaptoethanol on the emulsifying properties of pork proteins

由图2可知,添加量为0.1%的蛋白溶液乳化活性和乳化稳定性均低于空白组,但增加添加量,乳化特性又呈上升趋势,超过0.2%以后趋于平稳状态。

表2 巯基含量与乳化体系的各指标相关性分析

Table 2 Correlational analysis between —SH content and emulsion properties

指标	β -巯基乙醇 添加量	EAI	ESI	总巯基	自由巯基	初始弹性 模量(G'_0)	终止弹性 模量(G'_t)	凝胶速 率(V_{gel})	初始相 位角(δ_0)
EAI	0.26								
ESI	0.32	0.87							
总巯基	-0.18	0.68	0.53*						
自由巯基	0.64*	-0.39	-0.15	-0.79**					
初始弹性模量(G'_0)	0.00	-0.16	0.17	-0.71	0.60				
终止弹性模量(G'_t)	0.18	-0.20	-0.03	-0.87*	0.58	0.79			
凝胶速率(V_{gel})	-0.66**	0.41	0.40	0.62*	-0.77**	0.21	-0.14		
初始相位角(δ_0)	-0.98**	-0.27	-0.42	0.23	-0.61	-0.20	-0.41	0.82	
终止相位角(δ_t)	-0.70	0.29	0.05	0.79	-0.85	-0.49	-0.75	0.90*	0.77

注:*. $P<0.05$, 显著相关性; **. $P<0.01$, 极显著相关性。

由表2可知,化学修饰试剂 β -巯基乙醇的添加量与自由巯基呈显著正相关($P<0.05$),与乳浊液形成凝胶的速率($r=-0.66$)和初始相位角($r=-0.98$)呈极显著负相关($P<0.01$),说明随着 β -巯基乙醇含量的增加,自由巯基含量增加,凝胶速率显著下降,体系总体黏弹性特征也显著降低。总巯基含量与乳化稳定性($r=0.53$)、凝胶速率($r=0.62$)呈显著正相关($P<0.05$),与自由巯基含量呈极显著负相关($r=-0.79$, $P<0.01$),与终止弹性模量呈显著负相关($r=-0.62$, $P<0.05$),说明,蛋白溶液中总巯基含量越多,乳化稳定性越好,凝胶速率越快,形成的乳化凝胶弹性越差。自由巯基含量与凝胶速率呈极显著负相关($r=-0.77$, $P<0.01$),说明蛋白质溶液中自由巯基含量越多,凝胶速率越差。凝胶速率与终止相位角呈显著正相关($r=0.90$, $P<0.05$),说明凝胶速率影响乳化凝胶的总体黏弹性。

2.2 表面疏水性对乳化及凝胶特性的影响分析

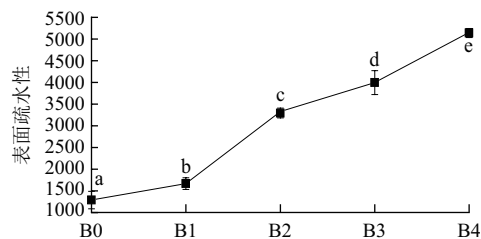


图3 吐温-80对肉类蛋白质表面疏水性的影响

Fig.3 Effect of Tween-80 on the surface hydrophobicity (H_0) of pork proteins

EAI和ESI的增加有利于乳化物的形成和稳定^[3,10]。由图3可知,随着吐温-80的逐渐增加,蛋白质表面疏水性指数逐渐增加,这是因为吐温-80是强的非离子清洁剂^[1],与蛋白质相互作用可以改变蛋白质分子表面的带电性。

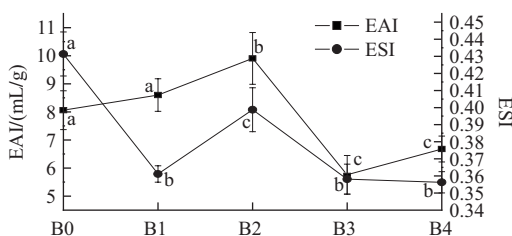


图4 吐温-80对肉类蛋白质乳化特性的影响

Fig.4 Effect of Tween-80 on the emulsifying properties of pork proteins

由图4可知,随着吐温-80含量的增加,乳化活性先升高后降低,添加量为0.6%时,乳化活性最高,随后则显著下降;另一方面,添加0.4%的吐温-80会显著降低蛋白质的乳化稳定性,但超过0.4%之后,蛋白质的乳化稳定性趋势与乳化活性基本相同。这可能是由于少量的吐温-80可以增加蛋白质分子之间的静电斥力,使离散双电层加厚,溶液洁面膜增厚,有利于胶束的形成,因而乳化特性增加,超过一定量,吐温-80作为一种很好的乳化剂会竞争性参与乳化,使蛋白质乳化特性降低。

