



亚基改性及对大豆蛋白空间结构与功能特性影响研究进展

肖怀秋, 李玉珍

(湖南化工职业技术学院 制药与生物工程学院, 湖南 株洲 412004)

摘要:大豆蛋白因其含量高和良好的加工可塑性,作为食品基料或辅料广泛应用于食品领域。11S 和 7S 亚基是大豆蛋白重要的球状亚基,对加工特性有重要影响。目前,从亚基水平深度解析其结构变化对大豆蛋白加工特性的影响机制及亚基结构-蛋白质功能关系还存在不足,明晰大豆蛋白亚基缔合与解离机制对开发新的大豆蛋白加工特性和定向解析大豆蛋白加工性能具有重要的理论指导意义。本研究首先解析大豆蛋白亚基组成与结构,并对亚基改性方法进行综述,进一步对影响大豆蛋白亚基解离的因素、亚基解离对大豆蛋白空间结构与加工特性的影响进行系统分析,并对大豆蛋白质今后的研究方向进行展望,旨在为亚基水平解析大豆蛋白加工特性的理论与应用研究提供参考,进而推动大豆蛋白精深加工发展。

关键词:大豆蛋白;亚基改性;空间结构;功能;食品加工特性

Study Advance in the Effect of Subunits Modification on Soybean Protein Spatial Structure and Functionalities

XIAO Huai-qiu, LI Yu-zhen

(School of Pharmaceutical and Bioengineering, Hunan Chemical Vocational Technology College, Zhuzhou 412004, China)

Abstract: Because of its high protein content and good processing plasticity, soybean protein is widely used in the food field as a processing base or auxiliary material. 11S and 7S subunits are important globulin proteins and have important influences on processing characteristics. Currently, it is deficient to deeply analyze the influential mechanism of subunits' structural changes on the processing properties and the relationship between the changes of subunits structure and the processing characteristics at the subunit level. It is of great theoretical significance to clarify the association and dissociation mechanism of soybean protein subunits for the development of new processing characteristics of soybean protein and the processing performance of directional analysis of soybean protein. In present study, the composition and structure of soybean protein subunits were analyzed, and the modification methods were reviewed. At the same time, the factors influencing the subunits dissociation, and the influence of the subunit's dissociation on the spatial structure and processing characteristics of soybean protein were analyzed systematically. The research direction of the theory and application of soybean protein processing were prospected, aiming to analyze the processing characteristics of soybean protein at the subunits level, in turn to provide theoretical basis and promote the deep processing of soybean protein.

Keywords: Soybean protein; Subunit modification; Spatial structure; Functionalities; Food processing properties

大豆[*Glycine max* (Linn.) Merr.]种子蛋白质含量高达40%,是蛋白质含量最高的油料植物^[1]。大豆蛋白质具有良好乳化、起泡、溶解与凝胶等食品加工特性,加工制品消化吸收率可达90%以上,特别是其11S球蛋白氨基酸配比合理,必需氨基酸组分与配比与FAO/WHO推荐标准基本相同,是重要的食品基料或辅料,在肉制品、乳制品及婴幼儿配方食品中广泛使用^[2]。大豆蛋白主要由11S球蛋白和7S伴球蛋白组成,是主要的储藏蛋白^[3]。对蛋白质亚基进行改性或使部分基团暴露能改变或增强大豆蛋白特定加工特性,由于大豆球蛋白(11S)为紧致球状结构,活性基团包埋在分子内部,食品加工特性未能充分展现,相比 β -伴球蛋白

(7S),11S亚基功能性较差,是影响大豆蛋白加工特性与改性的关键亚基^[4]。一般改性手段难以对11S进行改性进而使其结构伸展并展现良好加工特性,因此,如何改性球蛋白亚基结构、提升大豆蛋白加工特性成为大豆蛋白加工的关键科学问题。目前,关于大豆蛋白7S和11S组分已开展大量研究,但基于亚基层面开展大豆蛋白加工特性研究却较为鲜见,亚基改性是明晰大豆蛋白构-效关系的关键,可以很好地解析大豆蛋白的加工性质^[4-5]。本研究从大豆蛋白的亚基组成与结构、亚基改性方法、影响大豆蛋白亚基解离的因素、亚基解离对大豆蛋白空间结构与加工特性的影响等方面进行综述,并对大豆蛋白研究方向进行展望,旨在为从亚基水平解

