

朱秀清, 邓筱琪, 朱颖, 等. 大豆蛋白凝胶制备及其影响因素的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 405–414. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030372

ZHU Xiuqing, DENG Xiaoqi, ZHU Ying, et al. Advances in the Gel Preparation and Its Affecting Factors of Soybean Protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(6): 405–414. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030372

· 专题综述 ·

大豆蛋白凝胶制备及其影响因素的研究进展

朱秀清¹, 邓筱琪¹, 朱颖^{1,*}, 王喜泉², 李玉玲³, 夏晓雨^{1,4}

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江省谷物食品与谷物资源综合加工重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150076;
2. 东北农业大学食品工程学院, 黑龙江哈尔滨 150030;
3. 哈尔滨中央红集团股份有限公司, 黑龙江哈尔滨 150010;
4. 黑龙江省农业科学院大豆研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要: 大豆作为我国重要的粮食作物之一, 具有较高的营养价值。凝胶性作为大豆分离蛋白重要的功能特性备受关注。大豆蛋白在产品中多用作多种配合物如水分子、糖类、脂质以及不稳定小分子活性物质的包埋载体, 但大豆蛋白天然凝胶制品存在结构松散、成品率低等问题, 极大地限制了其凝胶制品的应用与发展。本文从大豆分离蛋白凝胶形成机理进行解析, 并对大豆蛋白构象及组成、多糖、脂质间的相互作用、离子强度等内在影响因素, 以及物理、化学、生物等外部因素对凝胶形成产生的影响进行了深入探讨和系统分析, 以期对今后大豆蛋白凝胶制品加工与利用提供理论依据。

关键词: 大豆分离蛋白, 7S, 11S, 凝胶, 热处理

中图分类号: TS214.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)06-0405-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030372

本文网刊:



Advances in the Gel Preparation and Its Affecting Factors of Soybean Protein

ZHU Xiuqing¹, DENG Xiaoqi¹, ZHU Ying^{1,*}, WANG Xiquan², LI Yuling³, XIA Xiaoyu^{1,4}

(1. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Key Laboratory of Grain Food and Comprehensive Processing of Grain Resource of Heilongjiang Province, Harbin 150076, China;
2. Food Science College of Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;
3. Harbin Central Red Group Co., Ltd., Harbin 150010, China;
4. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: As one of the important food crops in China, soybean has a high nutritional value. Gelation is of great interest as an important functional property of soybean isolate proteins. Soy protein is mostly used as an encapsulation carrier for a variety of complexes such as water molecules, sugars, lipids and unstable small molecule active substances in products, but the natural gel products of soy protein have problems such as loose structure and low yield, which greatly limits the application and development of its gel products. In this paper, the mechanism of gel formation from soy protein isolates is analyzed, and the intrinsic influencing factors such as soy protein conformation and composition, polysaccharide and lipid interactions and ionic strength, as well as the influence of external factors such as physical, chemical and biological factors on gel formation are discussed in depth and systematically analysed, with a view to providing a theoretical basis for the processing and utilization of soy protein gel products in the future.

Key words: soybean protein isolate; 7S; 11S; gel; heat treatment

收稿日期: 2022-03-30

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项(2021ZX12B04); 哈尔滨商业大学青年拔尖人才专项计划(理工类)(2020CX40)。

作者简介: 朱秀清(1968-), 女, 硕士, 教授, 研究方向: 蛋白质分子化学及大豆深加工, E-mail: xqzhuwang@163.com。

* 通信作者: 朱颖(1992-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 植物蛋白加工与利用, E-mail: 13258512068@163.com。

大豆分离蛋白(soybean protein isolate, SPI)具有优质、廉价的特点且功能特性广泛,在许多行业被广泛使用^[1]。大豆粉碎后经低温脱脂、碱溶酸沉工艺后提取即可得到 SPI, SPI 中大豆蛋白含量达到 88% 以上^[2]。大豆分离蛋白具有许多功能特性,如凝胶性^[3-6]、乳化性^[7-8]、持水性^[9]、持油性^[10]以及溶解性等。SPI 的功能特性与其中 7S(β -conglycinin)和 11S(glycinin)组分密切相关。因此,探究蛋白质组成结构的构效关系是研究与开发大豆分离蛋白产品的基础。

近些年来,大豆蛋白制品越来越丰富,应用十分广泛,其中蛋白凝胶制品受关注度最高。蛋白凝胶是指大豆蛋白经变性后与相邻的蛋白分子之间通过化学作用力形成的一类三维网络结构,也可与转谷氨酰胺酶、硫酸钙(CaSO_4)等相互作用形成蛋白凝胶制品。蛋白凝胶作为包埋不稳定小分子活性物质(维生素、益生菌等)的载体,其凝胶特性也是蛋白质最重要的功能特性^[11]。影响大豆蛋白凝胶形成的因素可分为两大类:内在因素和外在因素。其中内在因素主要是大豆蛋白的组成(7S 蛋白、11S 蛋白以及两种蛋白存在的浓度和比例、盐离子浓度以及多糖、脂质与蛋白之间的相互作用等);而外部环境因素则是物理、化学及生物等前处理方式引起大豆蛋白改性导致的凝胶性改变(如热处理、超声波处理、高压处理、挤压处理、菌诱导和酶水解等)^[12-13]。研究表明:在不同因素影响下大豆蛋白产生凝胶,天然大豆蛋白聚集体的稳定性较差,其结构在持续发生解离,变性蛋白聚集体的稳定时间一般为一周左右,这表明蛋白质在变性时形成了更加持久稳定的化学键以维持聚集体,从而提高蛋白凝胶制品的稳定性^[2]。

凝胶的形成是多种因素共同作用的结果,各因素的变化会导致形成具有不同性质差异的凝胶。本文主要通过综述前人对蛋白质凝胶形成机理及稳定性的研究,对大豆蛋白构象及组成、多糖、脂质间的相互作用等内在影响因素,以及物理、化学、生物等前处理加工方式进行深入探讨及解析。

1 蛋白质凝胶成胶机理

蛋白质凝胶的形成是一个复杂的过程,包含蛋白质变性、解离、聚集和凝胶化等多个物理化学反应,目前普遍认为加热是蛋白质胶凝过程中必不可少的步骤^[14]。蛋白质分子受热导致蛋白质变性,天然蛋白质的构象发生改变,蛋白质的二、三、四级结构遭到破坏,使蛋白质分子从天然的折叠状态舒展开,内部隐藏的活动位点以及功能性基团暴露(包括巯基或疏水基团),然后通过疏水、静电及氢键、巯基二硫键等交换反应进行相互作用,使分子间进行交联,形成可逆的蛋白质聚集体,导致粒径增大。当聚集体的浓度足够时,分子间发生进一步的聚集,形成三维网络状结构,即蛋白凝胶形成^[15-17]。而当蛋白质的浓度较低时,聚集可能会导致蛋白质发生沉淀。除热处理

外,还有加酸、加酶、加盐以及离子诱导等方式均可形成蛋白质凝胶^[18-21],其中加酸通过改变体系 pH,影响蛋白所带净电荷数,从而改变蛋白存在的点和环境,影响凝胶的形成;加盐或离子诱导则是通过改变蛋白与蛋白间或蛋白与环境间的静电斥力,影响蛋白分子量的分布和蛋白粒径的大小,从而影响凝胶的形成,大豆蛋白冷凝胶通常就是通过添加盐、植酸等凝固剂形成的,见图 1。