相关性分析结果表明,吐温-80的添加显著增加了蛋白质的表面疏水性($r=0.98$, $P<0.01$),显著降低了蛋白质的乳化稳定性($r=-0.71$, $P<0.01$),有降低乳化活性的趋势($P=0.053$);蛋白质的表面疏水性与乳化稳定性呈显著负相关($P<0.05$),对乳化活性影响不大($P>0.05$);表面疏水性对升温过程中凝胶特性的形成无显著影响($P<0.05$)。

3 讨论

一般而言,肉制品加工过程中,半胱氨酸巯基氧化或巯基-二硫键的交换形成的分子间二硫键对于蛋白凝胶的形成具有重要作用^[11-12]。蛋白质分子中,巯基是最具活性的功能基团,经氧化形成二硫键^[13]。肌肉蛋白质中参与乳化的蛋白质主要为肌球蛋白^[14]。巯基存在于肌球蛋白分子内部,当肌球蛋白结构发生变化,暴露出自由巯基,这些自由巯基就会发生氧化反应形成二硫键^[15-16]。而 β -巯基乙醇是强还原剂,可以阻断二硫键的形成,使蛋白质暴露出更多的自由巯基,这些自由巯基不能在乳化过程中形成二硫键,降低了蛋白质与蛋白质之间的相互作用,削弱了蛋白质膜稳定脂肪的能力,因而降低了乳化稳定性。本实验结果表明添加0.1%的巯基阻断剂显著降低了蛋白质的乳化特性。但本研究自由巯基含量与乳化特性指标(乳化稳定和乳化活性)并不存在显著的相关性,且随着 β -巯基乙醇含量的增加,乳化特性反而有上升趋势,说明本研究条件下乳化过程中二硫键的形成可能不是影响乳化特性的决定性化学作用力。另一方面,阻断二硫键的形成降低了凝胶形成速率和总体黏弹性特征,说明二硫键参与了热诱导乳化凝胶的形成。Foegeding^[17]发现肌

球蛋白加热到50℃以上时,二硫键的形成在凝胶的交联过程中发挥着重要作用。而 β -巯基乙醇的加入会破坏二硫键使热诱导凝胶溶解^[18]。O'Neill^[19]、Wu^[2]等也发现加N-顺丁烯二酰亚胺(NEM)能阻断二硫键的形成,显著降低了凝胶强度和黏聚性。

表面疏水性反映了蛋白质的解折叠程度^[20]。表面疏水性的增加表明吐温-80破坏了疏水键、巯基和盐桥的相互作用,诱导蛋白质发生了变性^[21]。本结果表明,适量的改变蛋白质的表面疏水性有助于提高蛋白质的乳化特性,可能因为疏水基团的暴露增加了蛋白质与油脂之间的相互作用,使油脂吸附的蛋白质质量增加,从而形成更加致密稳定的蛋白质膜,因而增加了乳浊液的稳定性。Demetriades等^[22]认为添加低分子质量的乳化剂(如,吐温)到稳定的蛋白乳化液中,会改变蛋白质在油滴表面的聚集和絮凝,进而弥补因热加工导致的不稳定。Nikiforidis等^[23]也报道了适量的吐温-40可以阻止因热加工而导致的蛋黄乳化物的不稳定性。但过量吐温-80的增加,反而会降低蛋白质的乳化稳定性,这是因为吐温-80是很好的乳化剂,可以竞争性吸附在脂肪表面,置换脂肪球周围蛋白膜上的蛋白质,从而降低了蛋白质的乳化稳定性。此外,本研究结果还显示蛋白质的疏水性与乳化特性具有显著相关性,但对热诱导凝胶无显著影响,说明疏水作用对于形成稳定的乳化物很重要,但热诱导乳化凝胶形成过程中,疏水作用的贡献较小。

4 结论

4.1 巯基阻断剂 β -巯基乙醇的添加,增加了蛋白质溶液的自由巯基含量,降低了蛋白质凝胶速率和总体黏弹性,暗示了阻断二硫键的形成可以降低热诱导凝胶特性。但自由巯基含量与蛋白质的乳化特性无显著相关性。