收稿日期:2020-05-20

基金项目:湖南省自然科学基金科教联合基金(2018JJ5022)。

第一作者简介:肖怀秋(1981-),男,硕士,副教授,主要从事生物活性多肽研究。E-mail: xiaohuaiqiu@163.com。

通讯作者:李玉珍(1981-),女,硕士,副教授,主要从事植物蛋白酶法改性及生物学功能研究。E-mail: yuzhenli@163.com。

析大豆蛋白加工特性的理论与应用研究提供参考,并以此推动大豆蛋白质基于亚基结构改性和提升其加工特性的理论与应用研究。

1 大豆蛋白质的亚基组成与结构

根据沉降速度差异可将大豆蛋白分为 2S、7S、11S 和 15S 等 4 种亚基组分,15S 亚基实质为大豆球蛋白(11S)聚合体或 7S-11S 共聚体,低离子强度时可转化为 11S。大豆蛋白约 80% 为可溶性球蛋白,分别为大豆球蛋白(11S 球蛋白,11S glycinin)和 β -伴球蛋白(7S 球蛋白, β -conglycinin);7S 组分中还存在极少量 γ -伴球蛋白(γ -conglycinin)和碱性 7S 球蛋白;2S 亚基仅占 20% 左右,主要含胰蛋白酶抑制剂、Cyt C 和 α -conglycinin 等,7S 与 11S 比例通常为 0.5 ~ 1.3^[6]。 β -伴球蛋白(7S)为多亚基糖蛋白,分子量约为 180 ~ 210 kDa,各亚基间通过疏水作用相连形成同(异)源三聚体空间结构,由 α 亚基(83 kDa)、 α' 亚基(76 kDa)和 β 亚基(53 kDa)组成,可形成六类聚集体,即 $\alpha'\beta_2$ 、 $\alpha\beta_2$ 、 $\alpha\alpha'\beta$ 、 $\alpha_2\beta$ 、 $\alpha_2\alpha'$ 和 α_3 ^[7];球蛋白(11S)为不均匀性蛋白质,分子量约为 340 ~ 380 kDa,由酸性亚基 A(35 kDa)和碱性亚基 B(20 kDa)组成,酸性亚基有 A₁、A₂、A₃、A₄、A₅ 和 A₆ 等 6 种,碱性亚基也有 B₁、B₂、B₃、B₄、B₅ 和 B₆ 等 6 种,通过 -S-S- 相连形成稳定的 AB 亚基复合体,通过非共价键连接形成疏水性的大豆球蛋白六聚体空间结构^[8]。

2 大豆蛋白质亚基改性的方法

2.1 化学改性

2.1.1 酰化改性 大豆蛋白酰基化改性可作用于亚基并对功能特性产生影响,赖氨酸氨基、酪氨酸酚羟基、苏氨酸、丝氨酸羟基和半胱氨酸巯基等均可参加酰化反应,常用酰化剂有乙酰酐、琥珀酸酐和丁二酸酐等。大豆蛋白琥珀酰化修饰后可舒展亚基结构并促进分子伸展和亲水基团暴露,增加净电荷,减弱分子聚集程度,从而能够明显提高溶解性和分子柔性^[9]。

2.1.2 磷酸化改性 磷酸化也是大豆蛋白常用改性策略,常用磷酸化试剂有 POCl₃ 和三聚磷酸钠。大豆蛋白磷酸化改性后,在酸性至中性范围内可维持稳定的凝胶强度,溶解性和乳化性也能得到提升^[10]。卢寅泉等^[11]用三聚磷酸钠对大豆蛋白进行改性并发现改性后大豆蛋白 pH 向酸性偏移,最多可达 0.6 个 pH 单位,在弱酸性至碱性范围内,水溶性、乳化性、起泡性、持水能力以及流变性均不同程度提升。

2.1.3 硫醇化改性 硫醇化改性也能增强大豆蛋白加工性能,硫醇化改性可增强溶解性、凝胶性、起泡及乳化性,并增强蛋白质分子的柔性和表面性能。用亚硫酸钠还原大豆分离蛋白可减少二硫键含量并降低凝胶强度,用亚硫酸钠-尿素混合改性还原大豆蛋白可获得最佳乳化性能、良好溶解性与表面性能^[12]。

2.1.4 糖基化修饰 通过 Maillard 反应对大豆蛋白进行糖基化修饰可使蛋白质分子展开,降低其 β -转角和无规则卷曲结构含量并影响大豆蛋白的抗原表面结构。卜冠浩等^[13]以大豆分离蛋白和葡聚糖为原料基于 Maillard 反应制备不同时间下的糖基化复合物,研究发现,糖链引入可影响 β -伴大豆球蛋白 α 亚基的抗原表面,降低大豆蛋白抗原并影响蛋白质生物学功能。

2.1.5 其它化学改性法 酸碱改性能改变大豆蛋白溶解性、乳化和起泡性及其稳定性。如酸改性能使 11S 亚基高度变性与解离、表面疏水性增加并保持较好凝胶性能,但对 7S 影响极小,单纯酸处理对其蛋白性质(如溶解度)影响很小^[14]。

大豆蛋白适度氧化可使 α -螺旋逐步降低并伴随 β -折叠增加,能显著增加暴露的疏水区。如 H₂O₂ 浓度增加到 1 mmol · L⁻¹ 时乳化活性显著增强,随后下降,主要是由于表面疏水基团暴露和大分子可溶性聚集体形成及乳化液滴间的静电斥力增强所致^[15]。

2.2 物理改性

2.2.1 热改性处理 常压热处理和水热处理等热处理方式对大豆蛋白亚基产生影响并影响大豆蛋白凝胶性,7S α 、 α' 和 β 亚基都能抑制蛋白热聚沉, α 和 α' 亚基抑制聚沉效果显著优于 β 亚基^[16]。Ringgenber^[17]发现,豆乳热处理后粒径由 40 ~ 120 nm 变为 40 ~ 100 nm,11S 与 7S 亚基间相互作用使大粒径组分发生解离。