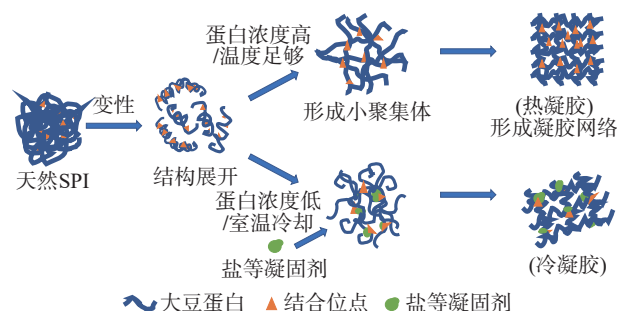


图 1 大豆蛋白热、冷凝胶形成机理

Fig.1 Soy protein hot and cold gel formation mechanism

李云^[22]通过加热、加酸及加酶三种不同的处理方式,制备了 5 种具有不同功能特性的大豆蛋白聚集体,将其与天然大豆蛋白混合后制成热凝胶,结果表明添加少量的蛋白聚集体可提高大豆蛋白的凝胶性质,但过量的蛋白聚集体则会使大豆蛋白的凝胶性降低。Yang 等^[23]发现,低 pH 处理能够明显提高 SPI 的疏水性和糖基化能力,增强凝胶粒子在溶液中的稳定性。因此,蛋白聚集对凝胶质构的影响主要是在微观形态上对相分离程度和胶凝速度产生影响。

2 7S、11S 蛋白组成对蛋白凝胶的影响

按照溶解特性,可将大豆蛋白分为球蛋白与清蛋白,其中球蛋白大约占总蛋白质含量的 90%。根据蛋白质在缓冲液(pH7.6, 0.5 mol/L)中的沉降系数不同,又可将大豆球蛋白分为四个组分,分别是: 2S(15%)、7S(34%)、11S(41.9%)和 15S(9.1%)^[24]。2S 组分包含: Bowman-Birk 和 Kunitz 型胰蛋白酶抑制剂、细胞色素 C 等^[15]。7S 组分主要是 β -伴大豆球蛋白,但也包含 γ -伴大豆球蛋白、脂肪氧合酶、 α -淀粉酶和凝集素^[25]。11S 蛋白和 15S 蛋白分别是大豆球蛋白和它的聚集体。研究表明,不同比例的 7S 蛋白与 11S 蛋白会影响大豆蛋白质的凝胶性,通过调节二者比例可以形成具有不同凝胶特性的大豆蛋白凝胶^[26]。因此,亚基组成比例对大豆蛋白功能性的影响一直是相关学者研究的重点。

2.1 7S 蛋白组成对大豆蛋白凝胶的影响

7S 球蛋白是一种三聚体共轭型的糖蛋白(150~200 kDa),由 α 亚基(72 kDa)、 α' 亚基(76 kDa)和 β 亚基(53 kDa)三种亚基组成,该三种亚基通过氢键及疏水相互作用力随机排列组合在一起,形成平面三角形紧密堆积成 7S 蛋白分子^[27-29],并形成七种不

同的存在形式: $\beta\beta\beta$ 、 $\beta\beta\alpha'$ 、 $\beta\beta\alpha$ 、 $\beta\alpha\alpha'$ 、 $\beta\alpha\alpha$ 、 $\alpha\alpha\alpha'$ 和 $\alpha\alpha\alpha$ ^[30-32]。不同亚基组成导致蛋白质凝胶化效果不同, 同时亚基间的相互作用也会影响蛋白质凝胶的稳定性。

7S 球蛋白的 α' 亚基(76 kDa)与 α 亚基(72 kDa)分子质量极其相似, 通常作为一个对象进行研究。在研究 α' 与 α 亚基对大豆蛋白的凝胶特性的影响中, 该两种亚基均表现出了与凝胶特性的显著相关性。袁德保等^[31]探讨了大豆蛋白 α 、 α' 、 β 与碱性亚基各亚基间的热聚集凝胶化行为机制, 结果指出 α 、 α' 和 β 亚基对蛋白的热聚集反应均起到抑制作用, 其中 α 、 α' 亚基抑制效果强于 β 亚基。Mohamad 等^[33]对比完整 7S 蛋白与缺失 α' 亚基的 7S 蛋白制备的内脂豆腐凝胶, 缺少 α' 亚基的豆腐凝胶硬度较高, 故推断 7S 蛋白 α' 亚基对内脂豆腐硬度和凝胶强度产生了明显的负作用。

2.2 11S 蛋白组成对大豆蛋白凝胶的影响

11S 球蛋白是一种六聚体型的非糖蛋白(300~380 kDa), 由酸性亚基 A(35~37 kDa)和碱性亚基 B(20 kDa)通过二硫键作用组成 11S 球蛋白单体^[34-35]。Utsumi 等^[36]根据 11S 球蛋白酸性亚基和碱性亚基的 N-端氨基酸序列将 11S 球蛋白亚基区分为以下五个主要的亚基: A1aB1b、A1bB2、A2B1a、A3B4 和 A5A4B3。

11S 蛋白凝胶形成是 11S 蛋白亚基相互作用的结果。Nakamura 等^[37]揭示了 11S 蛋白凝胶形成的机理(图 2): 在短时加热过程中(约 15 s), 蛋白质分子形成包含 6 个 11S 蛋白亚基的线状聚集体 I (链 I), 此时线状聚集体 I 中的蛋白亚基仍是球状; 接着线状聚集体 I 发生自身聚集, 形成长度较长的直链聚集体 II (链 II), 直链聚集体 II 进一步与自身发生聚集形成长度更长的直链型聚集体或与线状聚集体 I 形成支链型聚集体, 统称聚集体 III (链 III), 该聚集体 III 即为构成 11S 蛋白凝胶网络结构的基本单位。

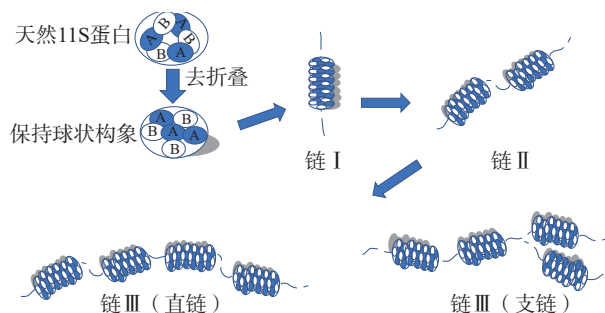


图 2 11S 大豆球蛋白凝胶化形成聚合物过程

Fig.2 11S soybean globulin gel forming polymer process

James 等^[38]通过选取 11S 球蛋白完整以及缺失 11SA4 亚基的大豆来制备豆腐, 结果表明 11SA4 亚基缺失对豆腐凝胶组织结构及硬度具有积极影响, 因此缺失该亚基可以提高豆腐的凝胶硬度以及保水能力。Yang 等^[39]探讨不同蛋白含量大豆蛋白 11SA4

亚基的缺失与其中 7S 和 11S 蛋白水平的相关性关系时发现, 11SA4 亚基的缺失与大豆蛋白凝胶的保水力呈正相关。在蛋白质含量较高时选择性去除 11SA4 亚基可以提高凝胶组织硬度和保水能力。这和 James 的研究结果相似。Bainy 等^[40]在对蛋白质亚基组成与大豆分离蛋白的凝胶特性的相关性研究中发现: 11S 球蛋白的 A3 亚基的存在阻碍了凝胶网状结构的形成。Tezuka 等^[41]的研究证实, 大豆中 11S 蛋白 A1 和 A2 亚基含量较多更易发生聚集。综上所述, 11S 蛋白的亚基组成对蛋白凝胶的性质有显著影响。