4.2 蛋白质溶液的表面疏水性指数越高,越不利于形成稳定的乳化物,但对乳化凝胶特性无显著影响。

参考文献:

- GORDON A, BARBUT S. Meat batters: effect of chemical modification on protein recovery and functionality[J]. Food Research International, 1997, 30(1): 5-11.
- WU Mangang, XIONG Youling L., CHEN Jie, et al. Rheology and microstructure of myofibrillar protein-plant lipid composite gels: effect of emulsion droplet size and membrane type[J]. Journal of Food Engineering, 2011, 106(4): 318-324.
- ZORBA Ö. The effects of the amount of emulsified oil on the emulsion stability and viscosity of myofibrillar proteins[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(5): 698-702.
- 张龙翔, 张庭芳, 李令媛, 等. 生物化学实验方法和技术[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 1997: 136-137.
- PEARCE K N, KINSELLA J E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique[J]. Journal of Agricultural and

- Food Chemistry, 1978, 26: 716-723.
- [6] KATO A, NAKAI S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1980, 624: 13-20.
- [7] HASKARD C A, LI-CHAN E C Y. Hydrophobicity of bovine serum albumin and ovalbumin determined using uncharged (PRODAN) and anionic (ANS^-) fluorescent probes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46: 2671-2677.
- [8] ELLMAN G D. Tissue sulfhydryl groups[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1959, 82: 70-72.
- [9] BEVERIDGE T, TOMA S J, NAKAI S. Determination of SH and S—S groups in some food proteins using Ellman's reagent[J]. Journal of Food Science, 1974, 39: 49-51.
- [10] 张根生, 岳晓霞, 李继光, 等. 大豆分离蛋白乳化性影响因素的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(7): 48-51.
- [11] LEE H G, LANIER T C. The role of covalent cross-linking in the texturizing of muscle protein sols[J]. Journal of Muscle Foods, 1995, 6: 125-138.
- [12] SAMEJIMA K, ISHIOISHI M, YASUI T. Heat-induced gelling properties of actomyosin: effect of tropomyosin and troponin[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1982, 46: 535-540.
- [13] OMANA D A, PLASTOW G, BETTI M. The use of beta-glucan as a partial salt replacer in high pressure processed chicken breast meat[J]. Food Chemistry, 2011, 129(3): 768-776.
- [14] BARBUT S. Importance of fat emulsification and protein matrix characteristics in meat batter stability[J]. Journal of Muscle Foods, 1995, 6: 161-177.
- [15] MONAHAN F J, GERMAN J B, KINSELLA J E. Effect of pH and temperature on protein unfolding and thiol/disulfide interchange reactions during heat-induced gelation of whey proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43(1): 46-52.
- [16] OMANA D A, XU Y, MOAYEDI V, et al. Alkali-aided protein extraction from chicken dark meat: chemical and functional properties of recovered proteins[J]. Process Biochemistry, 2010, 45(3): 375-381.
- [17] FOEGEDING E A. Functional properties of turkey salt: soluble proteins[J]. Journal of Food Science, 1987, 52: 1495-1499.
- [18] RAMIREZ-SUAREZ J C, XIONG Youling L.. Effect of transglutaminase-induced cross-linking on gelation of myofibrillar/soy protein mixtures[J]. Meat Science, 2003, 66: 899-907.
- [19] O'NEILL E, MULVIHILL D M, MORRISSEY P A. Molecular forces involved in the formation and stabilization of heat-induced actomyosin gels[J]. Meat Science, 1994, 36: 407-421.
- [20] MOHAN M, RAMACHANDRAN D, SANKAR T V. Functional properties of rohu (*Labeo rohita*) proteins during iced storage[J]. Food Research International, 2006, 39: 847-854.
- [21] MOZHAEV V, HEREMANS K, FRANK J, et al. High pressure effects on protein structure and function[J]. Proteins: Structure, Function, and Genetics, 1996, 24: 81-91.
- [22] DEMETRIADES K, McCLEMENTS D K. Flocculation of whey protein stabilized emulsions as influenced by dextran sulfate and electrolyte[J]. Journal of Food Science, 1999, 64(2): 206-210.
- [23] NIKIFORIDIS C V, KIOSSEOGLOU V. Competitive displacement of oil body surface proteins by Tween 80: effect on physical stability[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5): 1063-1068.