2.2.2 超高静压处理与高(低)压均质处理 超高静压可使大豆蛋白发生聚集和凝胶化,并改善加工特性与界面特性^[18]。在 pH8.0 条件下,用超高静压处理大豆分离蛋白可使其表面疏水性增强,自由巯基下降,7S 和 11S 展开,二级结构不规则卷曲有所增加^[19]。大豆蛋白超高静压处理后亚基会发生解离,主要影响三级和四级结构,对二级结构没有明显效果^[20-21]。Floury 等^[22]发现,高压均质处理后大豆蛋白乳化及稳定性分别提高 114% 和 125%,压力 < 160 MPa 时油-水界面蛋白质含量显著增加并能产生较多低分子亚基;低压均质(0 ~ 40 MPa)处理大豆分离蛋白可影响凝胶特性与蛋白质结构。吕

博等^[23]认为,低压均质处理条件下,随着均质压力增大,大豆蛋白内部疏水基团暴露且分子逐渐伸展,在均质压力为 20 MPa 时能有效提高凝胶弹性且凝胶结构规律并致密有序,处理压力进一步增大时产生不溶性聚集体并破坏了凝胶网状结构。

2.2.3 超声波处理 超声处理 SPI 和 SPC,由于 7S 和 11S 的展开和重聚集,特别是 11S 可形成更多无规则卷曲分散到油-水界面,从而能较好的提高乳化活性及乳化稳定性^[24]。谷氨酰胺转氨酶(TG)辅助超声处理大豆分离蛋白能打开内部肽链并形成更多随机二级结构。Ding 等^[25]研究了 TG 联合超声处理对大豆分离蛋白理化性质、构象及功能特性的影响,研究发现大豆分离蛋白溶解性由 41.80% 提升至 54.42%,乳化指数由 45.82 m²·g⁻¹ 提升至 64.10 m²·g⁻¹,起泡性由 31.81% 提升至 44.23%,且巯基和表面疏水性也得到增强。

2.2.4 电化学改性 对大豆分离蛋白进行电化学生物改性能改变其乳化及乳化稳定性,如 Yu 等^[26]用电化学法对大豆分离蛋白进行改性并制备一种新型乳化剂来增强油水乳液稳定性,研究发现改性 120 min 后,暴露巯基含量由 12.62 × 10⁻⁵ mol·g⁻¹ 增加至 14.35 × 10⁻⁵ mol·g⁻¹,电化学改性后,α-螺旋结构减少,三级结构也发生了改变,持水力和持油力显著增强。

2.3 酶法改性

对大豆蛋白进行限制性酶法改性能显著增强其溶解性,胃蛋白酶能选择性水解紧密球状结构的 11S 球蛋白,对 7S 几乎没有效果,可改善大豆蛋白加工特性^[27];碱性蛋白酶酶解大豆蛋白各亚基水解顺序为 α'亚基、α亚基 > β亚基 > 酸性亚基 A > 碱性亚基 B^[28];杨国龙等^[29]研究发现,在加入等量菠萝蛋白酶情况下,α'亚基水解速度大于 α亚基,β亚基被水解速度比 α'亚基或 α亚基慢,酸性亚基可被缓慢水解,而碱性亚基基本没有被水解。

2.4 复合改性

碱性蛋白酶酶解-高压均质处理能有效形成线性聚集体并大幅提高乳化和凝胶性^[30];超声预处理-木瓜蛋白酶复合改性或螺杆挤压前处理-木瓜蛋白酶酶法改性能有效改善溶解性和乳化性^[31-32];糖基化接枝-酶解复合改性能增强大豆分离蛋白乳化和起泡性,但深度酶解可破坏蛋白空间结构并降低粘度^[33];超声联合植酸酶-酸性蛋白酶改性的大豆分离蛋白乳化性和稳定性可显著提高 196% 和 25.9%,挤压与菠萝蛋白酶复合改性的 SPI 的乳化性和稳定性分别增加 155% 和 25.9%^[34]。

3 影响大豆蛋白亚基解离的因素分析

3.1 pH 与离子强度

酸性条件亚基解离主要是由静电斥力引起且 11S 解离程度远大于 7S,在 pH2.0 和 3.0 时发生解离,pH3.0 解离程度最大^[35];Wolf 等发现 pH2.2 ~ 3.8 范围内大豆球蛋白主要以 7S 和 3S 形式存在,离子强度对大豆蛋白亚基解离有重要影响;源博恩^[36]发现,酸性条件下(pH2.0 ~ 3.0)处理 SPI,11S 亚基解离要大于 7S 亚基,而在 pH1.0 和 pH7.0 条件下,SPI 发生聚集形成紧致结构,发生解离时无规则卷曲含量增加。pH2.0 和 pH3.0 条件下,大豆蛋白二级结构无规则卷曲大于 pH1.0 和 pH7.0 条件,表明 SPI 解离与无规则卷曲成正比,解离时,β-折叠向 α-螺旋和无规则卷曲转化且转化程度与解离程度成正相关;Shao 等^[37]将酸处理后的大豆蛋白进行电泳分析,发现 7S 和 11S 在酸处理时均不同程度发生解离,而碱处理对亚基没有显著性解离作用。

