

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2016.02.033

不同杀菌处理方式对 SPI 冻藏过程中理化特性的影响

陈振家^{1,2} 施小迪¹ 杜昱蒙¹ 姚美伊¹ 郭顺堂¹

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 山西农业大学食品科学与工程学院, 太谷 030801)

摘要: 为了研究不同杀菌条件对 SPI 理化特性的影响及相应 SPI 溶液冷冻条件下的物化性质变化, 通过 65℃、90℃ 和 UHT 不同杀菌处理所得 SPI (分别记为 65SPI、90SPI 和 USPI) 制备相应蛋白溶液, 经 -18℃ 冻藏后, 对其理化特性进行分析研究。试验结果表明: 3 种杀菌处理均造成了 SPI 一定程度的变性, 与冻前未处理 SPI 相比, 90SPI 和 65SPI 溶液的可溶蛋白含量和表面巯基显著降低, 粘度、粒径大幅增加, USPI 则未有明显变化。此外, 90SPI 和 USPI 的疏水基团暴露程度较高, 非还原电泳显示其 AB 亚基发生解离; 不同杀菌处理 SPI 其溶液在冻藏期间内, 随冻藏时间延长, 蛋白溶解度、粘度、表面巯基和总巯基数量呈下降趋势, 粒径和疏水基团暴露程度增加。冻藏后蛋白电泳图谱显示, 65SPI 和 90SPI 通过二硫键形成了分子量较大的可溶性聚集体。

关键词: 大豆分离蛋白; 杀菌; 冻藏; 理化特性

中图分类号: TS102.51 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2016)02-0251-07

Effects of Different Sterilization Conditions on Physicochemical Properties of SPI during Frozen Storage

Chen Zhenjia^{1,2} Shi Xiaodi¹ Du Yumeng¹ Yao Meiyi¹ Guo Shuntang¹

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: The effects of different sterilization conditions on the physicochemical properties of soybean protein isolate (SPI) during frozen storage were studied to gain scientific knowledge and provide basis for supplying soy foods with good quality. SPI was prepared after sterilized at 65℃, 90℃ and UHT (denoted as 65SPI, 90SPI and USPI), respectively. The changes of physicochemical properties of protein dispersions (2%, pH value 7.0) subjected to frozen storage at -18℃ were investigated. The results showed that three types of sterilization all resulted in heat denaturation of proteins. Compared with control SPI, the soluble proteins content and free SH groups of 90SPI and 65SPI were dropped sharply while the viscosity and particle size were increased greatly. However, there were no marked changes of USPI. In addition, hydrophobic domains of 90SPI and USPI were exposed to a higher extent and their AB subunits were in dissociation state according to non-reducing SDS-PAGE. SPI with different sterilization treatments underwent different chemical and physical changes during frozen storage. The solubility, viscosity, free and total SH groups of protein trended down gradually with the increase of frozen time, while particle size and exposed extent of hydrophobic domains were increased during frozen storage. Some soluble aggregations associated with disulfide bonds were observed in the SDS-PAGE electrophoresis of 65SPI and 90SPI solutions after frozen storage.

Key words: soybean protein isolate; sterilization; frozen storage; physicochemical properties

收稿日期: 2015-07-19 修回日期: 2015-09-18

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD34B04-2)和国家自然科学基金项目(31471582)

作者简介: 陈振家(1981—),男,博士生,山西农业大学讲师,主要从事大豆蛋白研究,E-mail: 13453216350@163.com

通信作者: 郭顺堂(1962—),男,教授,博士生导师,主要从事植物蛋白研究,E-mail: shuntang@cau.edu.cn

引言

大豆分离蛋白(SPI)因其良好的功能特性和较高的营养价值而作为食品配料广泛应用于食品加工^[1]。近年冷冻面制品和冷冻肉类制品发展迅速,在这些冷冻食品的加工中,通常会添加大豆分离蛋白来赋予产品良好的质构特性、保水性和乳化性^[2]。然而,低温冷冻是否对大豆分离蛋白加工条件下具备的理化特性有所改变,这是一个值得探讨的问题。理论而言,冷冻处理会造成食品体系中蛋白质的变性,其变性机理已有较多研究^[3-5],综合各方面研究所得到的结论是:冻藏条件下水分结冰破坏了蛋白质的周围环境,比如溶质浓度、pH值、离子强度、蛋白质的水合状态等,最终导致蛋白质天然构象变化。大豆蛋白溶液在冷冻条件下也同样会因水分结冰、蛋白质浓缩而发生部分变性^[6],而大豆蛋白的变性程度直接会影响到其理化特性,那么在低温贮藏的极端环境下,大豆分离蛋白是否仍能保持原有理化特性就值得深入分析。本文模拟工业杀菌条件,用不同的杀菌温度处理大豆分离蛋白,经冷冻处理后研究冻藏对大豆分离蛋白理化特性的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料与设备

