

糖基化改性提高醇法大豆浓缩蛋白凝胶性的研究

王冠蕾

(承德石油高等专科学校化学工程系, 河北承德 067000)

摘要: 以提高醇法大豆浓缩蛋白的凝胶性为目的, 利用葡聚糖对醇法大豆浓缩蛋白进行糖基化改性, 在单因素试验的基础上, 采用 Box-Behnken 模型对工艺条件进行了优化, 测定并分析了改性产物在各个条件下的凝胶强度。结果表明最适改性条件为: 葡聚糖添加量 4.9%、反应温度 60 °C, 反应时间 44.5 h。此条件下的醇法大豆浓缩蛋白的凝胶强度为 286.72 g, 是未改性的 2.69 倍。试验证明该优化工艺能有效的提高醇法大豆浓缩蛋白的凝胶强度。

关键词: 醇法大豆浓缩蛋白; 糖基化改性; 凝胶性质; Box-Behnken 模型

文章编号: 1673-9078(2012)11-1478-1483

Improvement of Gelling Properties of Alcohol Leaching Soy Protein Concentrate by Glycosylation

WANG Guan-lei

(Department of Chemical Engineering, Chengde Petroleum College, Chengde 067000, China)

Abstract: In order to improve gel strength of alcohol leaching soy protein concentrate, glycosylation modification was realized by adding glucan, and the operation conditions for modification were established by single factor experiment. Box-Behnken model was used to optimize technological conditions, test and analyze the gel strength of modified products under various conditions. The best glycosylation modification conditions were as follows: the augmenter of glucan 4.9%, reaction temperature 60 °C and reaction time 44.5 h, under which the gel strength could achieve 286.72 g which was 2.69 times of the unmodified alcohol leaching soy protein concentrate. The experiment proved that the modification technology can effectively increase gel strength of alcohol leaching soy protein concentrate.

Key words: alcohol leaching soy protein concentrate; glycosylation modification; gel strength; Box-Behnken model

大豆浓缩蛋白主要分为酸法和醇法大豆浓缩蛋白。稀酸浸提法制得的大豆浓缩蛋白具有较好的功能性质, 但蛋白质得率较低, 污水排放造成的环境污染较为严重^[1]; 醇法浸提大豆浓缩蛋白生产过程中污水排放量较少, 蛋白质得率较高, 是目前生产大豆浓缩蛋白最常用的方法。但由于乙醇溶液强烈的蛋白质变性作用, 导致醇法大豆浓缩蛋白功能性质如凝胶性、起泡性、乳化性降低^[2], 因此, 通过改性来提高醇法大豆浓缩蛋白的功能特性具有十分重要的意义。

醇法大豆浓缩蛋白的凝胶性在食品加工中具有很重要的作用, 将其添加到肉糜制品和面条制品中, 可显著地改善食品的品质。目前改善蛋白质凝胶性的方法主要有物理改性、化学改性(糖基化、磷酸化、酰基化)和酶法改性3种。其中, 糖基化改性是基于蛋白质分子中氨基酸侧链的自由氨基和糖分子还原末端的羰基之间的羰氨反应-美拉德反应, 该反应中蛋白质与糖以共价键结合, 不需要催化剂, 仅加热就可自发

收稿日期: 2012-06-28

作者简介: 王冠蕾(1981-), 女, 讲师, 主要从事生化教学和学生管理工作

地进行, 许多研究表明糖基化改性可以显著地改善蛋白质的凝胶性^[3]、起泡性^[4]、乳化性^[5]、溶解性^[6]等。糖基化技术在大豆分离蛋白改性方面虽已有所报道, 但主要集中在大豆蛋白质-多糖大分子共价复合物的制备以及该复合物乳化性能和抗菌性能方面的研究, 而有关凝胶行为的研究较少, 许彩虹等人将大豆球蛋白与不同分子量的葡聚糖进行接枝反应, 研究了糖基化改性对大豆球蛋白凝胶流变学性质的影响^[7]。但迄今为止尚且没有利用糖基化改性提高大豆浓缩蛋白凝胶性质的研究。

本研究以葡聚糖为反应应用糖对醇法大豆浓缩蛋白进行了干法糖基化改性, 采用 Box-Behnken 模型对改性条件进行了优化, 得出了最佳糖基化改性工艺, 同时分析了糖基化程度(DG)与凝胶强度的关系, 以期为专用型、凝胶型大豆浓缩蛋白的生产提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 试验材料

醇法大豆浓缩蛋白(蛋白质含量 72.21%): 秦皇岛金海食品工业有限公司; 葡聚糖: 相对分子质量为 10000, Sigma 公司; 其它化学试剂均为分析纯。

1.1.2 主要设备

TA.XT.Plus质构仪: Stable Micro System Ltd; 电热恒温鼓风干燥箱 (DGG-9023A型): 上海森信实验仪器有限公司; 冷冻干燥机 (FDU-1100型): 日本 EYELA公司; 紫外可见分光光度计 (TU-1810), 北京普析通用仪器有限责任公司; 扫描电镜 (S-3400N): 日本日立公司。

1.2 试验方法

1.2.1 糖基化醇法大豆浓缩蛋白的制备

将醇法大豆浓缩蛋白与葡聚糖按照一定比例混合、溶解, 经冷冻干燥制得大豆浓缩蛋白-葡聚糖混合粉, 然后将混合粉置于含有饱和 KI 溶液(相对湿度 65%)的干燥器中, 于一定温度的恒温培养箱中反应一定的时间, 即得糖基化醇法大豆浓缩蛋白。

1.2.2 凝胶的制备

将糖基化醇法大豆浓缩蛋白配成浓度为 10% (*m/V*) 的溶液, 用 0.1 mmol/L NaOH 或 0.1 mmol/L HCl 调 pH 至 7.0, 取 20 mL 溶液放入直径 32 mm 的 25 mL 的烧杯中, 用保鲜膜封口, 在 90 °C 水浴中加热 30 min, 取出后快速冷却, 在 4 °C 下静置 24 h 待测。

1.2.3 凝胶强度的测定

采用 TA-XTplus2 质构仪进行凝胶质构的测定。采用 P0.5 柱形探头, 设置探头最小感知力为 5 g, 穿刺前探头运行速度为 5.0 mm/s, 穿刺过程中的运行速度为 2.0 mm/s, 穿刺后返回过程中的运行速度为 2.0 mm/s, 穿刺距离为 15 mm, 间隔时间为 1 s, 检测温度为(25±2) °C。凝胶强度用硬度(Hardness)即探头下压过程中的最大感应力(单位 g)表示, 同时记录凝胶的弹性指标。

1.2.4 糖基化程度测定

采用OPA法对糖基化产物的糖基化程度(DG)进行测定。取OPA试剂4 mL置于试管中, 注入200 μL样品液(10 mg/mL), 混匀后于35 °C反应2 min, 以OPA试剂中加入200 μL水为空白, 在340 nm下测定其吸光度。反应的糖基化程度计算式为^[8]:

$$DG (\%) = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100\%$$

注: 式中 A_t 、 A_0 -t时刻样品、空白样品的吸光度。

1.2.5 凝胶微观结构观察

取待测凝胶样品, 从凝胶不同部分切3~5 mm的小

立方体, 在4 °C下用3%的戊二醛磷酸盐缓冲液(0.05 mol/L, pH 7.0)固定2 h。用冷缓冲液漂洗3次, 每次20 min。接着在4 °C下用1%的四氧化锇的磷酸盐缓冲液进行第二次固定1.5 h, 用冷缓冲液漂洗3次, 每次20 min。分别采用30、50、70、95%乙醇溶液梯度脱水, 最后用无水乙醇漂洗3次, 醋酸异戊酯过渡。样品立刻用CPD-030临界点干燥仪干燥, 扫描时将凝胶样品观察面向上黏贴在扫描电镜样品台上, 用离子溅射镀膜仪进行离子溅射喷金, 将处理好的样品放入样品盒中待检测^[9]。

1.3 试验设计

1.3.1 单因素试验

1.3.1.1 葡聚糖添加量对醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度的影响

葡聚糖按 1%、3%、5%、7%、9% 的比例添加到醇法大豆浓缩蛋白中, 用水溶解调至 10% (*m/V*), 经冷冻干燥制得大豆浓缩蛋白-葡聚糖混合粉, 然后将混合粉置于含有饱和 KI 溶液(相对湿度 65%)的干燥器中, 于 60 °C 恒温培养箱中反应 48 h, 测定各样品的凝胶强度。

1.3.1.2 反应温度对醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度的影响

葡聚糖按 5% 的比例添加到醇法大豆浓缩蛋白中, 用水溶解调至 10% (*m/V*), 经冷冻干燥制得大豆浓缩蛋白-葡聚糖混合粉, 然后将混合粉置于含有饱和 KI 溶液(相对湿度 65%)的干燥器中, 分别于 40~80 °C 恒温培养箱中反应 48 h, 测定各样品的凝胶强度。

1.3.1.3 反应时间对醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度的影响

葡聚糖按 5% 的比例添加到醇法大豆浓缩蛋白中, 用水溶解调至 10% (*m/V*), 经冷冻干燥制得大豆浓缩蛋白-葡聚糖混合粉, 然后将混合粉置于含有饱和 KI 溶液(相对湿度 65%)的干燥器中, 于 60 °C 恒温培养箱中分别反应 24 h、48 h、72 h、96 h、120 h, 测定各样品凝胶强度。

1.3.2 响应面试验

表 1 试验因素水平表

Table 1 Experiment design for levels of factors

水平	A(葡聚糖添加量/%)	B(反应温度/°C)	C(反应时间/h)
-1	4	50	24
0	5	60	48
1	6	70	72

在单因素实验的基础上, 以葡聚糖添加量(A)、反应温度(B)、反应时间(C)为影响因素, 以凝胶强度(Y)为响应值, 进行Box-Behnken试验设计, 试验设计因素

水平见表1。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 葡聚糖添加量对醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度的影响

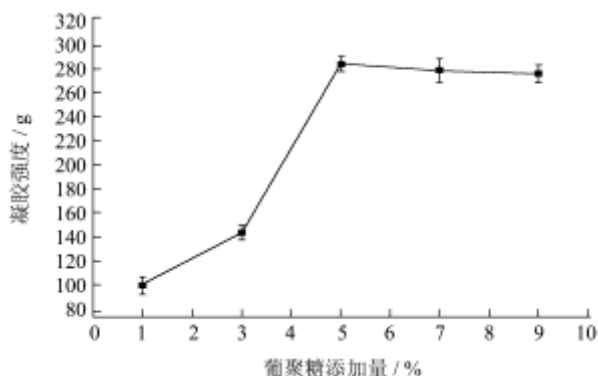


图1 葡聚糖添加量对醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度的影响

Fig.1 Effects of augments of dextran on gel strength of alcohol leaching soy protein concentrate

由图1可知,随着葡聚糖添加量的增加,产物凝胶强度呈先增加后趋于平缓的趋势,当糖添加量为5%时,所得产物凝胶强度最高。这可能是由于在一定浓度下(大于5%),糖的含量并不是反应的限制性因素,进一步提升糖含量对反应速度没有太大影响。刘燕等人用微波加热方式制备接枝改性大豆分离蛋白,发现当糖与蛋白比例为6:1时接枝产物的乳化性、溶解性有所提高^[10],与本研究相比,此法糖添加量较大、成本较高,较不易于工业化生产。

2.1.2 反应温度对醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度的影响

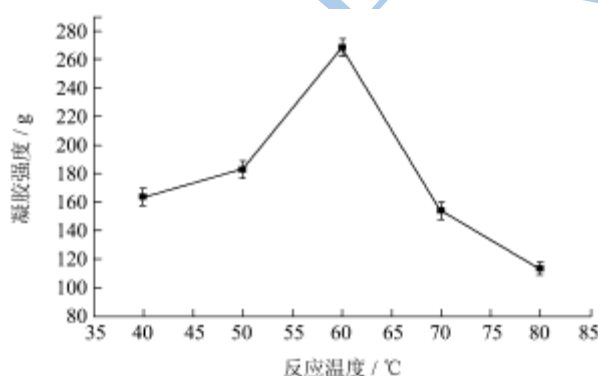


图2 反应温度对醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度的影响

Fig.2 Effects of reaction temperature on gel strength of alcohol leaching soy protein concentrate

温度对糖基化反应的影响是基于温度影响着反应的活性,较高的温度下,糖易于转化为与蛋白反应的活性形式^[11]。由图2可知随着反应温度的升高,凝胶强度呈先上升后下降的变化趋势,凝胶强度在60℃时达到较高值。这与龚加顺等人的研究结果相似,当温度

在60~70℃范围内糖分子和蛋白质分子热运动加剧,发生了较强的交互作用,两者在此温度下具有热溶性^[12];而反应温度过高,蛋白质和糖分子反应剧烈,导致糖-蛋白复合物部分不能溶解,形成粗糙、富含不溶物的凝胶,从而使凝胶的强度有所下降。

2.1.3 反应时间对醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度的影响

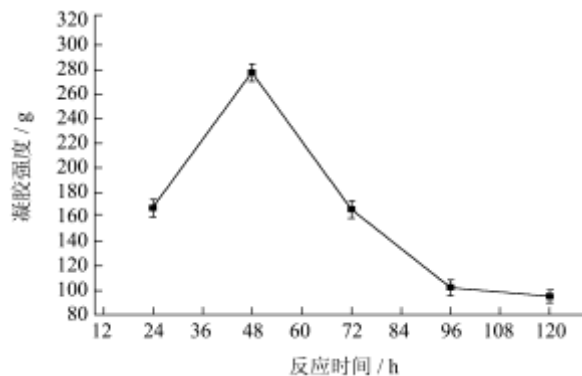


图3 反应时间对醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度的影响

Fig.3 Effects of reaction time on gel strength of alcohol leaching soy protein concentrate

由图3可知,随着时间的延长,凝胶强度呈先上升后下降的变化趋势,当反应时间为48h时所得产物凝胶强度最高。这可能是由于加热过程中蛋白质发生糖基化反应的同时,蛋白质构象发生了变化,分子部分展开,将原来包含于内部的巯基暴露出来,使表面巯基含量增加。Handa和Margoshes等人认为蛋白质的表面巯基的数目与凝胶硬度呈正相关的关系,是因为表面巯基利用形成分子间的二硫键提高了凝胶的硬度和弹性^[13-14]。但过长的反应时间,致使得糖基化反应过度,蛋白质间发生交联形成巨大的不溶性共价化合物^[15],导致糖基化产物溶解度降低,蛋白质的溶解性是其它功能性质的基础,因而凝胶强度降低。

2.2 响应面试验结果

2.2.1 回归方程的建立

对影响糖基化改性醇法大豆浓缩蛋白的葡聚糖添加量、反应温度、反应时间3个因素进行优化,设计了Box-Behnken试验方案,试验结果如表2所示。

表2的试验结果经Design-Expert 7.0.0软件进行回归拟合,得到糖基化改性提高醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度的回归方程为:

$$Y=281.97-19.90A-8.12 B-17.29 C+1.25 AB-25.12AC-29.42 BC-60.58A^2-67.32 B^2-44.90 C^2$$

由表3的方差分析结构可以看出,凝胶强度的失拟p值均大于0.05,这说明其它因素对试验结果干扰较小,模型能较好的反映数据;而凝胶强度的模型p值均小于0.05,说明方程与实际情况拟合良好,能够反映出改性后的醇法大豆浓缩蛋白的凝胶强度与葡聚糖添加量、

反应温度、反应时间之间的关系；同时复相关系数 $R^2=0.9898$ ，可利用此模型对糖基化反应进行分析和预测。

表 2 试验设计条件及结果

Table 2 Design and results of experiment

序号	A	B	C	凝胶强度/g	糖基化程度 DG/%
1	0	0	0	271.82±3.72	22.05±0.31
2	0	0	0	298.70±3.98	23.41±0.24
3	1	0	1	120.55±2.46	11.05±0.13
4	-1	0	-1	182.21±3.87	34.15±0.36
5	0	0	0	283.77±3.69	24.28±0.26
6	0	-1	1	186.27±3.07	17.58±0.19
7	0	-1	-1	167.27±3.02	16.40±0.17
8	-1	0	1	203.12±3.18	19.39±0.21
9	-1	-1	0	188.18±3.23	19.23±0.23
10	1	0	-1	200.13±3.57	32.97±0.31
11	1	1	0	122.47±2.58	44.44±0.41
12	-1	1	0	167.25±2.04	36.65±0.32
13	0	0	0	274.80±3.05	24.28±0.19
14	0	0	0	280.78±3.32	23.21±0.21
15	0	1	1	113.40±2.05	42.06±0.38
16	0	1	-1	212.08±2.75	30.89±0.28
17	1	-1	0	138.42±2.47	15.22±0.13

表 3 凝胶强度的方差分析

Table 3 Variance analysis of gel strength

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	59974.42	9	6663.82	75.78	<0.0001
A	3167.84	1	3167.84	36.03	0.0005
B	527.28	1	527.28	6.00	0.0442
C	2392.59	1	2392.59	27.21	0.0012
AB	6.22	1	6.22	0.07	0.7980
AC	2524.71	1	2524.71	28.71	0.0011
BC	3461.85	1	3461.85	39.37	0.0004
A ²	15450.34	1	15450.34	175.70	<0.0001
B ²	19081.76	1	19081.76	217.00	<0.0001
C ²	8487.53	1	8487.53	96.52	<0.0001
残差	615.54	7	87.93		
失拟	176.57	3	58.86	0.54	0.6820
纯误差	438.97	4	109.74		
总和	60589.95	16			

注:p<0.01 极显著(***)p<0.05 显著(**)p>0.05 不显著(*)。

表 3 表明 A、C、AC、BC、A²、B²、C² 对凝胶强度有极显著的影响 (p<0.01)，B 对凝胶强度有显著的影响 (p<0.05)；其它因子影响不显著，表明各影响因素对改性后的大豆浓缩蛋白的凝胶强度影响不是简单的线性关系，通过 GLM Procedure 对模型处理，保留 p<0.05 的各项，即得到优化后的回归模型为：

$$Y=281.97-19.90A-8.12 B-17.29 C-25.12AC-29.42 BC-60.58A^2-67.32B^2-44.90C^2$$

2.2.2 响应面分析

分别将模型中的葡聚糖添加量、反应温度、反应时间三个因素的一个因素固定在零水平，即可得到另两个因素对凝胶强度影响的子模型，如图 4 所示。

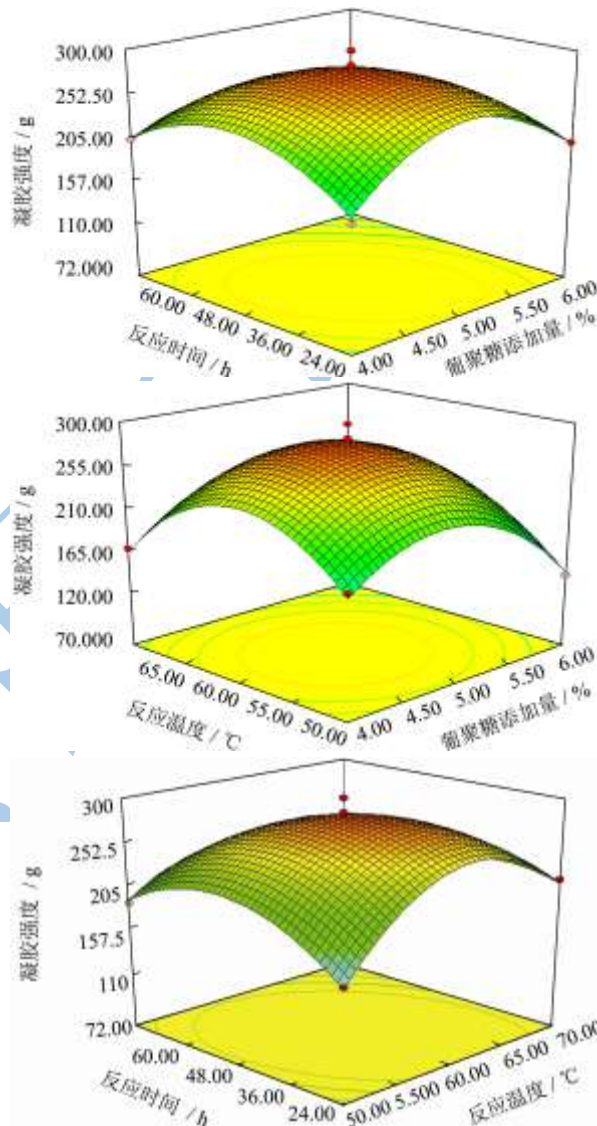


图 4 糖基化改性醇法大豆浓缩蛋白凝胶强度影响因素的响应面分析

Fig.4 Response surface analysis of influencing factors of gel strength of alcohol leaching soy protein concentrate

图 4 为回归方程的响应曲面及等高线图，由图可知当葡聚糖添加量、反应温度、反应时间固定在零水平，高凝胶强度集中在中心区域，最高可以达到 298.82 g。各因素在较低水平均对凝胶强度有促进作用，而在较高的水平下，产物的凝胶强度明显下降，这可能是由糖基化高级产物溶解性差、携带电荷多等因素所导致的。本试验结果表明各因素对凝胶强度的影响从大到小依次为：葡聚糖添加量、反应时间、反应温度。

糖基化反应受到多种因素的影响,其中反应物浓度和时间都是影响糖基化反应的关键因素^[6],这主要是反应浓度和反应时间影响糖基化程度,而糖基化程度对糖基化改性产物的功能性质具有决定性作用^[7],这将从糖基化程度与凝胶性的相关性分析中得到证实。

2.2.3 工艺的优化及模型的验证

利用软件 Design Expert 7.0.0 对糖基化改性提高醇法大豆浓缩蛋白凝胶性的工艺进行优化,最佳工艺参数为:葡聚糖添加量 4.87%、反应温度为 59.69 °C,反应时间为 44.53 h,凝胶强度可达 284.69%。为了验证响应面法的可靠性,对得到的最佳工艺条件进行验证实验,同时考虑到实际生产操作的便利性,确定葡聚糖添加量 4.9%、反应温度 60 °C,反应时间为 44.5 h 为最佳工艺条件,在这个优化条件下进行了 5 批次试验,平均凝胶强度为 286.72%。预测值与实测值误差在±1%以内,说明预测条件与实际较相符。采用响应面法优化得到的工艺条件参数准确可靠,按照建立的模型进行预测在实践中是可行的。

经糖基化改性的醇法大豆浓缩蛋白与未改性的醇法大豆浓缩蛋白相比,凝胶强度由 106.36 g/cm² 提高到 286.72%,是未改性的 2.69 倍。说明糖基化改性能显著提高醇法大豆浓缩蛋白的凝胶强度。

2.2.4 糖基化程度与凝胶性相关性分析

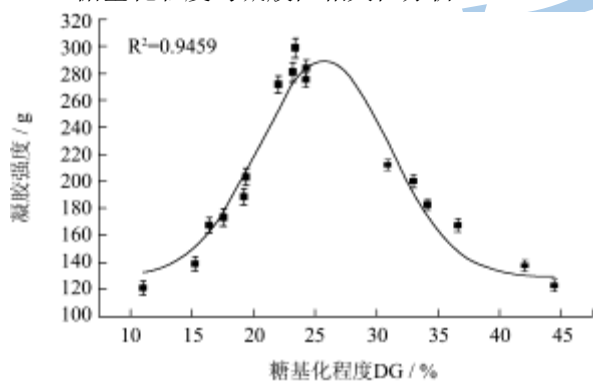


图5 糖基化程度与凝胶强度相关性分析

Fig.5 Correlation analysis between DG and gel strength

碳水化合物以共价键与蛋白质分子上氨基或羧基相结合的化学反应,称之为蛋白质的糖基化作用。多数食品中,蛋白质的赖氨酸的ε-氨基是主要的活性氨基的来源,组氨酸的咪唑基、色氨酸的吲哚基、精氨酸的胍基也能反应,其中赖氨酸、组氨酸、精氨酸都为亲水氨基酸,包裹在分子内部,有学者指出干热处理使蛋白质分子的构象发生改变,分子柔性增加,内部亲水基团暴露,有利于提高糖分子的与蛋白质的糖基化程度^[8]。为了进一步分析糖基化程度与凝胶性的关系,利用Origin 7.5对其关系进行函数拟合,结果见图5。根据图5中的拟合复相关系数R²的结果,可以认

为糖基化程度与凝胶性相关性符合Gaussian函数。当糖基化程度为25%时,糖基化产物的凝胶强度达到较高值。而当DG超过25%时,糖基化产物的溶解性、分子结构等将发生一系列复杂的变化,使得凝胶强度有所下降^[9]。这与孙鹏等人的大豆分离蛋白-麦芽糊精接枝聚合度的工艺研究结果相一致^[20]。

2.3 凝胶微观结构观察

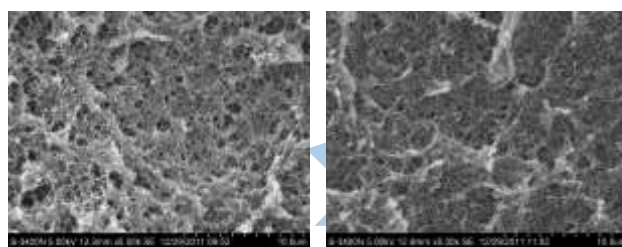


图6 未改性(左)和改性(右)醇法大豆浓缩蛋白凝胶微观结构图

Fig.6 Microstructures of the gel of unmodified (left) and modified (right) alcohol leaching soy protein concentrate

图6为5000倍放大倍数下醇法大豆浓缩蛋白凝胶扫描电镜图,未经改性的醇法大豆浓缩蛋白凝胶内部非常疏松,孔径很大且不均匀,结构酥松,呈现的是片层状结构,并没有形成交联结构。而糖基化改性的醇法大豆浓缩蛋白的凝胶结构致密,孔径较小。这主要是由于糖基化蛋白结构发生了变化,导致在凝胶网络形成过程中氢键、疏水和静电相互作用等各种作用力发生改变,整体上提高了形成三维网状结构的作用力,从而产生了致密凝胶网络结构^[11]。

3 结论

3.1 糖基化改性提高醇法大豆浓缩蛋白凝胶性的最佳工艺条件为:葡聚糖添加量4.9%、反应温度60 °C,反应时间为44.5 h,此条件下的醇法大豆浓缩蛋白的凝胶强度为286.72 g,是未改性的2.69倍。

3.2 糖基化程度与凝胶性相关性分析结果表明糖基化程度为25%时,糖基化产物的凝胶强度达到较高值。而当DG超过25%时,凝胶强度有所下降。

3.3 扫描电镜结果表明改性后的大豆浓缩蛋白的凝胶网络结构致密,孔径较小,从宏观上体现为凝胶硬度的提高。从分子水平上揭示了糖基化改性醇法大豆浓缩蛋白结构变化与凝胶性内在的联系。

3.4 此工艺反应成本低、工艺简便易行,可有效提高醇法大豆浓缩蛋白的凝胶强度,改善其在食品加工中的应用。

参考文献

- [1] K Surówka, D Żmudziński, J Surówka. Enzymic

- Modification of extruded soy protein concentrates as a method of obtaining new functional food components [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2004, 15: 153-160
- [2] Jeng-Yune Li, An-I Yeh, Kang-Lin Fan. Gelation characteristics and morphology of corn starch/soy protein concentrate composites during heating [J]. *Journal of Food Engineering*, 2007, 78: 1240-1247
- [3] Sun Y, Hayakawa S, