



大豆蛋白热改性及其解离缔合反应研究进展

曾剑华, 刘琳琳, 杨 杨, 张 娜, 石彦国, 朱秀清

(哈尔滨商业大学 食品工程学院/黑龙江省普通高校食品科学与工程重点实验室/黑龙江省谷物食品与综合加工重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘 要:大豆蛋白的解离缔合行为能够通过热处理使其发生解离缔合反应从而改变大豆蛋白构象来获得理想功能特性,因此蛋白的热解离缔合行为决定了大豆制品的后期加工特性、品质及其应用范围,是目前研究的热点。本文概述了大豆蛋白组分以及大豆蛋白热改性最新研究现状;综述了大豆分离蛋白、大豆球蛋白、伴大豆球蛋白和大豆脂蛋白热解离缔合反应过程最新研究进展,并分析了大豆蛋白组分在热解离缔合过程中的相互作用;为研究大豆蛋白在热处理过程中的蛋白的解离缔合机制及生产应用提供理论支撑。

关键词:大豆分离蛋白;大豆球蛋白;伴大豆球蛋白;大豆脂蛋白;热改性;解离缔合反应

Research Progress on Thermal Modification and Its Dissociation Association Action of Soy Proteins

ZENG Jian-hua, LIU Lin-lin, YANG Yang, ZHANG Na, SHI Yan-guo, ZHU Xiu-qing

(College of Food Engineering/Key Laboratory of Food Science and Engineering/Key Laboratory of Grain Food and Comprehensive Processing, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: The dissociation and association behavior is the currently hot spots research of soy proteins. Heat treatment contributes to the conformation of the soy protein for obtaining ideal functional properties by dissociation-association reaction. Therefore, the post-processing characteristics, quality and the application range of soybean products were determined by the thermal dissociation-association behavior of soybean protein. In this paper, the latest research status of soy protein components and the thermal modification of soy protein were summarized. And the latest research progress on thermal dissociation-association reaction process of soy protein [including SPI (soybean proteins isolates), β -conglycinin, conglycinin, lipid proteins] was reviewed. Moreover the interaction of soy protein components during the thermal dissociation-association processing was analyzed. In order to provide theoretical support for elucidating the dissociation-association mechanism and the application in production of soy protein in the heat treatment process.

Keywords: Soybean proteins isolates(SPI); β -conglycinin; Conglycinin; Lipid protein; Thermal modification; Dissociation-association action

大豆蛋白因其营养价值高、加工特性好、成本低及潜在的保健功能^[1],在亚洲国家中广泛用于生产豆浆、豆腐和纳豆等传统食品^[2];而在西方主要加工豆油出口,如美国 2015 - 2016 年度中,50.7% 大豆用于制油^[3]。近十几年来,由于乳糖不耐症患者增加、豆腥味的解决以及消费意识增强等,传统豆制品越来越受欢迎,如美国癌症研究所提出的“食品设计师金字塔”项目就将大豆列为顶级食品行列^[3]。据估计到 2050 年大豆将成为提供可持续性蛋白首要来源^[4-6]。

大豆种子中蛋白约占 40%,主要为大豆储藏蛋白,大豆球蛋白和伴大豆球蛋白,沉降系数分别为 11S 和 7S。此外 Samoto 等^[7]还发现了大豆脂蛋白(lipid proteins, LP)。11S 球蛋白是六聚体(300 ~

380 kDa),由酸性多肽(A, 35 kDa)和碱性多肽(B, 20 kDa)通过二硫键链接组成亚基。7S 球蛋白是三聚体(180 ~ 210 kDa),由 α (68 kDa)、 α' (72 kDa)和 β (52 kDa)组成^[8]。Samoto 等^[7]首次提出 LP 组分;其磷脂含量高达 10%,分子量为 24, 18 和 34 kDa,蛋白条带为 LP 特征分子。

大豆分离蛋白的蛋白含量大于 90%,近几十年来,大豆蛋白作为食品基质在食品领域的应用越来越广泛,但因其溶解度低等功能性质缺陷使其在饮料等行业的开发应用具有局限性^[9]。热处理是食品加工过程中重要操作单元,如杀菌、钝化抗营养因子、诱导大豆蛋白变性提高消化率、软化大豆组织便以加工以及获得理想的功能品质等^[10]。大豆蛋白在热处理过程中主要发生蛋白的解离缔合反

收稿日期:2018-07-21

基金项目:国家重点研发计划(2016YFD0400402);国家自然科学基金面上项目(31871747);哈尔滨商业大学研究生创新科研项目(YJSCX2018-539HSD)。

第一作者简介:曾剑华(1993 -),男,硕士,主要从事蛋白质化学与大豆加工技术研究。E-mail:455237107@qq.com。

通讯作者:朱秀清(1968 -),女,硕士,教授,主要从事蛋白质化学与大豆加工技术研究。E-mail:xqzhuwang@163.com;

石彦国(1960 -),男,硕士,教授,主要从事蛋白质化学与大豆加工技术研究。E-mail:yanguoshi@163.com。

应,使大豆蛋白构象发生改变从而达到蛋白改性的目的;因此大豆蛋白的热解离缔合行为程度决定了其后期大豆制品的功能性质及其品质。Ringgenberg^[11]研究表明豆乳热处理后其粒径显著降低(由40~120 nm变成40~100 nm),证明热处理过程中大粒径组分发生了解离。研究发现大豆球蛋白与伴大豆球蛋白亚基之间存在相互作用;如袁德保^[12]研究显示 α 、 α' 具有抑制碱性亚基热聚集能力,维持溶液的稳定性,7S球蛋白浓度高时, β 易形成可溶性聚集体;由此可知大豆蛋白组成在其热解离缔合行为过程中具有及其重要的影响。

综上,热处理主要通过蛋白亚基解离缔合反应来改变蛋白构象从而获得理想功能性质的加工方式;因此,本文将对大豆蛋白热处理改性及其热解离缔合行为进行综述,为进一步研究大豆蛋白在热处理过程中蛋白的解离缔合机制及生产应用提供理论支撑。

1 热改性对大豆蛋白功能特性的影响

大豆蛋白热处理在国内外已有广泛的研究,结果表明在热处理过程中大豆蛋白的解离缔合行为在很大程度上决定了其溶解性、乳化性、凝胶性^[5-6]等豆制品后期加工特性。

1.1 大豆蛋白溶解特性的变化

热处理过程中的酸碱环境和温度对大豆蛋白的热解性有一定影响。Sirison等^[13]发现在pH7、25和90℃各处理30 min大豆蛋白的溶解度从42%升高到85%;而适度碱处理后还能显著提高大豆蛋白的溶解性,同时还能保持蛋白营养不流失,Wu等^[14]在pH12、100℃处理60 min时发现,SPI溶解度由47%升到99.5%。研究发现7S的 α 、 α' 亚基能抑制碱性亚基B热聚集,从而增大11S组分的溶解度,且其能力大于 β 。 β 亚基通过静电作用首先与11S形成 β -折叠结构生成不溶性聚集体^[12];如SPI在80℃处理后经超速离心沉淀部分没有检测到11S组分,而上清液出现2S和4S组分,一种解释是7S与11S产生静电相互作用促使碱性亚基溶解^[15]。郭建等^[16]发现7S和11S聚合物的大小随着加热温度的升高而增加,混合11S/7S聚合物的大小随着7S含量的增加而降低;7S形成的有限大小聚合物,11S形成不溶性聚合物的内部结构致密而表面疏松;且7S能抑制SPI不溶性聚集体的增长。

有研究显示SPI的溶解度还与大豆脂蛋白有密切关联,LP的存在一定程度上抑制了SPI的溶解度。Matsumura等^[17]发现在热处理过程中LP可能通过疏水相互作用与11S或7S形成不溶性大颗粒

LP-11S或LP-7S,处理过程中适当碱处理后可能使LP-11S或者LP-7S聚集体解离从而增大SPI的溶解度。

1.2 大豆蛋白凝胶特性的变化

大豆蛋白凝胶特性是其在食品应用中的重要性质;Renkema^[18]系统研究了大豆蛋白凝胶的形成、结构及其流变特性,DSC结果显示7S和11S凝胶形成的温度范围分别在55~70℃与70~90℃;SPI凝胶能通过两个途径获得,pH<6时7S热变性形成凝胶;pH>6时11S热变性形成凝胶。当加热至95℃后,蛋白之间进一步结合使凝胶网络结构发生重排导致凝胶变硬;冷却后凝胶硬度进一步增加,这个过程具有热可逆性,但不涉及共价键的形成和结构重排。Chen等^[19]在蛋白浓度为0.3~90.0 g·L⁻¹和温度为50~95℃以及中性pH条件下研究SPI凝胶特性,其凝胶化温度与Renkema^[18]结果一致,还发现SPI凝胶聚集体结构和蛋白浓度相关,随着浓度的增大聚集体粒径显著增大;凝胶的形成速率依赖于温度,低于60℃,凝胶形成变慢。在预处理后加入NaCl,SPI凝胶化的活化能显著降低,从150 kJ·mol⁻¹降为72 kJ·mol⁻¹;且随着NaCl浓度的增加凝胶形成速率和聚集体粒径都增大,热与盐诱导形成的SPI胶凝的硬度没有显著差异,但后者的活化能小,形成的凝胶更均匀^[20-21]。

在凝胶化过程中,球蛋白变性时可以转化成各种中间状态,如熔球态和原纤维等,其机理尚未研究透彻;Dobson^[22]简单概括了球蛋白热变性和聚集过程,即在热处理过程中,天然状态的球蛋白疏水性基团暴露导致疏水性增加,净电荷减少,从而促进 β -折叠形成网络结构。