2.3 7S 和 11S 蛋白比例对大豆蛋白凝胶的影响

7S 伴大豆球蛋白主要影响蛋白凝胶的黏性和弹性, 11S 大豆球蛋白影响的则是蛋白凝胶的硬度和咀嚼性。两种蛋白的影响效果并不是独立的, 在 Yang 等^[39]的研究中发现 11SA4 亚基的缺失会引起 7S 蛋白的代偿性积累。因此, 应综合分析 7S 和 11S 蛋白对凝胶性的影响。截止目前, 可以确定两种蛋白的占比不同形成的凝胶性质有显著差异。Ji 等^[42]发现 11S 蛋白占比较高时形成的豆腐凝胶具有较强的硬度和内聚力。Nakamura 等^[37]的研究得出了相似的结论: 在相同的条件下对比 11S 和 7S 蛋白形成的凝胶, 发现 11S 蛋白凝胶的强度要强于 7S 蛋白凝胶。为探讨两种蛋白形成凝胶的差异来源, 单独加热两种组分, 7S 蛋白不会生成凝胶或只形成透明且较为柔软的凝胶, 11S 蛋白则形成硬度和黏弹性较高的凝胶。通过对其结构进行对比分析发现, 产生这种差异的原因是 11S 蛋白在形成凝胶的过程中形成了较多的二硫键^[43]。

随着研究的不断深入, 更多的实验数据表明, 在加热过程中 7S 蛋白和 11S 蛋白的变性温度不同, 7S 蛋白的变性温度高于 11S 蛋白^[44]。加热凝胶化过程中向 11S 蛋白中加入分离的 7S 蛋白可防止 11S 蛋白及其亚基的热聚集, 而当两种蛋白共同加热凝胶化时, 11S 的 B 亚基和 7S 的 β 亚基通过静电力优先缔合^[45-46]。He 等^[47]证实了这个结论, 当加热温度高于 11S 蛋白的变性温度后, 11S 蛋白的 AB 亚基均会发生不同程度的变性解离, 解离后的肽链 B 会通过静电相互作用与 7S 的 β 亚基形成可溶性的复合物 B- β , 或与自身通过疏水相互作用形成致密且体积更大的聚集体, 而酸性亚基 A 与 α 、 α' 亚基则通过二硫键相互作用形成寡聚体或单体(图 3)。这种聚集体 B- β 被认为是大豆蛋白凝胶强度较大的直接原因。王洪晶^[25]的研究证实了这个结论, 他发现可溶性的蛋白聚集体会增强蛋白凝胶的物化性质, 而不溶性的蛋白聚集体则会破坏蛋白凝胶的物化性质。在凝胶过程中, 蛋白亚基间的共价作用使不溶性的蛋白聚集体无法解离或充分伸展, 因而阻碍凝胶的形成。

综上所述, 11S、7S 两种蛋白组分均会对蛋白凝胶产生影响。当只有 11S 蛋白存在时, 形成了含有

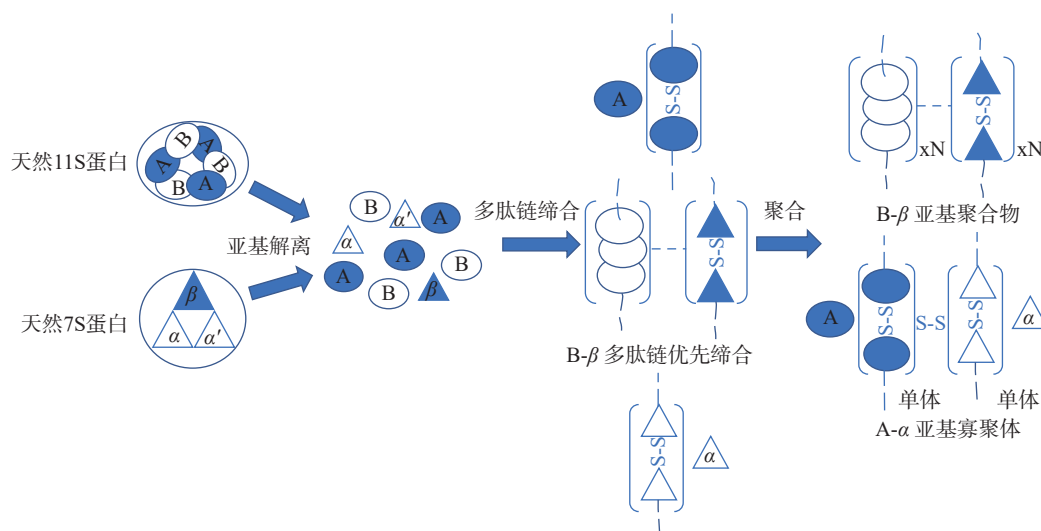


图3 7S与11S蛋白热处理过程中的相互作用

Fig.3 7S and 11S proteins interaction in the process of heat treatment

较多二硫键的蛋白凝胶,故其凝胶硬度明显强于只有7S蛋白存在时形成的凝胶。当两种组分同时存在时,11S蛋白碱性亚基B与7S蛋白 β 亚基形成可溶性聚合物,这种聚合物以沉淀的形式聚集,而A亚基与 α 亚基形成的单体或寡聚体以不溶性聚合物的形式聚集在上清液中,故认为B- β 聚合物会对蛋白凝胶硬度产生直接影响。随着体系中11S蛋白组分含量的提高或7S蛋白组分含量的降低,蛋白质凝胶的物化性质随之提高。因此选择具有特定蛋白组分的专有大豆品种进行大豆蛋白的加工研究可能是日后大豆蛋白加工研究的新基础。

3 内在因素对大豆蛋白凝胶的影响

3.1 蛋白浓度对大豆蛋白凝胶的影响

蛋白质在不同浓度具有不同的热稳定性,这种性质是蛋白浓度对凝胶产生影响的重要原因之一。Yang等^[39]的研究发现,大豆蛋白含量与蛋白凝胶质地的硬度间具有正相关效应。Elise等^[48]的研究得到类似的结论,在豆浆酸化形成凝胶过程中,蛋白质浓度不会对凝胶形成的pH产生影响,但会显著影响凝胶硬度,蛋白浓度为7%的豆浆形成凝胶其硬度显著强于4%形成的凝胶。这是因为随蛋白质浓度的增加,蛋白质分子之间的距离缩短,蛋白质分子间碰撞机会增多,因而更容易发生聚集,形成更加密集的三维网络结构。

Tian等^[49]研究在相同条件下(pH7, 0 mmol/L NaCl),7S蛋白的溶液浓度从0.5 mg/mL增大到10 mg/mL,7S蛋白的净电荷显著增加,蛋白间的静电斥力增大,促进7S蛋白结构的展开和重排。其次,在蛋白质浓度较高的条件下,蛋白质热聚集体的相对分子质量更大,并且凝胶开始形成的温度降低。Su等^[3]在对大豆分离蛋白-蛋清复合凝胶进行研究时发现,复合凝胶的硬度、弹性和持水性会随着蛋白质浓度的增加而增加。综上,当蛋白浓度增加,形成

的凝胶具有更好的弹性和持水性,这对凝胶的性能具有积极的影响。

3.2 盐离子浓度对大豆蛋白凝胶的影响

蛋白质溶液中加入一定浓度盐离子后,会影响体系的pH和凝胶形成时间^[50]。7S和11S蛋白的变性温度随着盐浓度增加逐渐升高,影响蛋白质凝胶的形成。随着盐离子浓度增加,7S蛋白形成凝胶的时间延长,得率降低,但凝胶的稳定性增加^[51]。

盐离子可促进蛋白质分子的聚集。王逢秋等^[52]发现添加 $MgCl_2$ 显著地改变了豆腐凝胶的整体特性,形成质地均匀且致密地豆腐凝胶。Chen等^[53]的研究发现体系中加入低浓度的盐离子可以屏蔽蛋白质分子间的静电斥力,内部的酸、碱性亚基暴露,蛋白质间的相互作用增强而发生聚集。Tang等^[19]的研究得出了类似结论,在pH2.0,温度为80℃的条件下对大豆7S蛋白体系添加NaCl,随着NaCl浓度的增加,大豆7S蛋白的纤维数量、长度增加,对形成凝胶有积极作用。Geng等^[54]证实了以上结论,通过添加盐离子(磷酸盐)改变蛋白体系内的离子强度,离子强度的改变引起离子的静电屏蔽效应,改变蛋白聚集体间排斥力,有利于蛋白解离后的重聚集,促进凝胶的形成。