低温脱脂豆粕,山松生物制品有限公司;考马斯亮蓝 G-250, Sigma 公司;NaOH、HCl、正磷酸、无水乙醇,北京化学试剂公司;二硫代二硝基苯甲酸, Sigma 公司;β-巯基乙醇, Amresc 公司。

SD-1000 型喷雾干燥塔, Tokyo Rikakikai Co., Ltd.; 4-0.63 型乌氏粘度计, 上海越磁电子科技有限公司; FT74X-40-44-A 型 UHT 灭菌机, Armfield 公司; Nano ZS-90 型 Zeta 电位仪, Malvern 公司; LS-55 型荧光光谱仪, 美国 Perkin Elmer 公司; ULTRA TURRAX-T18-basic 高速剪切仪, 德国 IKA 公司; Bio Craft Model BE-210N 垂直平板电泳装置, 美国 BIO-RAD 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 热处理大豆分离蛋白样品的制备

水与脱脂大豆粕以液料比 15 mL/g 的比例混合, 调节 pH 值至 8.0, 搅拌 90 min 后, 经 2 层纱布过滤, 调节滤液 pH 值至 4.5, 静置 30 min 后, 1 000 g 离心 5 min, 得到大豆分离蛋白沉淀; 所得大豆分离蛋白加水复溶至蛋白质量分数为 4%, 调节 pH 值至 7.0, 15 000 r/min 剪切均质 5 min 后, 分别进行 65℃ 30 min、90℃ 10 min、UHT(135℃ 15 s) 处理, 喷雾干

燥后得到相应的大豆分离蛋白, 分别记为 65SPI、90SPI、USPI, 未进行热处理大豆分离蛋白记为 SPI^[7-8]。

1.2.2 可溶蛋白含量测定

1 g SPI 加入 49 mL 蒸馏水, 配制质量分数 2% 的 SPI 溶液, 室温下搅拌 60 min 后置于 -18℃ 冰箱中冻藏 0、1、3、5、10 d, 取出平衡至室温(20℃), 10 000 g 离心 10 min, Bradford 法(1971)测定上清液中可溶性蛋白含量。

1.2.3 粘度测定

配制质量分数 2% 的 SPI 溶液, 室温下搅拌 2 h 后, 置于 -18℃ 冰箱中冻藏 0、1、3、5、10 d, 取出平衡 1 h 至室温, 用乌氏粘度计测定溶液粘度, SPI 溶液粘滞系数计算公式为^[9-10]

$$\eta_2 = \frac{\rho_2 t_2}{\rho_1 t_1} \eta_1$$

式中 η_1 ——蒸馏水的粘滞系数, 取 0.839 mPa·s

η_2 ——测定流体的粘滞系数

ρ_1 ——蒸馏水的密度, 取 1 g/cm³

ρ_2 ——测定流体的密度

t_1 ——蒸馏水通过毛细管时间

t_2 ——样品通过毛细管时间

1.2.4 表面巯基和总巯基的测定

定量 SPI 加入反应缓冲液 A(0.1 mol/L pH 值 8.0 磷酸钠缓冲液, 含 1 mmol/L EDTA), 室温下搅拌 2 h, 10 000 g 离心 10 min, 取 5.5 mL 上清液加入 0.1 mL Ellman's 试剂溶液, 混合均匀后室温避光放置 15 min, 412 nm 下测量吸光度; 空白加 5.5 mL 反应缓冲液 A; 根据标准曲线换算表面巯基含量^[11-12]。

定量 SPI 加入反应缓冲液 B(0.1 mol/L pH 值 8.0 磷酸钠缓冲液, 含 1 mmol/L EDTA, 8 mol/L 尿素), 室温下搅拌 2 h, 室温搅拌 2 h, 1 0000 g 离心 10 min, 取 5.5 mL 上清液加入 0.1 mL Ellman's 试剂溶液, 混合均匀后室温避光放置 15 min, 412 nm 下测量吸光度; 空白加 5.5 mL 反应缓冲液 B; 根据标准曲线换算总巯基含量^[12-13]。

1.2.5 大豆分离蛋白 SDS-PAGE

采用 Bio Craft Model BE-210N 垂直平板电泳装置。分离胶质量分数为 12.5%, 浓缩胶质量分数为 5%。电泳过程中, 浓缩胶部分保持电流 15 mA, 分离胶部分保持电流 25 mA。电泳结束后, 电泳胶片用固定液固定 4 h, 然后用考马斯亮蓝 G-250 染色液染色 3 h。染色结束后, 用蒸馏水对胶片进行脱色, 直至底色基本脱去后, 扫描成像^[13]。

1.2.6 粒径分布测定

配制质量分数 2% 的 SPI 溶液, 室温下搅拌 2 h

后置于 -18°C 冰箱中冻藏 0、1、3、5、10 d, 取出平衡至室温, 用蒸馏水稀释至 0.1 mg/mL , 采用 Nano ZS-90 型 Zeta 电位仪测定粒径分布^[14-15]。

1.2.7 内源荧光发射光谱

配制质量分数 2% 的 SPI 溶液, 室温下搅拌 60 min 后置于 -18°C 冰箱中冻藏 0、1、3、5、10 d, 取出平衡至室温, 用蒸馏水稀释至 0.1 mg/mL 。蛋白样品在 280 nm 处激发, 扫描 300 ~ 400 nm 的荧光发射光谱, 狭缝宽 10 nm, 扫描速率 200 nm/min ^[14]。

1.2.8 试验数据处理与统计

试验数据采用 SPSS 18.0 软件和 Origin 8.5 软件进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 可溶蛋白含量

由图 1 可知, 冻藏前不同杀菌处理 SPI 可溶蛋白含量有较大差异, 其中可溶蛋白含量从大到小依次为: SPI、USPI、65SPI、90SPI。研究表明大豆蛋白中的 7S 和 11S 组分的热变性温度分别为 $(70 \pm 5)^{\circ}\text{C}$ 和 $(90 \pm 5)^{\circ}\text{C}$ ^[16]。蛋白溶液在经过 65°C 杀菌处理时, SPI 的 7S 组分和 11S 组分均未发生完全变性, 而 90°C 则能够使 7S 组分和 11S 组分蛋白发生完全变性, 加热变性 SPI 中 7S 的 β 亚基和 11S 的 B 亚基具有更高的亲和性, 加热中, 7S 的 β 亚基和 11S 的 B 亚基倾向于通过次级键的相互作用而处于沉淀中^[17-18]。显然, 温度越接近或高于 7S 组分和 11S 组分的变性温度, 越容易造成亚基解离而促进 B 亚基和 β 亚基相互作用产生沉淀。而采用 UHT 杀菌处理的 SPI 样品, 虽然温度高, 但时间短, 从结果看并未造成 SPI 溶解性的大幅下降。

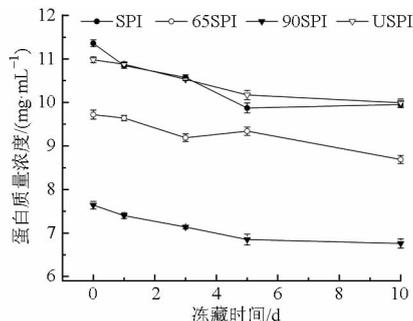


图 1 不同杀菌处理 SPI 冻藏过程中可溶蛋白含量变化

Fig. 1 Soluble protein contents variations of SPI during frozen storage under different sterilization conditions

同时由图 1 可知, 随冻藏时间延长, 不同温度处理 SPI 可溶蛋白含量均发生一定幅度下降。蛋白质在冷冻条件下会发生不同程度变性, 形成不溶性聚集体, 进而造成可溶蛋白含量降低^[5, 19-20]。Hashizume 等^[6]研究发现, SPI 在冻藏过程中溶解度

下降, 其原因是冻藏过程中蛋白质通过二硫键形成不溶性聚集体。

高温长时间的杀菌方式均会造成 SPI 可溶蛋白含量的下降, 而高温短时间的 UHT 杀菌方式对蛋白质可溶蛋白含量影响不大。而无论哪种杀菌方式所得的 SPI 在冻藏过程中随时间延长其可溶蛋白含量均呈下降趋势。

2.2 粘度

由图 2 可知, 冻藏前不同温度处理 SPI 的粘度有较大差别, 其中粘度从大到小依次为: 90SPI、65SPI、SPI、USPI。加热变性会导致 SPI 原有球状结构被破坏, 多肽链舒展成长链状结构, 这无疑会增加 SPI 的粘度。从试验结果来看, 90°C 加热变性程度最高, 其粘度也最大; USPI 粘度最小。同时由图 2 可知, 随冻藏时间延长, SPI、90SPI 和 65SPI 的粘度呈下降趋势, 而 USPI 的粘度未有变化。聚集其实是一个将不断暴露出的疏水片段再聚集的过程, 这一过程主要是降低热力学不利的疏水暴露^[21], 而部分暴露疏水片段再聚集则会降低蛋白质溶液粘度。

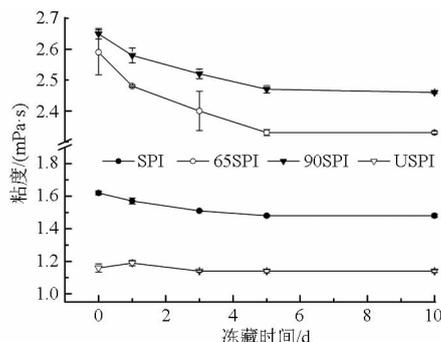


图 2 不同杀菌处理 SPI 溶液冻藏过程中粘度变化

Fig. 2 Viscosity variations of SPI during frozen storage under different sterilization conditions

2.3 表面巯基和总巯基含量

SPI 的巯基数量较多, 但大部分巯基是以二硫键形式存在, 特别是用以连接 11S 的 A 亚基和 B 亚基, 因此其游离巯基主要来源于 7S 的 β -伴大豆球蛋白组分^[14, 21]。SPI 加热过程中由于变性会使内部疏水结构暴露, 这可能会导致内部巯基暴露而增加表面巯基数量, 但同时也会造成表面巯基相互作用而形成二硫键, 此外加热导致蛋白间的疏水相互作用加强, 又可能会引起部分游离巯基的空间包埋, 最终致使表面巯基数量下降。天然蛋白中二硫键的形成速率是非常低的, 然而加热处理则可以加速二硫键的形成^[14, 22]。

由图 3 可知, 冻前 4 种 SPI 溶液表面巯基含量从大到小依次为: SPI、USPI、65SPI、90SPI, 说明加热造成了表面巯基数量的下降, 其原因可能是加热致

使蛋白聚集而包埋部分游离巯基,但同时也可能是加速了巯基和二硫键的相互转换。而由图3的总巯基图可知,65SPI总巯基小于SPI,90SPI总巯基与SPI相似,这说明65SPI在热处理过程中是巯基和二硫键相互转换的参与导致了表面巯基减少,而90SPI则是蛋白加热聚集致使部分游离巯基被包埋造成了表面巯基的减少,这说明90SPI的聚集程度较高,这与90SPI的可溶性蛋白含量较低是相互对应的。

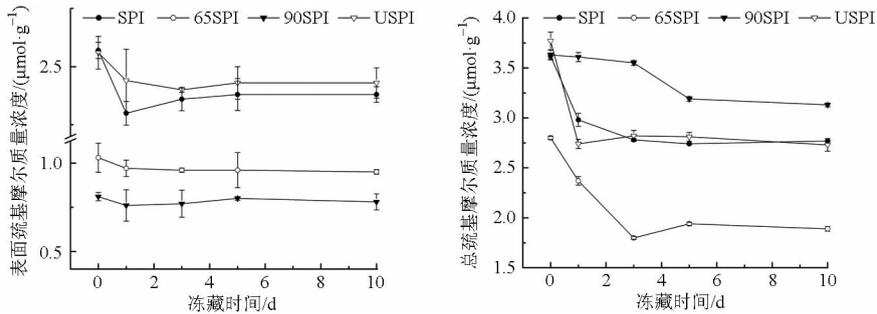


图3 不同杀菌处理SPI溶液冻藏过程中表面巯基含量和总巯基含量变化

Fig. 3 Free and total SH groups contents variations of SPI during frozen storage under different sterilization conditions

2.4 还原和非还原 SDS - PAGE

如图4a所示,冻前SPI和65SPI在还原SDS-PAGE图谱中亚基分布相似,说明65℃杀菌处理并未造成特殊亚基间的相互作用而形成不溶性聚集体。与SPI相比,90SPI在还原SDS-PAGE图谱中 β 和B亚基含量有部分减少,这说明90SPI在热处理过程中, β 和B亚基相互作用形成了不溶性聚集体,从而造成亚基含量较少,这也证实了上

述结果的推测,90℃加热处理可以使SPI中的7S和11S两大组分均发生变性,而65SPI和USPI均未出现 β 和B亚基条带减少,说明变性程度不及90SPI。此外,USPI在冻前还原SDS-PAGE图谱中亚基分布中,分别出现了未进入浓缩胶和未进入分离胶的条带,说明UHT处理造成SPI部分亚基通过非二硫键的共价键形成大分子量的可溶性聚集体。

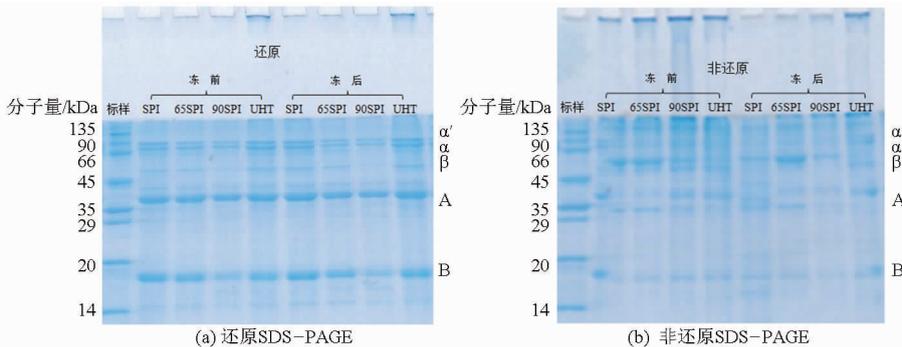


图4 不同杀菌处理SPI溶液冻藏前后的还原SDS-PAGE和非还原SDS-PAGE

Fig. 4 Reducing and non-reducing SDS-PAGE profiles of SPI before and after frozen storage under different sterilization conditions

同时由图4a可知,SPI和65SPI在冻藏后还原SDS-PAGE图谱中在浓缩胶和分离胶的分界处出现新带,这个条带分子量较大而未能进入分离胶,而且未出现在冻藏前SDS-PAGE图谱中,这说明冻藏过程中形成了较大分子量的可溶性聚集体。90SPI冻后还原SDS-PAGE图谱中 β 和B亚基含量减少量进一步加大,说明冻藏过程中90SPI的 β 和B亚

基也同样形成了不溶性聚集体。USPI冻藏前后的还原SDS-PAGE图谱相似。

与还原SDS-PAGE相比,非还原SDS-PAGE处理液不含 β -巯基乙醇,因此可以观察亚基间二硫键的形成情况。由图3b可知,不同温度处理SPI的非还原SDS-PAGE图谱有较大差异。SPI和65SPI的非还原SDS-PAGE图谱中,11S的A和B

亚基含量很少,这是因为未变性的11S的A、B亚基是通过二硫键结合在一起的,在没有 β -巯基乙醇的存在下,A、B亚基是以复合物AB的形式出现的。而90SPI和USPI的A、B亚基含量较多,说明这2种杀菌处理造成了11S的A、B亚基间二硫键的断裂,从而发生解离。此外,冻藏前的非还原SDS-PAGE图谱中SPI、65SPI和90SPI在浓缩胶和分离胶的顶端均出现颜色较深的条带,而这些条带并未出现在还原SDS-PAGE图谱中,这说明这些条带是通过二硫键相互作用而形成的大分子可溶聚集体,这也证实了冻藏过程SPI进一步通过二硫键形成聚集体,从而造成可溶蛋白含量的降低。

2.5 粒径

由图5可知,相比对照SPI,冻藏前不同温度处理后的SPI的平均粒径均有大幅增加,粒径从大到小依次为:90SPI、65SPI、SPI、USPI。不同杀菌处理SPI在冻藏过程中其平均粒径均有增加。可见加热和冷藏均促进了蛋白的相互聚集,致使其粒径增加。

加热处理通常会促进蛋白发生聚集进而形成沉淀。对SPI而言,加热造成粒径增加的程度取决于7S和11S组分的变性程度^[23]。SPI完全变性后,解离出的B亚基和 β 亚基会迅速通过疏水作用而相互聚集,粒径随之增加。因此,图5可知冻藏前90SPI的粒径要大于65SPI,就是因为90SPI的变性

程度要高于65SPI。而USPI虽然杀菌温度高,由于杀菌时间短,因此杀菌过程并未发生蛋白的大量聚集,粒径也较小。冻藏过程中,水分冻结使蛋白之间的相互作用增强,这也证实蛋白之间确实通过二硫键形成蛋白聚集体,这些原因都促使了蛋白粒径的增加。

此外,蛋白粒径的变化可以用来解释蛋白溶液粘度的变化。一般而言,蛋白溶液体系内蛋白粒径大小及分散度直接决定其粘度的大小。粒径越大,分散越混乱,粘度则越大。从图5可知,冻藏前90SPI和65SPI不仅粒径大而且出现的粒径峰也较多,因此粘度较大;而SPI和USPI冻藏前不仅粒径小,而且分散度低,特别是USPI冻藏前粒径图均呈现一个峰,因此粘度值较低。

从冻藏后粒径结果可知,65SPI和90SPI冻藏后的粒径和分散度较冻前有所增加,其粘度理应变大,然而从2.2节的结果来看,65SPI和90SPI冻后粘度反而下降。冻藏过程中,溶液体系内的水分冻结成冰,蛋白质与水之间的相互作用也随之消失。蛋白的水合作用在冻藏过程中会转而形成蛋白之间的相互作用,这也可能是冻藏过程中蛋白粒径增大的部分原因。溶液解冻消融后,已变性聚集的蛋白会阻碍蛋白的再水合作用,这可能是造成蛋白溶液粘度下降的原因。

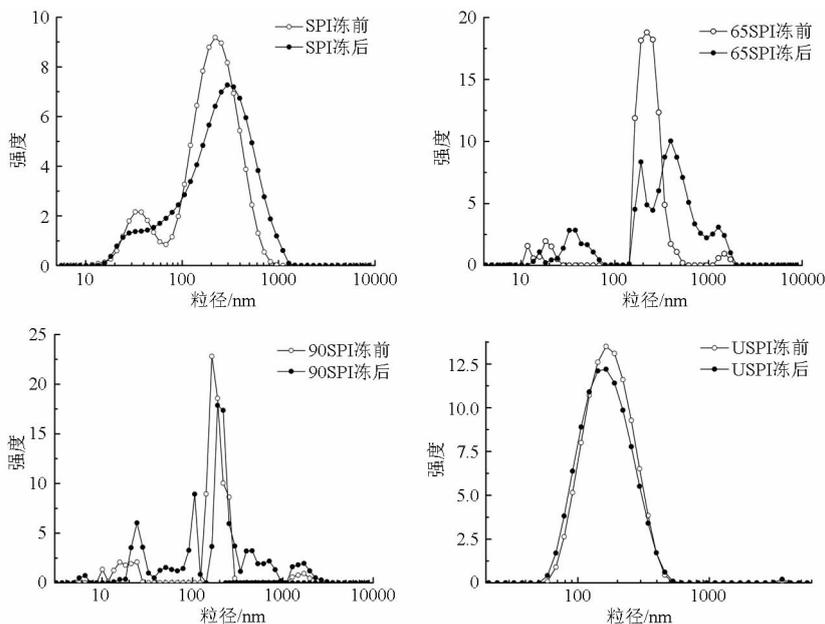


图5 不同杀菌处理SPI溶液冻藏过程中的粒径变化

Fig. 5 Particle size variations of SPI during frozen storage under different sterilization conditions

2.6 内源荧光发射光谱

蛋白质的内源荧光光谱是通过测定色氨酸残基所处环境的极性得到的,可以反映蛋白质构象的变化以及蛋白质之间的相互作用^[20]。Dufour等^[24]报

道了色氨酸残基处于球蛋白内部疏水性区域时,大豆分离蛋白的最大荧光发射波长 λ_{\max} 为335~336 nm。当蛋白质色氨酸残基所处的溶剂环境极性提高,即色氨酸残基从球蛋白内部疏水性区域转移

到表面暴露在溶剂环境中时,其 λ_{\max} 会增大,即发生红移。

从图6中可知,加热处理后SPI的 λ_{\max} 均有增加,冻前不同温度处理SPI的 λ_{\max} 从大到小依次为:90SPI、USPI、65SPI、SPI。这说明杀菌处理导致大豆蛋白天然结构破坏,更多色氨酸残基暴露在分子表面,因而 λ_{\max} 发生了红移。上述结果已表明,90SPI

和USPI均能促使11S组分AB亚基发生解离,这说明2种杀菌处理造成蛋白的变性程度较大。因此,90SPI和USPI疏水基团的暴露程度要高于65SPI和SPI。

同时,从图6中也可以看出,不同杀菌处理SPI的 λ_{\max} 在冻藏过程中发生了红移,这说明冻藏过程中SPI色氨酸残基的暴露程度也增加。

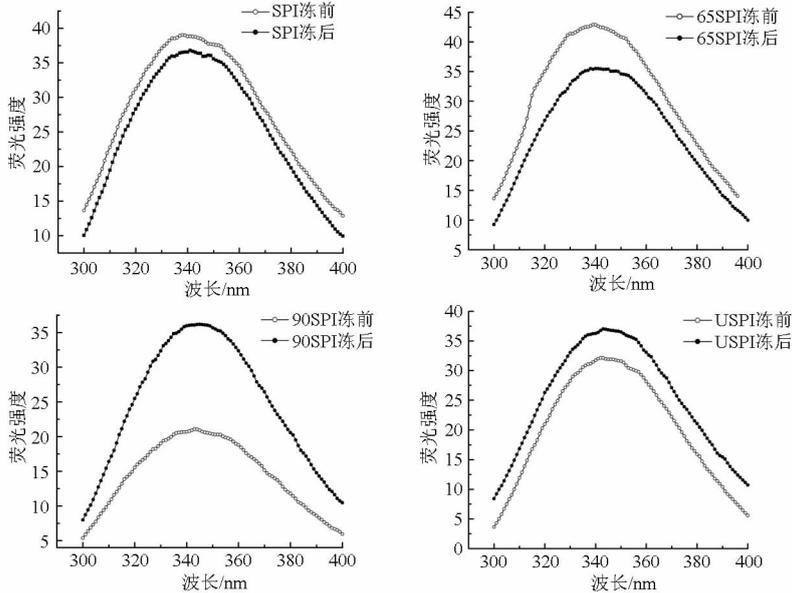


图6 不同杀菌处理SPI冻藏过程中内源荧光发射光谱

Fig.6 Intrinsic emission fluorescence spectra of SPI during frozen storage under different sterilization conditions

3 结论

(1) 与对照SPI相比,65℃和90℃杀菌处理后,其可溶蛋白含量、表面巯基含量下降,最大荧光发射波长、粘度、粒径均有增大;UHT杀菌处理后,其可溶蛋白含量、表面巯基和总巯基含量与SPI相似,粘度略有降低;90℃杀菌处理会造成 β 和B亚基含量减少,UHT处理则形成了共价交联的大分子可溶聚

集体;90SPI和USPI疏水暴露程度较高,同时90℃和UHT还能造成AB亚基的解离。

(2) 不同杀菌处理所得SPI在冻藏过程中,随冻藏时间延长其蛋白可溶蛋白含量、粘度、表面巯基和总巯基数量下降,蛋白粒径和疏水暴露程度增加;65SPI和90SPI在冻藏过程中通过二硫键形成了大分子可溶性聚集体。

参 考 文 献

- 1 Nishinari K, Fang Y, Guo S, et al. Gums and stabilisers for the food industry 17: properties and applications of soy proteins [M]. London: Royal Society of Chemistry, 2014: 28-45.
- 2 Jiang J, Xiong Y L. Extreme pH treatments enhance the structure-reinforcement role of soy protein isolate and its emulsions in pork myofibrillar protein gels in the presence of microbial transglutaminase[J]. Meat Science, 2013, 93(3): 469-476.
- 3 Fennema O R, Powrie W D, Marth E H. Low temperature preservation of foods and living matter[M]. New York: Marcel Dekker Inc., 1973: 1-77.
- 4 Privalov P L. Cold denaturation of protein[J]. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 1990, 25(4): 281-306.
- 5 Lopez C F, Darst R K, Rossky P J. Mechanistic elements of protein cold denaturation[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2008, 112(19): 5961-5967.
- 6 Hashizume K, Kakiuchi K, Koyama E, et al. Denaturation of soybean protein by freezing[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1971, 35: 449-459.
- 7 Lusas E W, Riaz M N. Soy protein products: processing and use[J]. The Journal of Nutrition, 1995, 125(3): 573-580.
- 8 Tang C H, Ma C Y. Effect of high pressure treatment on aggregation and structural properties of soy protein isolate[J]. LWT—Food Science and Technology, 2009, 42(2): 606-611.
- 9 Lee D H, Jung J M, Kim S Y, et al. Comparison tests for plasma viscosity measurements[J]. International Communications in

- Heat and Mass Transfer, 2012, 39(10): 1474 – 1477.
- 10 傅玉颖, 武肖, 潘伟春, 等. 高浓度下热诱导大豆蛋白聚集体流变特性研究[J]. 农业机械学报, 2014, 45(7): 196 – 201.
Fu Yuying, Wu Xiao, Pan Weichun, et al. Heat-induced soybean protein aggregates and rheological properties of their concentrated suspensions[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(7): 196 – 201. (in Chinese)
 - 11 Arzeni C, Martinez K, Zema P, et al. Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality[J]. Journal of Food Engineering, 2012, 108(3): 463 – 472.
 - 12 Ruan Q, Chen Y, Kong X, et al. Comparative studies on sulfhydryl determination of soy protein using two aromatic disulfide reagents and two fluorescent reagents[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(11): 2661 – 2668.
 - 13 Ren C, Tang L, Zhang M, et al. Interactions between whey soybean protein (WSP) and beta-conglycinin (7S) during the formation of protein particles at elevated temperatures[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(3): 936 – 941.
 - 14 Shen L, Tang C H. Microfluidization as a potential technique to modify surface properties of soy protein isolate[J]. Food Research International, 2012, 48(1): 108 – 118.
 - 15 李菊芳, 吕莹, 徐婧婷, 等. 磷脂-大豆分离蛋白复合物溶液理化与流变特性[J]. 农业机械学报, 2013, 44(8): 207 – 212.
Li Jufang, Lü Ying, Xu Jingting, et al. Solution physicochemical properties and rheological behavior of lecithin-soybean protein complex[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013, 44(8): 207 – 212. (in Chinese)
 - 16 Geman B, Damodaran S, Kinsella J E. Thermal dissociation and association behavior of soy proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1982, 30(5): 807 – 811.
 - 17 Yamagishi T, Miyakawa A, Noda N, et al. Isolation and electrophoretic analysis of heat-induced products of mixed soybean 7S and 11S globulins[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1983, 47(6): 1229 – 1237.
 - 18 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 and Food Chemistry, 1984, 32(6): 1406 – 1412.
 - 19 Shenouda S Y K. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh[J]. Advances in Food Research, 1980, 26: 275 – 311.
 - 20 Pallarès I, Vendrell J, Avilés F X, et al. Amyloid fibril formation by a partially structured intermediate state of α -chymotrypsin [J]. Journal of Molecular Biology, 2004, 342(1): 321 – 331.
 - 21 Zhang H, Li L, Tatsumi E, et al. Influence of high pressure on conformational changes of soybean glycinin[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2003, 4(3): 269 – 275.
 - 22 Visschers R W, de Jongh H H J. Disulphide bond formation in food protein aggregation and gelation [J]. Biotechnology Advances, 2005, 23(1): 75 – 80.
 - 23 朱巧梅, 酃金龙, 范鑫, 等. W/O 乳液凝固剂对 SPI 冷凝胶流变特性与微观结构的影响[J]. 农业机械学报, 2015, 46(2): 240 – 246.
Zhu Qiaomei, Li Jinlong, Fan Xin, et al. Effect of W/O emulsion coagulants on rheological properties and microstructure of cold-set SPI gels[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(2): 240 – 246. (in Chinese)
 - 24 Dufour E, Hoa G H B, Haertlé T. High-pressure effects on β -lactoglobulin interactions with ligands studied by fluorescence[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Protein Structure and Molecular Enzymology, 1994, 1206(2): 166 – 172.