1.3 大豆蛋白乳化特性的变化

蛋白质作为乳化剂经常应用于食品工业,在吸附过程中,蛋白质的二级和三级结构发生重排,从而确保疏水片段和疏水相之间的最大相互作用;吸附相邻蛋白质分子通过疏水相互作用或二硫键形成聚集体,其形成的粘弹性层和液滴间相互作用(静电和空间位阻)决定了乳液稳定性^[23]。大豆蛋白热处理过程对其乳化能力也有重大的影响,如热处理温度从40℃增加到100℃时,SPI的乳化活性指数从74 m²·G⁻¹增加到184 m²·G⁻¹;Li等^[24]研究热处理对大豆蛋白乳液性质的影响,发现95℃加热30 min乳液油滴平均粒径更小,且油滴絮凝趋势更低,表明蛋白乳化能力越强。与Keeratiurai等^[25]在95℃加热30 min研究加热对SPI稳定的水包油乳液的影响得出的结论一致。天然大豆分离蛋白与喷雾干燥大豆分离蛋白(PPSPS)稳定乳液研究中发

现,N-SPI 的 7S 和 11S 组分变性温度分别为 68℃ 和 85℃,这与之前的研究相符,但喷雾干燥大豆分离蛋白在 50℃ 左右就开始显示单一宽峰,表明蛋白质结构发生重排,形成热稳定性较低的蛋白质复合物。

1.4 大豆蛋白体外消化的变化

热处理后大豆蛋白消化物二级结构中 α 螺旋含量高于对照组,而 β -折叠含量下降。有研究表明热处理能显著影响大豆蛋白的体外消化率,热处理大豆蛋白的体外消化率与 α 螺旋含量、 α 螺旋、 β 折叠值呈极显著正相关,与无规则卷曲含量显著正相关^[26-27]。

2 热改性过程中大豆蛋白的解离缔合行为

在热处理过程中大豆蛋白发生亚基的解离缔合反应,通过蛋白解离缔合行为改变大豆蛋白构象从而达到蛋白改性的目的;因此大豆蛋白的热解离缔合行为很大程度上决定其后期大豆制品的功能性质及其品质。SPI 主要由 7S、11S 和 LP 组成,但 SPI 的热解离缔合行为应由 7S、11S 和 LP 的相互作用共同决定。

2.1 大豆分离蛋白的热解离缔合行为

2.1.1 SPI 解离缔合行为的影响因素 pH 和温度是影响 SPI 解离缔合行为主要因素,在所有热处理条件下蛋白的聚集体相似,随着加热时间的增长粒径增大,表明其聚集体结构与加热时间和温度无关;而在极端 pH 条件下解离占优势,但当处于极端 pH 时 SPI 会像许多球蛋白一样发生显著的构象变化,失去三级蛋白结构而保留相对紧凑的二级结构^[28]。热处理时当温度超过 90℃ 时,11S 会因 B 亚基通过疏水相互作用交联形成不溶性聚合物, SPI 或 11S+7S 溶液不发生聚集,可能是 11S 和 7S 相互作用形成了 11S 的稳定结构或 7S 亚基与 11S 的 B 形成了可溶性复合物^[29]。在还原条件下, Petrucci 等^[30]发现当温度超过 85℃, 11S-AB 浓度减少, A 和 B 亚基浓度逐渐增大;凝胶电泳结果显示热处理形成的可溶性聚合物分子量为 100~200 kDa,且 7S 的 α' 和 α 亚基相对比例没有变化;表明 7S- β -11S-B 首先通过疏水相互作用聚集随后由二硫键形成稳定聚集体,一定程度上抑制了 SPI 的聚集^[31-32]。

Jiang 等^[33]通过 pH2 和 pH12 诱导 SPI 形成熔球态结构,发现 SPI_{pH12} 在 pH6 和 pH7 的溶解度急剧增大;其电泳结果显示,经 pH12 处理后 11S-AB 发生解离成 A 和 B,同时 7S 的 β 亚基含量下降,表明碱处理诱导 SPI 聚集主要源于 11S-AB 和 7S- β 之间的相互作用;DCS 结果显示 SPI_{pH12} 的变形温度极小,因极端碱处理偏离 SPI 的等电点,导致分子内氢键

发生不可逆的破坏,表明 SPI_{pH12} 已经失去了大部分蛋白三级结构。源博恩^[15]研究表明在酸性条件下 (pH2~3), SPI 荧光最大吸收波长增大 1.8 和 4.3 nm (pH7, λ_{\max} = 339 nm), 分子内部色氨酸发生不同程度的暴露,同时 Zeta 电位增大,表明大豆蛋白亚基解离主要是由于分子间排斥力所致,且 11S 亚基解离程度大于 7S 球蛋白;而在 pH1 和 pH7 条件下, λ_{\max} 发生蓝移,说明大豆分离蛋白发生聚集形成紧密的结构减少了色氨酸的暴露。当大豆蛋白发生解离时其无规则卷曲含量会随着解离程度的增大而增加^[19], pH2 和 pH3 条件下大豆蛋白二级结构的无规则卷曲均大于 pH1 和 pH7,表明大豆蛋白发生解离且与无规则卷曲含量成正相关。同时大豆蛋白发生解离时 β -结构会转化成 α -螺旋和无规则卷曲,且随着解离程度增大,转化程度也越高。