盐离子浓度与大豆蛋白凝胶地形成密切相关,形成的凝胶其凝胶微观结构以及凝胶强度等凝胶特性都与盐离子浓度呈高度依赖性。盐诱导形成的大豆凝胶制品如 $MgCl_2$ 卤水豆腐等已被广泛应用于食品领域。

3.3 其他内在因素对大豆蛋白凝胶的影响

除上述因素外,大豆组成体系中还存在脂质、多糖等物质,也会对蛋白凝胶产生不同程度的影响。脂质作为蛋白凝胶的颗粒填充物,对凝胶的质构等特性也起着重要作用。不同脂肪浓度和含量的差异,对蛋白凝胶有显著影响。

研究表明脂质会与蛋白质聚集体之间进行相互作用,促进蛋白质凝结,增强蛋白凝胶的硬度,使其具有更紧密的蛋白网络^[55]。Dian 等^[56]通过向 SPI 中添加不同类型和浓度的脂肪制成凝胶,添加的脂肪作为填充物改善了凝胶的硬度和性能,添加无水乳脂的 SPI 其凝胶性能优于添加棕榈油硬脂和添加大豆油的 SPI 凝胶,当无水乳脂添加浓度为 2% 时最佳。李菊芳^[57]将磷脂添加到大豆蛋白粉中制成凝胶,结果表明磷脂的复合对凝胶硬度、内聚性、弹性均产生重要影响。这表明脂质在一定程度上有助于大豆蛋白凝胶网络的形成,适量的脂质会改善大豆蛋白的凝胶特性,而脂质添加量过量或不足都会造成蛋白凝胶性质的减弱。

多糖通过与蛋白质之间的相互作用来改变蛋白凝胶化行为。Zhao 等^[58]向 SPI 中添加不同种类的多糖后采用硫酸钙诱导形成凝胶,其中添加了魔芋胶的蛋白凝胶结构最为致密,实验发现魔芋胶通过增强氢键使蛋白凝胶的断裂应力增强,促进胶凝形成,增强凝胶强度。Wang 等^[59]研究发现凉粉草多糖富含羟基和羧基,可以促进大豆蛋白进一步聚集,使添加了凉粉草多糖的大豆蛋白凝胶具有良好的凝胶特性及流变学特性。

4 外在因素对大豆蛋白凝胶的影响

目前学术研究上常用于蛋白加工的前处理方式有热处理、超声处理、高压均质处理、挤压预处理等物理方式,还有通过酶改性,以及菌类诱导等生物改性方法。前处理一般通过改变蛋白的二、三级结构从而使蛋白变性。

4.1 热处理对大豆蛋白凝胶的影响

大豆蛋白的热变性被认为是形成凝胶的先决条件。热处理会导致大豆蛋白发生不可逆变性,内部隐藏的疏水基团暴露出来并参与疏水相互作用,蛋白二、三级结构被破坏,肽链展开后发生重折叠形成新的蛋白结构,这是大豆蛋白形成凝胶所必需的。

加热温度对大豆蛋白凝胶的影响主要是基于不同加热温度下,大豆蛋白具有不同的变性程度,而蛋白质变性是凝胶形成的必要条件。在加热过程中,大豆蛋白亚基发生解离和重排。Lakshmanan^[60]与 Nik 等^[61]均证明大豆蛋白在约 60~70 °C 和 85~90 °C 表现出两个峰值变性温度,分别对应 7S 和 11S 的变性温度。Nagano 等^[62]研究温度对 7S 和 11S 蛋白动态流变性质的影响,随着加热温度的升高,蛋白质凝胶形成所需的时间减少,得率增加。Renkema 等^[63]测定了 76~94 °C 内不同温度下蛋白质的变性程度与凝胶弹性模量相关性,结果表明在变性温度范围内随温度的升高,蛋白质变性程度增大,凝胶的弹性模量也越大,硬度越强。Wu 等^[64]将加热温度从 85 °C 提高到 100 °C,大豆蛋白凝胶的破碎力增加了 3 倍,形成了结构更坚硬的大豆蛋白凝胶。加热时间同样对大豆蛋白的变性具有重要影响,将加热时间从 30 min

延长到 120 min,凝胶的破碎力增加了三分之一,但继续延长加热时间凝胶的破碎力反而下降。Zhang 等^[18]对比其他方法变性 SPI 制备形成的蛋白凝胶,发现热湿变性 SPI 形成的凝胶具有更紧密的凝胶网络结构以及更高的表面疏水性。这表明热变性对 SPI 的凝胶性是具有正效应的,热处理是一种相对安全且有效的处理手段。

4.2 超声预处理对大豆蛋白凝胶的影响

超声波是一种频率高于 20000 Hz 的声波,近年来广泛运用于食品的物理加工领域,尤其是蛋白、膳食纤维、多糖及各种食品功能成分的改性与提取中。Hu 等^[65]在实验中发现超声波可通过破坏非共价相互作用改变聚集体的粒径、表面疏水性、自由巯基含量等,改变蛋白质间的二硫键、疏水作用力等化学作用力,从而获得物化性质各异的大豆蛋白凝胶。王小英等^[66]研究了超声波对大豆蛋白组分的改性作用,发现在蛋白浓度为 12.5 mg/mL 时在超声功率为 700 W 的条件下处理 20 min,大豆蛋白的 NSI(nitrogen solubility index, NSI)值提高为原来的 5.9 倍。超声处理后的大分子组分明显增多,小分子组分降低,使蛋白质发生聚集行为。Zhao 等^[67]在研究中证实了蛋白质的聚集行为,超声-热处理使大豆蛋白的平均粒径减小,表面疏水性和游离巯基含量均增加,改变了 SPI 的二、三级结构,具体表现为 SPI 中的 α -螺旋和 β -折叠有序结构增多,微观结构比未超声处理的 SPI 凝胶更加致密,形成了结构均匀、致密的改性蛋白凝胶。

Tian 等^[68]的研究发现,超声处理不仅可以提高 SPI 凝胶的生成速度,还增强了凝胶的储能模量、凝胶强度和持水性。研究中发现超声处理会破坏蛋白体系中的非共价相互作用,导致肽键断裂,从而引起结构改变,暴露其中的作用位点,达到促进凝胶点快速形成,加速凝胶形成的效果。Huang 等^[69]的研究发现超声通过空化效应产生的剪切力能有效减小蛋白聚集体的尺寸,使较大的蛋白聚集体解离成初级聚集体,大豆蛋白的二、三级结构发生改变。Ogemdi 等^[70]证实了这个观点,认为较长时间的高强度超声(High Intensity Ultrasound, HIU)处理,其超声空化效应只改变 SPI 的二、三级结构,增强蛋白溶解性和表面疏水性,提高凝胶性能,但并不会影响蛋白质氨基酸的组成,因此超声后的大豆蛋白被认为是更适用于应用的食物成分。

但超声处理也会对 SPI 凝胶产生负面作用。刘冉等^[71]采用不同功率的超声波对 SPI 凝胶进行处理发现,低功率的超声波会减弱 SPI 凝胶的形成能力;高功率的超声波会使 SPI 发生降解,影响蛋白质分子间的交联,延迟凝胶的形成时间;只有中功率(200~600 W)的超声波处理通过改变 SPI 的黏弹结构,使 SPI 发生更为有序交联作用,能明显提高 SPI 的凝胶性能。

4.3 高压均质预处理对大豆蛋白凝胶的影响

高压均质(High-pressure homogenization, HPH)处理具有高剪切力、高压作用,可以改变蛋白质原有的刚性二级结构。适度改变蛋白间的相互作用力,可改变蛋白的空间构象,是一种安全、有效的物理方法。吕博等^[72]研究表明,经高压均质处理,随均质压力的上升(0~40 MPa),大豆分离蛋白内部疏水基团暴露,展开的多肽链里暴露的官能团经疏水相互作用聚集形成致密的三维凝胶网络结构,其凝胶特性和溶解性均得到了显著改善。