3.2 热处理

在还原条件下温度超过 85 °C 后,11S 解离后 A、B 亚基浓度逐渐增大,热处理形成的可溶性聚合物分子量为 100 ~ 200 kDa,且 7S 的 α'与 α 比例没有变化,表明 7S-β-11S-B 通过疏水作用聚集后形成稳定聚集体并抑制聚集^[38]。热处理时随着温度的上升,α-螺旋先减少后增大,β-折叠缓慢减少,而无规则卷曲则随温度升高而升高^[39]。Jiang 等^[40]发现,pH1.5 和 pH12.5 热处理后,7S 溶解性保持在 80% ~ 90%,表面疏水性无显著变化,11S 表面疏水性 2 h 内增加了 3 倍,说明 pH 偏移对 11S 影响比 7S 大。

3.3 酶处理与仿生模拟消化处理

赵巧丽等^[41]用电泳分析豆腐蛋白分子亚基组成时发现,保持自然 pH6.5 ~ 6.8、酶浓度 3 500 U·mL⁻¹、53 °C 和水解 15 min 时,7S 的 α'、α 亚基被完全水解,11S 酸性多肽链基本消失,而碱性多肽链含量明显减少并产生大量 < 14 kDa 组分,7S 残留率为 56.6%;江连洲等^[42]用胃蛋白酶对 SPI 进行体外模拟消化,分析了消化产物亚基结构,发现不同组分受胃蛋白酶消化或降解存在明显差异,与其空间结构紧密相关。

3.4 7S 对 11S 聚集的抑制作用

大豆蛋白解离与 7S、11S 以及 11S-7S 共聚体解离并不完全相同,因为 7S 与 11S 能相互影响,7S 与 α、α'和 β 亚基也可与 A 亚基形成可溶性聚合物。热处理时,11S 可与 β 亚基形成可溶性聚合物,7S 对 11S 聚集有抑制作用,因为 7S 与 11S 相互作用抑制

碱性亚基释放,7S 或其亚基与 B 亚基形成增溶复合物^[43]。

4 亚基解离对大豆蛋白空间结构的影响

4.1 对二级结构的影响

亚基解离后球蛋白无规则卷曲增加,相同 pH 条件下,离子强度增加,无规则卷曲下降;pH3.8 比 pH7.6 条件下的球蛋白含更多不规则卷曲结构^[44]。齐宝坤等^[45]发现,随温度增加 11S 可发生聚集,溶解度降低, α -螺旋往 β -折叠与无规则卷曲方向转化,80℃时 α -螺旋转变为 β -转角和无规则卷曲,90℃和 100℃时 α -螺旋和 β -折叠转变为 β -转角和无规则卷曲;Tang 等^[46]发现,热处理过程中 7S 球蛋白形成 β -结构,7S 彼此缔合,酸热处理和碱处理也对 7S 二级结构有显著影响;袁德保^[16]用热处理和水热处理诱导形成可溶性聚集体,研究二级结构变化后发现,水热处理样品 β 折叠和无规卷曲高于热处理样品,但 α 螺旋和 β 转角都低于热处理样品,两者无规卷曲均大于对照,热处理和水热处理能使无规卷曲呈现增加趋势,水热处理结果要远大于热处理,水热处理时 α 螺旋和 β 转角下降。

4.2 对三级结构的影响

用酸热和碱处理 11S 球蛋白时,Trp 和 Tyr 侧链基团均发生不同程度暴露,特别是酸处理样品 11S 球蛋白三级结构发生显著变化。碱处理后 11S 吸收峰强度增加,可能是由于 11S 多聚体的形成导致散射程度增大,酸处理后 β -折叠比碱处理时要多。当离子强度为 0.5 时,pH7.6 降至 3.8 时,最大吸收峰波长往高波长移动约 2 nm,说明 Trp 内环境变为非极性,暴露增加,而当离子强度由 0.2 降至 0.03 时,最大吸收峰波长红移约 1 nm。在相同 pH 时,离子强度下降对最大吸收峰移动影响不明显^[47]。pH7.6 时,离子强度为 0.5 和 0.03 时吸收强度相差 20%,pH3.8 条件下下降趋势减缓。不同离子强度下,pH7.6 降至 3.8 时,吸收强度最大下降 45%,说明 pH 较低时,色氨酸比酪氨酸更趋稳定,亚基解离时,三级结构也会伸展变得松散^[48]。袁德保^[16]研究大豆蛋白热处理/水热处理诱导的可溶性聚集体三级构象改变情况时发现水热或热处理后,所有芳香簇氨基酸对应区域椭圆率都大幅度降低,说明形成了去折叠化程度高的三级结构或芳香簇氨基酸残基暴露程度升高。Xiao 等^[47]发现,7S 球蛋白在酸(pH2.5)和碱(pH8.5)处理时,其三级结构特征性吸收峰偏移均较小,表明 pH 变化过程中,色氨酸和酪氨酸的微环境基本不变。