2.1.2 7S 抑制 11S 热聚集行为 根据 Andrews 等^[34]提出的 Lumary-Eyring 模型,蛋白质热聚集体形成成分 5 个阶段:(1)球蛋白舒展;(2)形成可逆的低聚物;(3)低聚物重排并聚集成核;(4)通过聚合形成可溶性聚集体;(5)可溶性聚集体彼此交联生成不溶性聚合物。SPI 的解离缔合行为与 7S、11S 和 7S+11S 的解离缔合行为并不完全一致,因为 SPI 中 7S 与 11S 会发生相互作用,此外 7S 的 α' 、 α 和 β 亚基与 A 可形成可溶性聚合物,由于传统的食品生产过程中很难完全除去 SPI 里面的膜蛋白的脂质成分, SPI 中存在的大豆脂蛋白热解离缔合行为也对其产生一定的影响。

经热处理后 SPI 组分的聚集程度依次为: B > 11S > β > 7S > A > α' 、 α , 并发现在热处理过程中 β 亚基能与 11S 形成可溶性聚合物。热处理过程中通过 7S 抑制 11S 聚集有两种可能的机制: 7S 直接与 11S 作用抑制碱性多肽的释放; 7S 或其亚基与释放的 B 作用形成增溶复合物。 α' 、 α 和 β 亚基与 B 作用机制如下: 热处理前 α' 、 α 和 β 亚基和带不同电荷的 B 相互吸引,并借助疏水基团通过疏水作用相结合,同时聚合物之间的静电斥力抑制其生长。 α' 、 α 和 β 亚基与 B 之间作用机制差异: 热处理过程与 α' 、 α -B 体系相比 β -B 体系形成更多疏水键,且位于聚集体内部,使 β -B 体系的表面疏水性比 α' 、 α -B 体系的疏水性要低;位于 α' 、 α -B 表面上的亲水性和带电基团能更大程度抑制碱性多肽的聚集^[35]。

2.2 大豆球蛋白热解离缔合行为

在热处理过程中 11S 球蛋白可形成可溶性的寡聚体、二聚体和多聚体,进一步加热形成 3-4S 可溶性聚合物。根据不同的 pH 和离子强度, 11S 可以解离成 7S [(AB)₃] 或 3S (AB), 也可能聚合成 15S

(11S的二聚体)以及多聚体。

2.2.1 11S球蛋白解离缔合行为的影响因素 pH和离子强度对11S热解离缔合行为有很大的影响。如Kim等^[36]发现pH4.5酸化至pH3或碱化至pH11.5,其变形温度和焓值均减小直至消失,表明11S的热稳定性减弱;离子强度为0.1和0.5时,11S的热变性温度分别为78.1℃和89.6℃。在70℃时,11S解离为2S,并随后解离为亚基A和B;伴随微碱化处理,11S能很快解离成7S和2S,且该过程的蛋白构象改变是可逆的。在高离子浓度下,90℃才开始解离;加热导致亚基构象改变,生成沉降系数更大的组分如15S^[37]。

当在离子强度下为0.5、pH7.6和100℃条件下加热5%11S球蛋白,发现在15,30s和1min内分别形成分子量为1800,4000和8000kDa可溶性聚集体^[38];在0.5%浓度条件下,加热导致可溶性聚集体消失并完全解离成A和B;而在5%浓度条件下,加热形成高度聚合物,经透射电镜确定为凝胶,证实可溶性聚集体是11S凝胶形成过程的中间产物^[39]。通过流变学研究发现,在40~80℃过程中,存储模量急剧增大,表明凝胶化速率加快^[20];动态光散射表征11S球蛋白热聚集体结构,发现其与温度和浓度无关,但聚集体形成的大小与蛋白浓度成正相关^[19]。

2.2.2 11S球蛋白结构特性表征 通过荧光光谱表征酸热处理和碱热处理11S球蛋白结果显示,11S吸收峰向高波长移动且荧光强度降低,表明含色氨酸和酪氨酸的侧链基团均发生不同程度的暴露,且酸处理后暴露程度更高;热处理红移范围为352~356nm,使11S球蛋白三级结构发生显著的变化^[40]。而碱热处理后11S的吸收峰强度增加,可能因为热处理过程中11S缔合成多聚体导致散射程度的增大。CD结果显示,酸处理导致生成的 β -折叠比碱处理更多^[41]。Jiang等^[42]也发现11S球蛋白偏碱处理比偏酸处理其 α -螺旋结构变化更显著。

齐宝坤等^[43-44]研究显示,随着温度增大,11S球蛋白Zeta电位逐渐减小、平均粒径增大,同时 α -螺旋转化成 β -折叠与无规则卷曲;而溶解度不断降低,可能是11S球蛋白一直处于不断解离状态导致表面净电荷减少彼此缔合成不溶性聚集体;且100℃条件下加热30min后,11S球蛋白的结构转化地更快,同时溶解度先降低后增大(低于80℃),由此说明高温条件下11S球蛋白先解离后迅速缔合成不溶性聚集体后,一部分缔合成可溶性聚集体。齐宝坤等^[45]也发现随着热处理时间增加,80℃时, α -螺旋结构转变为 β -转角和无规卷曲结构;在90℃和