Wang 等^[73]发现,随着高压均质压力上升为 200 MPa 时,大豆蛋白的游离巯基含量显著增加,随着压力进一步上升,游离巯基含量降低,破坏了蛋白质分子间的疏水性结构区域,改变了分子间的作用力平衡,使蛋白大分子热聚集体转为小分子的聚集体,热致凝胶的凝胶性能下降。同样的,Kang 等^[74]的研究中发现,高压均质会导致大豆蛋白变性,其中它们的解离缔合行为会引起大豆球蛋白中 7S/11S 组分的变化。Bi 等^[75]研究了均质压力对大豆蛋白凝胶特性的影响,发现高压均质能够增加 SPI 中凝胶形成的活性位点,提高 SPI 的凝胶形成能力,缩短 SPI 酸诱导凝胶的形成时间。

因此可以发现,高压均质是通过高剪切、高压改变蛋白聚集体二、三级结构和蛋白分子构象使蛋白变性,经高压均质处理会缩短 SPI 形成凝胶的时间,同时也会增强蛋白凝胶的凝胶特性,使其具有更强的粘弹性、持水性和凝胶强度,形成结构更为致密均匀的凝胶。

4.4 挤压预处理对大豆蛋白凝胶的影响

除以上物理方法外,挤压也是常用的大豆蛋白物理改性方法之一,广泛应用于食品加工中。挤压技术是通过在挤压过程中热效应产生的高温、高压和高剪切力破坏大豆蛋白的天然结构,暴露出分子内部的疏水基团,在疏水相互作用、氢键、二硫键等的共同作用下形成分子量较大的蛋白质聚集体。

随着挤压加工温度的升高,蛋白质的溶解性变差^[76]。Silva 等^[77]发现在挤压过程中游离巯基和总巯基含量增加,而二硫键含量下降。Fang 等^[78]研究了高湿环境下大豆蛋白挤压技术,发现在该环境下挤压,由于机械能的增加,由二硫键等化学键链接的聚合体解聚会导致大豆蛋白分子链伸展,蛋白溶解性增加。但 Zheng 等^[79]发现,虽然高温、高剪切的环境能改变蛋白的溶解度及分子量分布,但过高的螺杆转速和温度(高于 150 °C)会破坏已形成的蛋白聚集体结构,导致蛋白再次展开。

由于挤压使蛋白内部埋藏的酶切位点暴露,有利于酶进行反应,因此挤压技术也常作为前处理手段与酶法相结合对蛋白凝胶进行改性。Ma 等^[80]发现挤压-酶解处理能显著改善大豆蛋白的空间结构和功能性质。在我们之前的研究中也把挤压技术与酶解

法相结合研究大豆分离蛋白的功能性质,发现挤压处理后进行酶水解,对大豆分离蛋白的结构性质具有积极影响^[81]。这些结果表明挤压技术可以作为一种有效的蛋白改性手段应用于食品工业中。

4.5 酶法对大豆蛋白凝胶的影响

传统的“碱溶酸沉”法制备 SPI 通常因为加工过程及工艺参数的差异,导致 SPI 发生变性,其凝胶性质受到不同程度的破坏,所以通常对 SPI 进行改性。酶法修饰 SPI 与其他物理、化学改性方法相比较,具有高安全性、高专一性及作用方式温和的特点,是近几年的研究热点。酶法修饰大豆蛋白是通过限制性水解肽键,改变蛋白质二、三级结构,使分子量显著降低,其内部的官能团暴露量增加,提供更多的反应位点,催化凝胶形成的过程^[82]。

4.5.1 TG 酶 转谷氨酰胺酶(Transglutaminase, 简称 TG 酶或 TGase)是一种催化酰基转移反应的转移酶,其催化作用可以明显改善凝胶强度、保水能力以及流变性,同时反应条件温和、反应速度快、生成的凝胶产物具有更复杂稳定且不可逆的凝胶结构,有关学者关于 TG 酶对 SPI 凝胶的影响研究也最为广泛和深入。TG 酶影响 SPI 凝胶性是通过催化蛋白质的多肽发生分子间或分子内的共价交联作用,形成高分子的聚合物来改变蛋白质的疏水性,从而形成结构致密的凝胶^[83]。TG 酶的作用机理具体可分为氨基导入交联、共价交联作用以及脱酰氨基反应三类^[84-85],其中氨基导入交联是 TG 酶途径糖基化的反应作用原理;共价交联作用形成高分子聚合物改变 SPI 的溶解性、乳化性、起泡性、凝胶性等性质;脱酰氨基反应则是改变蛋白的疏水相互作用从而改变蛋白凝胶性^[86]。

Qin 等^[87]进一步研究发现 TG 酶作用后,可以诱导分子间二硫键的形成,蛋白质的无规卷曲增多,折叠结构打开,同时改变了蛋白凝胶的流变性。Zhang 等^[88]报告在鸡蛋-大豆分离蛋白复合凝胶中,TG 酶的主要作用是使复合凝胶中的 SPI 发生交联化,显著提高复合凝胶的凝胶硬度。但 TG 酶对蛋白凝胶的影响并不全是积极的。Luo 等^[89]的研究中指出,TG 酶前处理显著影响大豆分离蛋白的凝胶化行为,且高度依赖于凝胶反应过程中 TG 酶的酶浓度。低浓度(1 或 3 U/蛋白质)的 TG 酶前处理能增强 SPI 凝胶硬度,但高浓度(5 U/蛋白质)TG 酶前处理会导致蛋白质过度交联,形成粗糙的凝胶结构,破坏凝胶强度。

综上,TG 酶法是一种高效、绿色的蛋白质改性法。添加适量的 TG 酶可以促使蛋白质进一步交联形成具有更高硬度的凝胶。目前 TG 酶法改性现已广泛应用于改善多种食物蛋白凝胶的功能特性和质构特性中。

4.5.2 其他蛋白酶 除 TG 酶外,还有其他蛋白酶都对 SPI 凝胶有改性作用,如碱性蛋白酶、胰蛋白酶、

胃蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶等。酶改性蛋白的功能特性与蛋白酶种类呈强烈相关性。在之前的研究中采用碱性蛋白酶对 SPI 进行酶解,在酶解后 SPI 水解成小分子肽,形成多肽聚集体,其柔韧性和乳化性得到改善^[81]。Tian 等^[68]选取碱性蛋白酶进行酶解,得到了类似的结论,这表明碱性蛋白酶与蛋白乳化性相关程度更高,会抑制蛋白的凝胶行为。赵新淮等^[90]将 SPI 分别经胰蛋白酶和中性蛋白酶酶解后,对比发现胰蛋白酶处理后的 SPI 凝胶性得到显著改善,原因是中性蛋白酶的催化反应位点比胰蛋白酶多,水解程度较大,降低了蛋白质-蛋白质间的相互作用,故形成的凝胶较弱。余留印^[91]的研究发现木瓜蛋白酶酶解处理 SPI 可以有效降低蛋白质的分子量,适度的酶促水解可使蛋白分子内部的非极性氨基酸残基暴露,增强蛋白分子间的疏水相互作用,改善凝胶结构。