4.3 对四级结构的影响

亚基解离可引起大豆蛋白四级结构发生改变^[49]。pH7.6、离子强度为 0.5 和 0.2 时,存在 15S 和 11S 球蛋白,离子强度为 0.03 时,存在 11S 和 7S 球蛋白,7S 蛋白占 15%~25%,由此可说明,相同 pH 时,在高离子强度环境中蛋白质主要以聚集形式存在,低离子强度环境中则发生亚基解离。研究还发现,在 pH3.8 时,7S 球蛋白占近 50%,当离子强度下降至 0.2 或 0.3 时,几乎全部以 7S 球蛋白形式存在^[49]。

5 亚基解离对大豆蛋白功能的影响

5.1 蛋白质的溶解性

α 螺旋含量、 α 螺旋与 β 折叠比值、无规则卷曲含量与溶解度呈正相关($P < 0.01$), β -折叠含量与蛋白质溶解度呈负相关($P < 0.01$)^[50]。热处理时可使 11S 球蛋白形成可溶性寡聚体和二聚体等多聚体,进一步加热还可形成 3~4S 可溶性聚集物,不同 pH 和离子强度下,11S 可解离形成 7S、3S 或 15S (11S 二聚体)及多聚体,对蛋白溶解性产生不同程度影响^[51]。Wu 等^[52]发现,在 pH12,100℃加热 10 min,SPI 溶解性由 47% 上升至 99.5%,7S、 α 和 α' 亚基能抑制 B 亚基热聚集且优于 β 亚基,进而增强 11S 溶解度;80℃处理后未检测到 11S,上清液检测到 2S 和 4S 组,可能是由于 7S 和 11S 产生静电作用使 B 亚基解离。11S 与 7S 共聚物分子量随 7S 含量增加而降低,7S 能抑制不溶性聚集体增长^[53]。Lakemond 等^[54]发现,pH7.6、离子强度为 0.5 时,11S 溶解度为 100%,pH6.5 降至 2.5 时,溶解度下降 70%,pH < 3.8 时,2 种蛋白几乎全部溶解。孟岩^[55]研究了用含不同 β 亚基大豆调制而成的豆乳的溶解性,发现用缺失 β 亚基的大豆调制成的豆乳蛋白质粒子相对含量显著高于未缺失对照。随着 β 亚基增加,豆乳中蛋白质粒子含量能显著降低,说明大豆蛋白 β 亚基不利于蛋白溶解,此结论对大豆育种具有很好的理论指导意义。

5.2 蛋白质的表面性质

在 95℃加热 30 min 可使大豆蛋白乳液油滴平均粒径变小且油滴絮凝趋势更低,乳化能力增强^[56]。酸性条件下(pH3.0)处理大豆球蛋白比中性条件下更能增强其油-水和气-水界面吸附性,并形成稳定气泡或乳浊液^[57]。 β 亚基能增强乳化稳定性^[58],而大豆蛋白 α 亚基含量越高,则水溶性和乳化性越好^[31]。大豆蛋白粒径对乳化与乳化稳定性也有影响,如 Shen 等^[59]发现,与天然 SPI 相比,纳米粒子大豆蛋白具有很好的乳化及乳化稳定性。

5.3 蛋白质的凝胶性

α 、 α' 和 β 亚基均能抑制凝胶形成,以 β 亚基抑制能力最强^[58]。孟岩^[55]发现, β 亚基缺失大豆蛋白制备的凝胶硬度和咀嚼性最低, β 亚基不存在或低含量时,对凝胶硬度和咀嚼性产生负面影响。 β 亚基含量与凝胶性不相关,与 α 亚基含量成反比^[60]。11S和7S球蛋白可影响豆腐凝胶形成,特别是11S球蛋白,同时缺失7S α' 和11S A₄亚基时豆腐凝胶性更好, α' 亚基缺失型大豆蛋白凝胶强度更好^[61]。热处理对凝胶形成机制影响较为复杂,Renkema等^[62]发现,pH<6.0时7S热变性能形成凝胶,pH>6.0时11S热变性也能形成凝胶,加热至95℃并冷却,凝胶硬度能得到增强且具有热可逆性,不涉及共价键形成与结构重排。

5.4 蛋白质的体外消化特性

大豆蛋白适度热处理有利于消化,而过度热处理则会引起蛋白聚集,不利于体外消化,如王中江等^[63]解析了大豆蛋白消化产物主侧链结构变化并认为,相同温度下,随着热处理时间延长, α -螺旋结构含量先升高后降低, β -折叠结构含量先降低后升高,而长时间热处理会导致 β -折叠结构增加。

6 结论与展望

大豆蛋白亚基种类、配比及含量对乳化、溶解和凝胶等有重要影响,研究亚基解离的大豆蛋白结构与功能的影响具有重要理论与实践意义。大豆亚基改性方法有物理改性、化学改性和生物酶法改性等,但目前改性策略无法针对特定亚基进行定向修饰。明确大豆蛋白亚基缔合与解离是实现大豆蛋白定向改性的理论关键,但目前我国在亚基水平深度理解亚基变化与改性对大豆蛋白加工特性的影响机制及大豆蛋白结构变化方面的还存在不足^[51]。基于亚基水平研究大豆蛋白加工特性已成为研究重点方向,明晰亚基在蛋白加工中的特性及影响机制对开发大豆蛋白新的加工特性具有重要意义,了解大豆蛋白亚基缔合与解离机制对定向解析大豆蛋白加工特性 also 具有重要意义,更有助于食品加工过程和食品加工体系聚集行为的精准调控^[50]。

可从以下几个方面开展后续大豆蛋白研究:(1)由于单一改性方法存在诸多局限性,可进行两种或两种以上方法的复合改性,特别是基于亚基水平开展多种改性方法的优化组合将是后续研究重要方向;(2)加强大豆亚基改性与加工特性关系的理论与应用研究;(3)大豆蛋白功能特性除与本身亚基有关外,还与大豆栽培环境及储存环境等有关,加强栽培环境与大豆储运环境对大豆亚基组成

及功能特性研究也是重要研究方向,可在分子水平研究功能特性影响机理并结合分子遗传学培养特殊亚基品种;(4)开展大豆蛋白与其它生物大分子或小分子互作的基础理论研究,从而间接改善大豆加工特性。

参考文献

[1] 李玉珍,肖怀秋,杨涛,等. 响应面优化低值豆粕液态制备多肽工艺[J]. 大豆科学,2012,31(4): 649-654. (Li Y Z, Xiao H Q, Yang T, et al. Response surface methodology for optimization of soybean peptide production technology from low-valued soybean meal[J]. Soybean Science, 2012,31(4): 649-654.)

[2] 祝祥威,黄行健,赵琪,等. 亚基水平上大豆蛋白改性修饰的研究进展[J]. 食品科学,2012,33(13): 388-392. (Zhu X W, Huang X J, Zhao Q, et al. Research progress of soybean protein modification at subunit level[J]. Food Science, 2012, 33(13): 388-392.)

[3] 赵现伟,赵朝森,王瑞珍,等. 江西省大豆种质资源7S和11S球蛋白及其亚基相对含量分析[J]. 大豆科学, 2019,38(4): 503-510. (Zhao X W, Zhao C S, Wang R S, et al. Analysis of 7S and 11S globulin and their subunits relative content of soybean germplasm in Jiangxi Province[J]. Soybean Science, 2019, 38(4): 503-510.)

[4] Visakh P M. Soy protein: Introduction, structure and properties relationship [M]//Visakh P M. Soy protein-based blends, composites and nanocomposites. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc., 2017.

[5] Zhu Y, Fu S Y, Wu C L, et al. The investigation of protein flexibility of various soybean cultivars in relation to physicochemical and conformational properties [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 103: 105709.

[6] Nishinari K, Fang Y, Guo S, et al. Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification[J]. Food Hydrocolloids, 2014,39(2): 301-318.

[7] Utsumi S, Damodaran S, Kinsella J E. Heat-induced interactions between soybean proteins: Preferential association of 11S basic subunits and beta subunits of 7S[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 1984, 32(6): 1406-1412.

[8] Staswick P E, Hermodson M A, Nielsen N C. Identification of the acidic and basic subunit complexes of glycine[J]. Journal of Biological Chemistry,1981,256(16): 8752.

[9] Gruener L, Ismond M A H. Effects of acetylation and succinylation on the functional properties of the canola 12S globulin[J]. Food Chemistry,1997,60(4): 513-520.

[10] Hirotaka M, Tanicuchi H, Narita H, et al. Phosphorylation of soybean protein[J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 1985,32(9): 622-625.

[11] 卢寅泉,陈彤华,陈连就. 磷酸化大豆蛋白功能特性的研究[J]. 食品与发酵工业,1993(1): 17-24. (Lu Y Q, Chen T H, Chen L J. Functional properties of phosphorylated soybean protien [J]. Food and Fermentation Industry, 1993(1): 17-24.)

[12] 王飞镒,崔英德,周智鹏. 天然大豆蛋白的功能性及其化学改性策略[J]. 功能材料,2004,35(Z1): 2328-2331. (Wang F D, Cui Y D, Zhou Z P. Functionality of natural soy protein and

- chemical modification strategies for soy protien [J]. *Journal of Functional Materials*, 2004, 35(Z1): 2328-2331.)
- [13] 卜冠浩,朱廷伟,陈福生.糖基化修饰对大豆蛋白抗原性和结构特性的影响[J]. *中国粮油学报*,2017,32(1): 34-39. (Pu G H, Zhu T W, Chen F S. Effects of glycation modification on soybean protein antigenicity and structural properties[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2017, 32(1): 34-39.)
- [14] Puppo M C, Lupano C E, Anon M C. Gelation of soybean protein isolates in acidic conditions. Effect of pH and protein concentration [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1995,43(9): 2356-2361.
- [15] Liu Q, Lu Y, Han J C, et al. Structure-modification by moderate oxidation in hydroxyl radical-generating systems promote the emulsifying properties of soy protein isolate[J]. *Food Structure*, 2015, 6: 21-28.
- [16] 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 proteins and its mechanism [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010.)
- [17] Ringgenber 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.
- [18] Chen S, Wang X D, Xu Y Y, et al. Effect of high pressure treatment on interfacial properties, structure and oxidative stability of soy potein isolate-stabilized emulsions [J]. *Journal of Oleo Science*, 2019, 68(5): 409-418.
- [19] Puppo C, Chapleau N, Speroni F, et al. Physicochemical modifications of high-pressure-treated soybean protein isolates[J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2004, 52(6): 1564-1571.
- [20] Zang H, Li L, Tatsumi E. High-pressure treatment effects on proteins in soy milk [J]. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 2005, 38(1): 7-14.
- [21] Li Y, Liu B, Fan J, et al. Effects of ultrasound and high pressure homogenization treatment on the interaction of soybean protein-phosphatidylcholine [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science Technology*, 2018, 18(8): 162-171.
- [22] Floury J, Desrumaux A, Axelos M A V, et al. Effect of high pressure homogenisation on methylcellulose as food emulsifier[J]. *Journal of Food Engineering*, 2013, 58(3): 227-238.
- [23] 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): 175-179. (Lyu B, Li M D, Zhang Y F. Effect of low pressure homogenization on gel properties of soy protein isolate[J]. *Food Industry*, 2019, 40(2): 175-179.)
- [24] Jambrak A R, Lelas V, Mason T, et al. Physical properties of ultrasound treated soy proteins[J]. *Journal of Food Engineering*, 2019,93(4): 386-393.
- [25] Ding X Y, Zeng N, Zhang G W, et al. Influence of transglutaminase-assisted ultrasound treatment on the structure and functional properties of soy protein isolate [J]. *Journal of Food Processing Preservation*, 2019, 43(11): e14203.
- [26] Yu D Y, Zhao Y, Li T T, et al. Effect of electrochemical modification on the structural characteristics and emulsion storage stability of soy protein isolate [J]. *Process Biochemistry*, 2018, 75: 166-172.
- [27] Coscueta E R, Campos D A, Osorio H, et al. Enzymatic soy protein hydrolysis: A tool for biofunctional food ingredient production[J]. *Food Chemistry*, 2019(1): 1-7.
- [28] 张琳静,于国萍. 木瓜蛋白酶水解大豆浓缩蛋白及糖基化修饰对水解产物溶解性的影响[J]. *食品科学*,2011,32(16): 8-11. (Zhang L J, Yu G P. Effect of papain hydrolysis and glycosylation on solubility of soybean protein concentrate [J]. *Food Science*, 2011, 32(16): 8-11.)
- [29] 杨国龙. 酶解-膜分离制备改性大豆蛋白的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2005. (Yang G L. Study on preparation of modified soy protein by enzymatic hydrolysis-membrane seperation [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2005.)
- [30] Luo D H, Zhao Q Z, Zhao M N, et al. Effects of limited proteolysis and high-pressure homogenisation on structural and functional characteristics of glycinin [J]. *Food Chemistry*, 2010, 122(1): 25-30.
- [31] Chen L, Chen J S, Ren J Y, et al. Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates [J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2011, 59(6): 2600-2609.
- [32] Chen L, Chen J S, Ren J Y, et al. Modifications of soy protein isolates using combined extrusion pre-treatment and controlled enzymatic hydrolysis for improved emulsifying properties[J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(5): 887-897.
- [33] 张亚婷,张晓鸣. 复合改性改善大豆分离蛋白功能性质的研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2014, 33(10): 1031-1037. (Zhang Y Q, Zhgn X M. Study on improving functional properties of soybean protein isolate by combined modification[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2014, 33(10): 1031-1037.)
- [34] 李婷婷,赵彩红,吴海波,等. 适宜物理-酶联合改性提高酸性条件下大豆分离蛋白乳化性[J]. *农业工程学报*, 2016, 32(18): 291-298. (Li T T, Zhao C H, Wu H B, et al. Physical-enzymatic modification methods improving emulsifying properties of soybean protein isolate under acidic conditions[J]. *Transaction of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2016,32(18): 291-298.)
- [35] 赵谋明,源博恩,罗东辉,等. 酸性条件下大豆分离蛋白的亚基解离[J]. *华南理工大学学报(自然科学版)*, 2011,39(9): 22-27. (Zhou M M, Yuan B E, Luo D H, et al. Subunit dissociation of soybean protein isolates in acid conditions [J]. *Journal of South China University of Technology (Natural science edition)*, 2011,39(9): 22-27.)
- [36] 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 subunits dissociation and aggregation on structure and functional properties of soy protein [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012)
- [37] 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.
- [38] Petruccelli S, Anon M C. Thermal aggregation of soy protein isolates[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,1995,43(12): 3035-3041.
- [39] 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.
- [40] 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): 293-302.
- [41] 赵巧丽, 王丽, 廖振林, 等. 木瓜蛋白酶水解对豆乳中抗原蛋白含量和亚基构成的影响[J]. 食品工业科技, 2017(15): 117-121. (Zhao Q L, Wang L, Liao Z L, et al. Effect of papain hydrolysis on the components of antigen proteins and subunits composition in soybean milk[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017(15): 117-121.)
- [42] 江连洲, 王瑞, 李秋慧, 等. 体外模拟消化过程中大豆蛋白的亚基组成及分子质量分布[J]. 中国食品学报, 2015, 15(10): 65-72. (Jiang L Z, Wang R, Li Q H, et al. Subunit composition and molecular weight distribution of soybean protein *in vitro* simulated digestion process [J]. Journal of Chinese Institute of Food science and Technology, 2015, 15(10): 65-72.)
- [43] 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.
- [44] De H H J, De Kruiff B. The conformational changes of apocytochrome *c* upon binding to phospholipid vesicles influence of pH and ionic strength on soy glycinin solubility[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2000, 48(6): 1989-1997.
- [45] 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]. 食品科学, 2018, 39(22): 39-44. (Qi B K, Zhao C B, Li Y, et al. Effect of heat treatment on solubility and secondary structure of soybean 11S glycinin[J]. Food Science, 2018, 39(22): 39-44.)
- [46] 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.
- [47] Xiao J, Shi C, Zhang L, et al. Multilevel structural responses of beta-conglycinin and glycinin under acidic or alkaline heat treatment [J]. Food Research International, 2016, 89(1): 540-548.
- [48] Vuilleumier S, Sancho J, Loewenthal R, et al. Circular dichroism studies of barnase and its mutants: Characterization of the contribution of aromatic side chains[J]. Biochemistry, 1993, 32(39): 10303-10313.
- [49] Wolf W J, Nelsen T C. Partial purification and characterization of the 15S globulin of soybeans, a dimer of glycinin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44(3): 785-791.
- [50] 白明味, 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 (Nature Science Edition), 2016, 44(11): 31-38.)
- [51] 曾剑华, 刘琳琳, 杨杨, 等. 大豆蛋白热改性及其解离缔合反应研究进展[J]. 大豆科学, 2018, 37(6): 142-147. (Zeng J H, Liu L L, Yang Y, et al. Research progress on thermal modification and its dissociation association action of soy proteins [J]. Soybean Science, 2018, 37(6): 142-147.)
- [52] Wu W, Hettiarachchy N, Kalapathy U. Functional properties and nutritional quality of alkali-and heat-treated soy protein isolate [J]. Journal of Food Quality, 1999, 22(2): 119-133.
- [53] 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 behaviour and structure characterization of soy protein aggregates [D]. Guangzhou: South China university of technology, 2012.)
- [54] Lakemond C M M, De Jongh H H J, Hessing M, et al. Soy glycinin: Influence of pH and ionic strength on solubility and molecular structure at ambient temperatures [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(6): 1985-1990.
- [55] 孟岩. 亚基缺失特异大豆品种的筛选及 β 亚基对大豆加工特性的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2004. (Meng Y. Screening of soybean varieties lacking subunits and the effect of β -subunit on properties of soybean products[D]. Beijing: China Agricultural University, 2004.)
- [56] Li F, Kong X Z, Zhang C M, et al. Effect of heat treatment on the properties of soy protein-stabilised emulsions [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2011, 46(8): 1554-1560.
- [57] 周春霞. 大豆蛋白在空气-水和油-水界面上的流变学研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2006. (Zhou C X. Rheological studies of soy protein at the air-water and oil-water interfaces[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2006.)
- [58] 郭顺堂, 孟岩, 张雪梅, 等. 中国大豆蛋白亚基构成分析与缺失部分亚基的特异大豆品种的筛选[J]. 作物学报, 2006, 32(8): 1130-1134. (Guo S T, Meng Y, Zhang X M. Analysis of protein subunit composition of Chinese soybean [*Glycine max*(L.) Merrill] cultivars and screening of soybean cultivars lacking some subunits [J]. Acta Ronomica Sinica, 2006, 32(8): 1130-1134.)
- [59] Shen P H, Zhou F B, Zhang Y H, et al. Formation and characterization of soy protein nanoparticles by controlled partial enzymatic hydrolysis [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105: 105844.
- [60] 张新艳, 王曙明, 王谦玉, 等. 不同亚基变异类型的大豆分离蛋白凝胶质构特性的研究[J]. 大豆科学, 2011, 30(4): 657-662. (Zhang X Y, Wang S M, Wang Q Y, et al. Coacervation property of soymilk made by different soybean varieties [J]. Soybean Science, 2011, 30(4): 657-662.)
- [61] 王晶, 张春江, 张泓, 等. 大豆球蛋白亚基的组成对豆腐凝胶特性的影响[J]. 农产品加工, 2017(18): 53-54. (Wang J, Zhang C J, Zhang H, et al. The influence of globulin subunit composition of soybean proteins on Tofu gel properties[J]. Farm Products Processing, 2017(18): 53-54.)
- [62] Renkema J M S, Gruppen H, Van Vliet 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
- [63] 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.)