100℃热处理下, α -螺旋和 β -折叠结构转变为 β -转角和无规卷曲结构。

2.3 大豆伴球蛋白解离缔合行为的影响因素

7S球蛋白分子的 α' 、 α 亚基含有延伸区,且N-端糖基化,热处理时,7S肽链展开亚基解离,暴露出疏水性基团,当发生疏水相互作用时,将疏水性基团埋藏在聚集体内部,亲水性基团和N-端糖基能提供足够的排斥力,使蛋白发生有限缔合而形成可溶聚集体;而11S球蛋白N-端糖基化数量少,同时B结构中含有更多的疏水基团,使得11S球蛋白快速缔合成不溶性聚合物。如袁德保^[12]、Mills等^[46]发现7S球蛋白只能形成有限大小的聚集体。刘春雷等^[47]还发现7S球蛋白溶解度与表面疏水性呈极显著负相关,其可溶性聚集体平均粒径与表面疏水性呈显著正相关。

2.3.1 pH和离子强度对7S伴球蛋白热解离缔合行为的影响 离子强度对7S球蛋白的聚集有很大影响,离子强度由0.01增加到1.00,7S球蛋白聚集体呈线性增大,但其粒径不随着热处理时间的增加而无限增大。在90℃下热处理5min(离子强度为0),7S球蛋白能完全解离成的 α' 、 α 和 β 亚基,然而随着蛋白质溶液离子强度的增加,热解离后可重新缔合成7S球蛋白;当离子强度大于0.1时有利于亚基缔合的进行,如 β 亚基倾向聚集成大分子,而 α' 、 α 亚基则可能重新缔合成7S组分,而重新缔合的7S组分在离子强度发生变化时能在7S与9S组分之间发生转换^[48-49]。

2.3.2 热处理对7S球蛋白结构特性的影响 7S球蛋白FTIR结果显示,在65℃时衡量变性程度的 β -折叠1639 cm^{-1} 谱带开始下降,而代表 β -折叠结构的1618 cm^{-1} 谱带开始增大,并且当温度升高到75℃时接近饱和;而CD图谱显示随着温度的升高, α -螺旋先减小后增大、 β -折叠缓慢减少,而无规则卷曲则是随着温度的升高而升高;且FTIR和CD的结果均发现无规则卷曲增大、 β -转角减小^[50]。

相比11S球蛋白而言,pH偏移对7S球蛋白热处理过程中的影响显然小很多;Xiao等^[51]通过荧光光谱表征7S球蛋白三级结构发现无论是酸处理(pH2.5)还是碱处理(pH8.5)其吸收峰偏移程度很小,表明pH偏移过程中色氨酸和酪氨酸的微环境基本保持不变;Jiang等^[42]在pH1.5和pH12.5热处理后的7S的溶解行为,显示溶解度基本保持在80%~90%;同时pH变化后的7S表面疏水性也没有发生显著变化,相反,11S的表面疏水性在2h后增加了3倍;均表明pH偏移对11S三级结构影响

比7S大^[52]。CD结果显示,在热处理过程中7S球蛋白在210 nm处的平均摩尔椭圆斜率先增大后减小,说明7S在热处理过程中形成了 β -结构,7S彼此缔合;而椭圆斜率减少一方面是7S发生亚基解离或者水解成小肽。pH偏移后的CD图谱也出现在210 nm处的平均摩尔椭圆斜率降低,同时还发生蓝移,说明酸热处理或碱热处理均对7S的二级结构有显著影响^[53];通过SDS-PAGE分析发现酸处理情况下7S和11S均不同程度地发生解离并最终被水解成小肽;而碱热处理不会对7S和11S亚基有显著的解离作用^[54]。

2.4 大豆脂蛋白的热解离缔合行为

脱脂大豆粉含有两种脂质:游离脂质0.009~0.011 g·g⁻¹,结合脂质(蛋白质结合脂质)0.019~0.022 g·g⁻¹^[55];其中游离脂质在大豆蛋白减提酸沉过程中基本除去,而脂蛋白则留在SPI中。Samoto等^[7]报道SPI中主要蛋白成分11S、7S和LP分别为0.46,0.23和0.31 g·g⁻¹。

Sirison等^[13]研究热处理对11S、7S、LP和自制分离蛋白和市售分离蛋白溶解度影响,发现在25℃时LP溶解度低于20%,7S和11S的溶解度均高于80%,而自制分离蛋白的溶解度只有40%左右;在90℃时LP溶解度增大,自制分离蛋白的溶解度也增大;25℃时,7S和11S体系SDS-PAGE结果显示其上清液中几乎没有发现膜蛋白,而在90℃则检测到少量膜蛋白,从而推测自制分离蛋白溶解度低与LP的溶解度低有关。Matsumura等^[17]提出了LP的形成过程,LP中主要的膜蛋白是油体中的油质蛋白,在脱脂的过程中,因为己烷不能有效地提取极性脂质如磷脂,油质蛋白和磷脂仍然在脱脂粉中形成油质蛋白-磷脂复合物(OL-PL)。OL-PL可能在通过疏水相互作用聚集在水中形成粗大的胶体颗粒,并且在分馏过程中部分OL-PL可能会与11S和7S形成不溶性大颗粒;尽管LP含有60%的11S和7S,但是DSC没有检测到11S和7S的特征吸收峰,说明其天然构象发生了改变。

因此有必要对LP组分的热力学和动力学进行研究,以揭示其在SPI热解离缔合行为过程的作用。目前对于大豆脂蛋白详细的分子组成及其结构尚有待研究,现有研究表明LP具有良好的乳化性和表面活性^[56];同时LP具有降低胆固醇以及尿白蛋白的活性功能^[57]。而基于LP组分考察如凝胶特性、起泡性等功能特性尚待研究。

3 结论与展望

大豆蛋白热解离缔合反应是目前的一个研究热点,通过热解离缔合反应改变大豆蛋白构象从而

获得理想功能性质的蛋白。对大豆蛋白热解离缔合行为机制的了解有助于在食品生产过程中对其体系聚集行为进行控制,比如在豆乳粉中减少不可逆聚集体的形成而改变豆粉溶解性差的现状;同时大豆蛋白热处理中的解离缔合行为及机制的研究有助于拓展热处理在大豆蛋白相关食品体系中的应用领域。

参考文献

- [1] Liu Y, Yang J, Lei L, et al. 7S protein is more effective than total soybean protein isolate in reducing plasma cholesterol[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 36:18-26.
- [2] Chen K I, Erh M H, Su N W, et al. Soyfoods and soybean products: From traditional use to modern applications[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2012, 96(1):9.
- [3] Economics, Statistics and Market Information System. Oil crops yearbook 2016[R]. UAS: United States Department of Agriculture, 2016.
- [4] Debruyne I, Riaz M N. Soy base extract: Soymilk and dairy alternatives[M]. London: Taylor & Francis Group, 2006.
- [5] Caragay A B. Cancer - preventive foods and ingredients[J]. *Arthritis & Rheumatism*, 1992, 25(12):65-68.
- [6] Reynolds L P, Wulsterradcliffe M C, Aaron D K, et al. Importance of animals in agricultural sustainability and food security[J]. *Journal of Nutrition*, 2015, 145(7):1377-1379.
- [7] Samoto M, Maebuchi M, Miyazaki C, et al. Abundant proteins associated with lecithin in soy protein isolate[J]. *Food Chemistry*, 2007, 102(1):317-322.
- [8] Utsumi S. Structure-function relationships of soy proteins[J]. *Food Proteins & Their Applications*, 1997:257-291.
- [9] Wu N, Wang L, Yang X, et al. Comparison of flavor volatiles and some functional properties of different soy protein products[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2011, 88(10):1621-1631.
- [10] Medic J, Atkinson C, Hurburgh C R. Current knowledge in soybean composition[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2014, 91(3):363-384.
- [11] Ringgenberg E. The physico-chemical characterization of soymilk particles and gelation properties of acid-induced soymilk gels, as a function of soymilk protein concentration[D]. Guelph: The University of Guelph, 2011.
- [12] 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. Heat-induced aggregation of soy protein and its mechanism[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010.)
- [13] Sirison J, Matsumiya K, Samoto M, et al. Solubility of soy lipophilic proteins: Comparison with other soy protein fractions[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2017, 81(4):790-802.
- [14] Wu W, Hettiarachchy N S, Kalapathy U, et al. Functional properties and nutritional quality of alkali- and heat-treated soy protein isolate[J]. *Journal of Food Quality*, 2010, 22(2):119-133.
- [15] 源博恩. 亚基解离与重聚集对大豆蛋白结构和功能特性的影响[D]. 广州:华南理工大学, 2012. (Yuan B E. Effect of

- subunit dissociation and aggregation on structure and properties [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012.)
- [16] 郭健. 大豆蛋白热聚集行为控制及其结构表征的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012. (Guo J. Control of soy protein thermal aggregation behavior and structural characterization of soy protein aggregate [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012.)
- [17] Matsumura Y, Sirison J, Ishi T, et al. Soybean lipophilic proteins: Origin and functional properties as affected by interaction with storage proteins[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2017, 28:120-128.
- [18] Renkema J M S. Formation, structure and rheological properties of soy protein gels[J]. Holland: Wageningen Universiteit, 2001.
- [19] Chen N, Zhao M, Chassenieux C, et al. Thermal aggregation and gelation of soy globulin at neutral pH[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 61:740-746.
- [20] Chen N, Chassenieux C, Nicolai T. Kinetics of NaCl induced gelation of soy protein aggregates: Effects of temperature, aggregate size, and protein concentration[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 77:66-74.
- [21] Chen N, Zhao 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.
- [22] Dobson C M. Protein folding and misfolding[J]. *Nature*, 2003, 426(6968):884-890.
- [23] Sharif H R, Williams P A, Sharif M K, et al. Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants- α review[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 76:2-16.
- [24] Li F, Kong X, Zhang C, et al. Effect of heat treatment on the properties of soy protein-stabilised emulsions [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2011, 46(8):1554-1560.
- [25] Keeratiurai M, Corredig M. Effect of dynamic high pressure homogenization on the aggregation state of soy protein[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2009, 57(9):3556-3562.
- [26] 白明昧, 孙泽威, 龙国徽, 等. 热处理对全脂大豆蛋白质分子结构特征、溶解度和体外消化率的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(11):31-38. (Bai M M, Sun Z W, Long G H, et al. Effect of heat-treatment on molecular structure characteristics, solubility and in vitro digestibility of full-fat soybean protein[J]. *Journal of Northwest A & F University (Social Science Edition)*, 2016, 44(11):31-38.)
- [27] 王中江, 张潇元, 隋晓楠, 等. 热处理大豆蛋白体外消化产物结构特征分析[J]. 食品科学, 2017, 38(1): 20-26. (Wang Z J, Zhang X Y, Sui X N, et al. Structural characteristics of *in vitro* digestion products of heat-treated soybean protein[J]. *Food Science*, 2017, 38(1):20-26.)
- [28] Chen N, Chassenieux C, Niepceon F, et al. Effect of the pH on thermal aggregation and gelation of soy proteins[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 66:27-36.
- [29] German B, Damodaran S, Kinsella J E. Thermal dissociation and association behavior of soy proteins[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1982, 30(5): 117-127.
- [30] Petruccielli S, Anon M C. Thermal aggregation of soy protein isolates[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1995, 43(12):3035-3041.
- [31] 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 & Food Chemistry*, 1985, 33(2):297-303.
- [32] 叶荣飞, 杨晓泉, 郑田要, 等. 热变性和热聚集对大豆分离蛋白溶解性的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(7):106-108. (Ye R F, Yang X Q, Zheng T Y, et al. Effects of thermal denaturation and aggregation on solubility of soy protein isolates[J]. *Food Science*, 2008, 29(7):106-108.)
- [33] Jiang J, Xiong Y L, Chen J. pH Shifting alters solubility characteristics and thermal stability of soy protein isolate and its globulin fractions in different pH, salt concentration, and temperature conditions[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2010, 58(13):8035-8042.
- [34] Andrews J M, Roberts C J. A Lumry-Eyring nucleated polymerization model of protein aggregation kinetics: 1. Aggregation with pre-equilibrated unfolding [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2007, 111(27):7897-7913.
- [35] He X, Yuan D, Wang J, et al. Thermal aggregation behaviour of soy protein: Characteristics of different polypeptides and sub-units [J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2015, 96(4):1121-1131.
- [36] Kim K S, Kim S, Yang H J, et al. Changes of glycinin conformation due to pH, heat and salt determined by differential scanning calorimetry and circular dichroism [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2010, 39(4): 385-393.
- [37] Ruiz-Henestrosa V M P, Martinez M J, Patino J M R, et al. A dynamic light scattering study on the complex assembly of glycinin soy globulin in aqueous solutions[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2012, 89(7):1183-1191.
- [38] Nakamura T, Utsumi S, Mori T. Network structure formation in thermally-induced gelation of glycinin[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1984, 32(2):349-352.
- [39] Mori T, Nakamura T, Utsumi S. Gelation mechanism of soybean 11S globulin: Formation of soluble aggregates as transient intermediates[J]. *Journal of Food Science*, 2010, 47(1):26-30.
- [40] Xiao J, Shi C, Zhang L, et al. Multilevel structural responses of β -conglycinin and glycinin under acidic or alkaline heat treatment [J]. *Food Research International*, 2016, 89:540-548.
- [41] Tang C H, Wang C S. Formation and characterization of amyloid-like fibrils from soy β -conglycinin and glycinin[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2010, 58(20):11058-11066.
- [42] Jiang J, Xiong Y L, Chen J. Role of β -conglycinin and glycinin subunits in the pH-shifting-induced structural and physicochemical changes of soy protein isolate[J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(2):C293-302.
- [43] 齐宝坤, 赵城彬, 江连洲, 等. 不同热处理温度下大豆 11S 球蛋白 Zeta 电位、粒径和红外光谱研究 [J/OL]. 食品科学, 2017, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20171227.1327.044.html>. (Qi B K, Zhao C B, Jiang L Z, et al. Research on zeta potential, particle size and infrared spectroscopy of 11S glycinin at different heat treatment temperature[J/OL]. *Food Science*, 2017, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20171227.1327.044.html>.)

bacteria antagonistic toward *Rosellinia necatrix* by enrichment of competitive avocado root tip colonizers[J]. *Research in Microbiology*, 2007, 158(5):463-470.

[37] González-Sánchez M á, de Vicente A, Pérez-García A, et al. Evaluation of the effectiveness of biocontrol bacteria against avocado white root rot occurring under commercial greenhouse plant production conditions[J]. *Biological Control*, 2013, 67(2): 94-100.

[38] Nicolás P, Evelin C, Javier A, et al. Characterization of rhizosphere bacteria for control of phytopathogenic fungi of tomato[J]. *Journal of Environmental Management*, 2012, 95:7691-7696.

[39] Ahmed Idris H, Labuschagne N, Korsten N. Suppression of *Pythium ultimum* root rot of sorghum by rhizobacterial isolates from Ethiopia and South Africa[J]. *Biological Control*, 2008, 45(1): 72-84.

[40] Guo J H, Qi H Y, Guo H Y, et al. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria [J]. *Biological Control*, 2004, 29(1):66-72.

[41] Henok K, Kerstin W. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their potential as bioprotectant against tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* [J]. *Biological Control*, 2013, 67(1):75-83.

[42] Veerubommu S, Nandina K. Biological management of vascular wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by plant growth-promoting rhizobacterial mixture[J]. *Biological Control*, 2011, 57(2):85-93.

[43] 许艳丽, 刘海龙, 李春杰, 等. 拮抗大豆根腐病细菌的生物学鉴定[J]. *华北农学报*, 2012, 27(2): 234-238. (Xu Y L, Liu H L, Li C J, et al. Identification of biocontrol bacteria against soybean root rot with biolog automatic microbiology analysis system [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2012, 27(2): 234-238.)

[44] 韦中. 生物有机肥防控土传番茄青枯病的效果及其机制研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012:57-65. (Wei Z. Effects and mechanisms of bio-organic fertilizers on suppression of bacterial wilt of tomato [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.)

[45] 王士强. 四种生物制剂对大豆根腐病防效及抗病生理基础研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2008:36-39. (Wang S Q. A research on the control effect and physiological base of biological reagents against soybean root rot [D]. Daqing: Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2008.)

[46] 胡云云, 高同国, 张冬冬, 等. 大豆根腐病拮抗菌枯草芽孢杆菌8-32抗菌物质性质的初步研究[J]. *湖北农业科学*, 2016, 55(4): 917-920. (Hu Y Y, Gao T G, Zhang D D, et al. A Preliminary study on physicochemical properties of antibacterial substances from *Bacillus subtilis* 8-32 against soybean root rot [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2016, 55(4):917-920.)

(上接第147页)

[44] 齐宝坤,赵城彬,李杨,等. 热处理对大豆11S球蛋白溶解性和二级结构的影响[J/OL]. *食品科学*, 2017, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20171227.1320.036.html>. (Qi B K, Zhao C B, Li Y, et al. Effect of heat treatment on solubility and secondary structure of 11S glycinin [J/OL]. *Food Science*, 2017, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20171227.1320.036.html>.)

[45] 齐宝坤,赵城彬,江连洲,等. 热处理对大豆11S球蛋白表面疏水性的影响及拉曼光谱分析[J/OL]. *食品科学*, 2018, 39(18):15-20. (Qi B K, Zhao C B, Jiang L Z, et al. Effect of heat treatment on surface hydrophobicity of 11S glycinin and raman spectroscopy analysis [J/OL]. *Food Science*, 2018, 39(18): 15-20.)

[46] Mills E N, Huang L, Noel T R, et al. Formation of thermally induced aggregates of the soya globulin beta-conglycinin[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2001, 1547(2):339-350.

[47] 刘春雷,魏冬旭,贾烨,等. 大豆7S球蛋白热力学特性、溶解性和溶液性质与表面疏水性相关性研究[J]. *中国油脂*, 2018, 43(3):39-43, 49. (Liu C L, Wei D X, Jia Y, et al. Relevance between thermodynamic characteristics, solubility, solution properties and surface hydrophobicity of soybean β -conglycinin (7S) [J]. *China Oils and Fats*, 2018, 43(3):39-43, 49.)

[48] Setsuko I, Kazuo S. Salt-induced reconstitution of beta-conglycinin from its thermal dissociates[J]. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 1982, 46(6):1481-1488.

[49] 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 & Food Chemistry*, 2002, 50(21):6064-6071.

[50] Nagano T, Akasaka T, Nishinari K. Study on the heat-induced conformational changes of β -conglycinin by FTIR and CD analysis [J]. *Food Hydrocolloids*, 1995, 9(2):83-89.

[51] Xiao J, Shi C, Zhang L, et al. Multilevel structural responses of β -conglycinin and glycinin under acidic or alkaline heat treatment [J]. *Food Research International*, 2016, 89:540-548.

[52] Jiang J, Chen J, Xiong Y L. Structural and emulsifying properties of soy protein isolate subjected to acid and alkaline pH-shifting processes[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2009, 57(16):7576-7583.

[53] Tang C H, Wang C S. Formation and characterization of amyloid-like fibrils from soy β -conglycinin and glycinin[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2010, 58(20):11058-11066.

[54] Shao Y Y, Lin K H, Kao Y J. Modification of foaming properties of commercial soy protein isolates and concentrates by heat treatments[J]. *Journal of Food Quality*, 2016, 39(6):695-706.

[55] Zhu D, Damodaran S. Removal of off-flavour-causing precursors in soy protein by concurrent treatment with phospholipase A2, and cyclodextrins[J]. *Food Chemistry*, 2018, 264:319-325.

[56] Gao Z M, Wang J M, Wu N N, et al. Formation of complex interface and stability of oil-in-water (o/w) emulsion prepared by soy lipophilic protein nanoparticles[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2013, 61(32):7838-7847.

[57] Asanoma M, Kohno M. Soybean protein material for patients with renal disease and foods made from the same; US, EP 2255674 A1 [P]. 2010-12-01.