4.6 微生物因素对大豆蛋白凝胶的影响

近年来,研究人员发现在乳酸菌发酵过程中经过酸化、蛋白质水解、风味形成以及代谢产品的生产过程,该过程中能够形成乳酸,可降低体系的 pH,从而促使蛋白质变性加快,聚集形成凝胶。Yang 等^[92]发现乳酸菌发酵诱导 SPI 形成凝胶能够显著提高了大豆蛋白凝胶的硬度和保水能力,且凝胶特性对发酵所用的乳酸菌具有依赖性,不同乳酸菌诱导的 SPI 凝胶具有各自的特殊性。微生物的接种量同样也会影响凝胶的性质。李良等^[93]通过植物乳杆菌发酵制备蛋白凝胶,发现接种量 2%~4% 时,蛋白凝胶强度随接种量的增加而增强;接种量 4%~6% 时,凝胶强度无显著差异;接种量大于 6% 时蛋白凝胶强度反而降低。这是由于乳酸菌接种量少时,微生物的产酸能力弱,形成凝胶所需的时间较长;而当接种量过高时,会影响蛋白质之间的聚集,凝胶性降低。

5 总结及展望

近几十年,国内外学者对大豆分离蛋白分子结构及凝胶特性进行了广泛而深入的研究。大豆蛋白凝胶的形成是一个复杂的过程,受到许多因素共同影响。由于天然大豆蛋白聚集体结构无规则,二硫键含量低,因此其凝胶特性较差,在凝胶食品中的发展与应用一直受到制约。目前可通过物理、化学、生物等手段使天然大豆蛋白结构展开,内部疏水基团暴露,表面疏水性增加,蛋白与蛋白间的非共价相互作用增强,而非共价相互作用是凝胶网络的“骨架”,因此凝胶性得以提高。但从内在因素角度分析,大豆蛋白组分(7S、11S)差异对凝胶特性的研究尚未深入,蛋白质亚基对功能特性的表达机制尚不明晰。在今后的研究中,可在基于挤压、酶解、超声等物化改良手段上,将提高蛋白凝胶性与大豆蛋白组分差异性联系起来,并对其机理进一步深入研究后,转向应用研究,选择性培育具有特定蛋白质亚基组成的大豆品种并进行相关功能性研究,进而制备具有高凝胶性的大豆蛋

白凝胶产品。

参考文献

- [1] YAGHOUBI M, MOZANZADEH M T, MARAMMAZI J G, et al. Dietary replacement of fish meal by soy products(soybean meal and isolated soy protein) in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*) [J]. *Aquaculture*, 2016(6): 50–59.
- [2] 曾剑华, 杨杨, 刘琳琳, 等. 热处理过程中大豆 11S 球蛋白解离缔合行为研究进展 [J]. *食品科学*, 2019, 40(11): 303–312. [ZENG J H, YANG Y, LIU L L, et al. Research progress on dissociation association behavior of soybean 11S globulin during heat treatment [J]. *Food Science*, 2019, 40(11): 303–312.]
- [3] SU Y, DONG Y, NIU F, et al. Study on the gel properties and secondary structure of soybean protein isolate/egg white composite gels [J]. *European Food Research and Technology*, 2014(2): 367–378.
- [4] WAN Y, LIU J, GUO S, et al. Effects of succinylation on the structure and thermal aggregation of soy protein isolate [J]. *Food Chemistry*, 2018, 245: 542–550.
- [5] WANG R, GUO S. Effects of endogenous small molecular compounds on the rheological properties, texture and microstructure of soymilk coagulum: Removal of phytate using ultrafiltration [J]. *Food Chemistry*, 2016, 211: 521–529.
- [6] 谭慧. 高压处理对大豆分离蛋白-多糖体系功能特性及结构影响研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2015. [TAN H. Effect of high pressure treatment on functional characteristics and structure of soybean protein isolate-polysaccharide system [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2015.]
- [7] TAHA A, AHMED E, HU T, et al. Effects of different ionic strengths on the physicochemical properties of plant and animal proteins-stabilized emulsions fabricated using ultrasound emulsification [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2019(58): 104627.
- [8] DICKINSON E. Food emulsions and foams: Stabilization by particles [J]. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 2010, 15(1-2): 40–49.
- [9] SCHREUDERS F K G, DEKKERS B L, BODNAR I, et al. Comparing structuring potential of pea and soy protein with gluten for meat analogue preparation [J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 261: 32–39.
- [10] WANG R, LIU J, GUO S, et al. Binding of phytate to soybean protein during the heat treatment of soymilk and its effect on protein aggregation [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 84: 368–378.
- [11] 叶荣飞. 大豆分离蛋白凝胶性影响因素研究进展 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2009, 30(1): 29–30, 32. [YE R F. Research progress on influencing factors of gelation of soy protein isolate [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2009, 30(1): 29–30, 32.]
- [12] 蔡燕萍, 游寅寅, 刘建华等. 大豆蛋白凝胶性及其改良方法的研究进展 [J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(15): 298–306. [CAI Y P, YOU Y Y, LIU J H, et al. Research progress on gelation of soybean protein and its improvement methods [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2021, 47(15): 298–306.]
- [13] 吴超. 大豆蛋白凝胶结构与非网络蛋白扩散行为或网络蛋白性质相关的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2017. [WU C. Research on the gel structure of soy protein and non-network protein diffusion behavior or network protein properties [D]. Wuxi: Jiang-

nan University, 2017.]

[14] 谷雪莲, 孙冰玉, 刘琳琳等. 热处理及植酸与脂肪对豆浆中大豆蛋白凝胶体系的影响研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(3): 333–340. [GU Xuelian, SUN Bingyu, LIU Linlin, et al. Advances in understanding the effects of heat treatment, phytic acid and fat on soy protein gel system in soybean milk[J]. Food Science, 2022, 43(3): 333–340.]

[15] 何秀婷. 大豆 7S 蛋白热聚集体的形成及其性质研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015. [HE X T, Formation and properties of soybean 7S protein thermal aggregates[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015.]

[16] 杨岚, 成玉梁, 郭亚辉, 等. 热处理强度对大豆分离蛋白凝胶形成能力的影响[J]. 大豆科学, 2018, 37(1): 141–148. [YANG L, LIANG Y C, GUO Y H, et al. Effect of heat treatment intensity on gel formation ability of soybean protein isolate[J]. Soybean Science, 2018, 37(1): 141–148.]

[17] WAN Y L, LI Y, GUO S Y. Characteristics of soy protein isolate gel induced by glucono- δ -lactone: Effects of the protein concentration during preheating[J]. Food Hydrocolloids, 2021(113): 106525.

[18] ZHENG T, LI X H, AHMED T, et al. Effect of high intensity ultrasound on the structure and physicochemical properties of soy protein isolates produced by different denaturation methods[J]. Food Hydrocolloids, 2019(97): 105216.

[19] TANG C H, WANG C S, HUANG Q. Improvement of heat-induced fibril assembly of soy β -conglycinin (7S globulins) at pH 2.0 through electrostatic screening[J]. Food Research International, 2012, 46(1): 229–236.

[20] 金郁葱. 大豆蛋白凝胶结构和质构的控制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013. [JIN Y H. Study on the control of gel structure and texture of soybean protein[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013.]

[21] 牛祥臣, 王洪彩, 马军, 等. 食盐浓度和热处理条件对大豆蛋白凝胶特性影响的研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(6): 19–22. [NIU X C, WANG H C, MA J, et al. Effects of salt concentration and heat treatment conditions on gel properties of soybean protein [J]. Food Research and Development, 2018, 39(6): 19–22.]

[22] 李云. 大豆蛋白聚集及共混凝胶性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2007. [LI Y. Study on soybean protein aggregation and gel properties of blend[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2007.]

[23] YANG Y F, HE S D, YE Y K, et al. Enhanced hydrophobicity of soybean protein isolate by low-pH shifting treatment for the sub-micron gel particles preparation[J]. Industrial Crops & Products, 2020, 151: 112475.

[24] MERCADE-PRIETO R, ZHAO H, ZHANG M, et al. Dissolution and swelling of soy protein isolate hydrogels in alkali[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 56: 285–291.

[25] 王洪晶. 脂肪氧合酶对大豆分离蛋白聚集及凝胶性质影响研究[D]. 无锡: 江南大学, 2006. [WANG H J. Effect of lipoxigenase on aggregation and gel properties of soybean protein isolates[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2006.]

[26] 郝建敏. 加工技术对豆乳蛋白质特性的影响研究及产品评价[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016. [HAO J M. Effect of processing technology on soymilk protein properties and product evaluation[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2016.]

[27] 李丹, 魏东旭, 贾焱, 等. 大豆 7S 球蛋白结构特性与表面疏水性相关性研究[J]. 中国油脂, 2017, 42(4): 93–98. [LI D, WEI D X, JIA Y, et al. Study on the correlation between structure characteristics and surface hydrophobicity of soybean 7S globulin[J]. China Oils and Fats, 2017, 42(4): 93–98.]

[28] FU H, LI J, YANG X, et al. The heated-induced gelation of soy protein isolate at subunit level: Exploring the impacts of α and α' subunits on SPI gelation based on natural hybrid breeding varieties [J]. Food Hydrocolloids, 2023, 134: 108008.

[29] TARONE A G, FASOLIN L H, PERRECHIL F A, et al. Influence of drying conditions on the gelling properties of the 7S and 11S soy protein fractions[J]. Food and Bioprocess Processing, 2013, 91: 111–120.

[30] YAMAUCHI F, KAMATA Y, SHIBASAKI K. Isolation and identification of a new type of β -conglycinin in soybean globulins [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1981, 45(12): 2863–2868.

[31] THANH V H, SHIBASAKI K. Major proteins of soybean seeds. Reconstitution of β -conglycinin from its subunits[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1978, 26(3): 695–698.

[32] 袁德保. 大豆蛋白热聚集行为及其机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010. [YUAN D B. Study on thermal aggregation behavior and mechanism of soy protein[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010.]

[33] MOHAMAD RAMLAN B M S, MARUYAMA N, TAKAHASHI K, et al. Gelling properties of soybean β -conglycinin having different subunit compositions[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2004(7): 1091–1096.

[34] MARUYAMA Y, MARUYAMA N, MIKAMI B, et al. Structure of the core region of the soybean β -conglycinin α' subunit [J]. Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography, 2004, 60(2): 289–297.

[35] STASWICK P, HERMODSON M, NIELSEN N. Identification of the cystines which link the acidic and basic components of the glycinin subunits[J]. Journal of Biological Chemistry, 1984, 259(21): 13431–13435.

[36] UTSUMI S, KINSELLA J E. Structure-function relationships in food proteins: Subunit interactions in heat-induced gelation of 7S, 11S, and soy isolate proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1985, 33(2): 297–303.

[37] NAKAMURA T, UTSUMI S, MORI T. Network structure formation in thermally induced gelation of glycinin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1984, 32(2): 349–352.

[38] ANDREW T. J, YANG A J. Interactions of protein content and globulin subunit composition of soybean proteins in relation to tofu gel properties[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 284–289.

[39] YANG A, YU X, ZHENG A, et al. Rebalance between 7S and 11S globulins in soybean seeds of differing protein content and 11SA4[J]. Food Chemistry, 2016, 210: 148–155.

[40] BAINY E M, TOSH S M, CORREDIG M, et al. Protein subunit composition effects on the thermal denaturation at different stages during the soy protein isolate processing and gelation profiles of soy protein isolates[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2008, 85(6): 581–590.

[41] TEZUKA M, YAGASAKI K, ONO T. Changes in charac-

- ters of soybean glycinin groups I, IIa, and IIb caused by heating[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(6): 1693–1699.
- [42] JI M P, CAI T D, CHANG K C. Tofu yield and textural properties from three soybean cultivars as affected by ratios of 7S and 11S proteins[J]. *Journal of Food Science*, 1999, 64(5): 763–767.
- [43] MENG S, CHANG S, GILLEN A M, et al. Protein and quality analyses of accessions from the usda soybean germplasm collection for tofu production[J]. *Food Chemistry*, 2016, 213: 31–39.
- [44] NIU H, XIA X, WANG C, et al. Thermal stability and gel quality of myofibrillar protein as affected by soy prote in isolates subjected to an acidic pH and mild heating[J]. *Food Chemistry*, 2018, 242: 188–195.
- [45] POYSA V, WOODROW L, YU K. Effect of soy protein subunit composition on tofu quality[J]. *Food Research International*, 2006, 39(3): 309–317.
- [46] JACOBA M S R, CATRIONA M M L, HARMEN H J D J, et al. The effect of pH on heat denaturation and gel forming properties of soy proteins[J]. *Journal of Biotechnology*, 2000, 79(3): 223–230.
- [47] HE X T, YUAN D B, WANG J M, et al. Thermal aggregation behaviour of soy protein: Characteristics of different polypeptides and subunits[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(4): 1121–1131.
- [48] ELISE R, MARCELA A, MILENA C, et al. Effect of concentration and incubation temperature on the acid induced aggregation of soymilk[J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 30(1): 463–469.
- [49] TIAN Y, TAHA A, ZHANG P P, et al. Effects of protein concentration, pH, and NaCl concentration on the physicochemical, interfacial, and emulsifying properties of β -conglycinin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 118: 106784.
- [50] 刘德阳. 盐离子对大豆分离蛋白凝胶特性和微结构影响研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015: 2–18. [LIU D Y. Effects of salt ions on gel properties and microstructure of soybean protein isolate [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015: 2–18.]
- [51] CHEN Z, SHI X, XU J, et al. Gel properties of SPI modified by enzymatic cross-linking during frozen storage[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016(56): 445–452.
- [52] 王逢秋节, 杨鑫鑫, 谷雪莲, 等. 转谷氨酰胺酶-氯化镁协同诱导对冷榨豆粉凝胶的影响[J/OL]. *食品科学*: 1–12[2022-08-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20210927.2302.022.html>. [WANG F Q J, YANG X X, GU X L, et al. Effect of synergistic induction of transglutaminase and magnesium chloride on cold-pressed soy flour gel[J/OL]. *Food Science*: 1–12[2022-08-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20210927.2302.022.html>.]
- [53] CHEN N N, ZHAO M M, CHASSENIEUX C, et al. The effect of adding NaCl on thermal aggregation and gelation of soy protein isolate[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017(70): 88–95.
- [54] GENG M J, LIU J, HU H, et al. A comprehensive study on structures and characterizations of 7S protein treated by high intensity ultrasound at different pH and ionic strengths[J]. *Food Chemistry*, 2022, 373: 131378.
- [55] NGUYEN P T M, KRAVCHUK O, BHANDARI B, et al. Effect of different hydrocolloids on texture, rheology, tribology and sensory perception of texture and mouthfeel of low-fat pot-set yoghurt[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017(72): 90–104.
- [56] NINGTYAS D W, TAM B, BHANDARI B, et al. Effect of different types and concentrations of fat on the physico-chemical properties of soy protein isolate gel[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 111: 106226.
- [57] 李菊芳. 磷脂-大豆蛋白复合物形成机理及其理化功能特性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014. [LI J F. The formation mechanism and physicochemical properties of phospholipid-soybean protein complexes[D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.]
- [58] ZHAO H, CHEN J, HEMAR Y, et al. Improvement of the rheological and textural properties of calcium sulfate-induced soy protein isolate gels by the incorporation of different polysaccharides[J]. *Food Chemistry*, 2020(310): 125983.
- [59] WANG W, SHEN M, JIANG L, et al. Influence of mesona blumes polysaccharide on the gel properties and microstructure of acid-induced soy protein isolate gels[J]. *Food Chemistry*, 2020(313): 126125.
- [60] LAKSHMANAN R, DE LAMBALLERIE M, JUNG S. Effect of soybean-to-water ratio and pH on pressurized soymilk properties[J]. *Journal of Food Science*, 2006, 71(9): 384–391.
- [61] NIK A M, TOSH S. M, WOODROW L, et al. Effect of soy protein subunit composition and processing conditions on stability and particle size distribution of soymilk[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2009, 42(7): 1245–1252.
- [62] NAGANO T, MORI H, NISHINARI K. Effect of heating and cooling on the gelation kinetics of 7S globulin from soybeans[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1994, 42(7): 1415–1419.
- [63] RENKEMA J M, GRUPPEN H, VAN V T. Influence of pH and ionic strength on heat-induced formation and rheological properties of soy protein gels in relation to denaturation and their protein compositions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(21): 6064–6071.
- [64] WU C, MA W, HUA Y. The relationship between breaking force and hydrophobic interactions or disulfide bonds involved in heat-induced soy protein gels as affected by heating time and temperature[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2019, 54(1): 231–239.
- [65] HU H, CHEUNG I W Y, PAN S, et al. Effect of high intensity ultrasound on physicochemical and functional properties of aggregated soybean β -conglycinin and glycinin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015(45): 102–110.
- [66] 王小英, 李娜. 超声处理对大豆蛋白溶解性及蛋白组分的影响[J]. *中国油脂*, 2009, 34(4): 31–34. [WANG X Y, LI N. Effect of ultrasonic treatment on solubility and protein components of soybean protein[J]. *China Oils and Fats*, 2009, 34(4): 31–34.]
- [67] ZHAO C B, YIN H H, YAN J N, et al. Structure and acid-induced gelation properties of soy protein isolate–maltodextrin glycation conjugates with ultrasonic pretreatment[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021(112): 106278.
- [68] TIAN R, FENG J R, HUANG G, et al. Ultrasound driven conformational and physicochemical changes of soy protein hydrolysates[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 68: 105202.

- [69] HUANG L R, DING X N, LI Y L, et al. The aggregation, structures and emulsifying properties of soybean protein isolate induced by ultrasound and acid[J]. *Food Chemistry*, 2019, 279: 114–116.
- [70] OGEMDI F. E, AFRODITI C, DIMITRIS C. Properties of protein isolates extracted by ultrasonication from soybean residue (okara)[J]. *Food Chemistry*, 2022, 368: 130837.
- [71] 刘冉, 曾庆华, 王振宇, 等. 超声波处理对大豆分离蛋白凝胶流变性和凝胶形成的影响[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(21): 87–92, 98. [LIU R, ZENG Q H, WANG Z Y, et al. Effect of ultrasonic treatment on gel rheology and gel formation of soybean protein isolate[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(21): 87–92, 98.]
- [72] 吕博, 李明达, 张毅方, 等. 低压均质处理对大豆分离蛋白凝胶特性的影响[J]. *食品工业*, 2019, 40(2): 168–172. [LV B, LI M D, ZHANG Y F, et al. Effect of low pressure homogenization on gel properties of soybean protein isolate[J]. *Food Industry*, 2019, 40(2): 168–172.]
- [73] WANG X S, TANG C H, LI B S, et al. Effects of high-pressure treatment on some physicochemical and functional properties of soy protein isolates[J]. *Food Hydrocolloids*, 2008, 22(4): 560–567.
- [74] KANG Z L, BAI R, LU F, et al. Effects of high pressure homogenization on the solubility, foaming, and gel properties of soy 11S globulin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 124(A): 107261.
- [75] BI C H, WANG P L, SUN D Y, et al. Effect of high-pressure homogenization on gelling and rheological properties of soybean protein isolate emulsion gel[J]. *Journal of Food Engineering*, 2020, 227: 109923.
- [76] 朱秀清, 刘燕清, 朱颖等. 挤压预处理酶解修饰大豆蛋白乳化特性的研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(21): 365–371. [ZHU X Q, LIU Y Q, ZHU Y, et al. Advances in emulsifying properties of soy protein modified by extrusion pretreatment[J]. *Food Science*, 2021, 42(21): 365–371.]
- [77] SILVA A C C, ARÊAS E P G, SILVA M A, et al. Effects of extrusion on the emulsifying properties of rumen and soy protein[J]. *Food Biophysics*, 2010, 5(2): 94–102.
- [78] FANG Y Q, ZHANG B, WEI Y M. Effects of the specific mechanical energy on the physicochemical properties of texturized soy protein during high-moisture extrusion cooking[J]. *Journal of Food Engineering*, 2014(121): 32–38.
- [79] ZHENG H, YAN G, LEE Y, et al. Effect of the extrusion process on allergen reduction and the texture change of soybean protein isolate and soybean flour-corn mixtures[J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2020, 64: 102421.
- [80] MA W, QI B, SAMI R, et al. Conformational and functional properties of soybean proteins produced by extrusion-hydrolysis approach[J]. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 2018: 9182508.
- [81] LIU Y Q, HUANG Y Y, DENG X Q, et al. Effect of enzymatic hydrolysis followed after extrusion pretreatment on the structure and emulsibility of soybean protein[J]. *Process Biochemistry*, 2022, 116: 173–184.
- [82] DINAKAR P, ARUN K. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1996, 7(4).
- [83] 孙菁, 赵良忠, 王容, 等. 基于 TG 酶凝固的大豆蛋白凝胶生产工艺研究[J]. *农产品加工*, 2019(14): 28–32, 42. [SUN J, ZHAO L Z, WANG R, et al. Production technology of soybean protein gel based on tg enzymatic solidification[J]. *Agricultural Product Processing*, 2019(14): 28–32, 42.]
- [84] 丁欣悦. 超声辅助转谷氨酰胺酶及美拉德反应对大豆分离蛋白结构和功能性质的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2018: 1–10. [DING X Y. Effect of ultrasound-assisted transglutaminase and Maillard reaction on the structure and functional properties of soybean protein isolate[D]. Nanchang: Nanchang University, 2018: 1–10.]
- [85] FATIMA S W, KHARE S K. Current insight and futuristic vistas of microbial transglutaminase in nutraceutical industry[J]. *Microbiological Research*, 2018: 215.
- [86] LUISA A, GASPAR C, DE G F S P. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review[J]. *Food Chemistry*, 2015, 171(Mar.15): 315–322.
- [87] QIN X S, CHEN S S, LI X J, et al. Gelation Properties of transglutaminase-induced soy protein isolate and wheat gluten mixture with ultrahigh pressure pretreatment[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2017, 10(5): 866–874.
- [88] ZHANG M Q, YANG Y J, NURIA C. A, et al. Effects of pre-heating soybean protein isolate and transglutaminase treatments on the properties of egg-soybean protein isolate composite gels[J]. *Food Chemistry*, 2020, 318: 126421.
- [89] LUO K Y, LIU S T, MIAO S, et al. Effects of transglutaminase pre-crosslinking on salt-induced gelation of soy protein isolate emulsion[J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 263: 280–287.
- [90] 赵新淮, 侯瑶. 大豆蛋白限制性酶解模式与产品胶凝性的相关性[J]. *农业工程学报*, 2009, 25(S1): 217–221. [ZHAO X H, HOU Y. The correlation between soybean protein restrictive enzymatic hydrolysis mode and product gelation[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2009, 25(S1): 217–221.]
- [91] 余留印. 大豆蛋白酶解物的氨基葡萄糖糖基化修饰及其性质研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2019: 1–15. [YU L Y. Glucosylation modification and properties of soybean protein hydrolysates[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2019: 1–15.]
- [92] YANG X, KE C, LI L. Physicochemical, rheological and digestive characteristics of soy protein isolate gel induced by lactic acid bacteria[J]. *Journal of Food Engineering*, 2021, 292: 110243.
- [93] 李良, 杨晓宇, 王雁, 等. 植物乳杆菌发酵大豆分离蛋白凝胶的特性分析[J]. *华南理工大学学报(自然科学版)*, 2019, 47(3): 93–100. [LI L, YANG X Y, WANG Y, et al. Characterization of soy protein isolate gel fermented by *Lactobacillus plantarum*[J]. *Journal of South China University of Technology (Natural Science)*, 2019, 47(3): 93–100.]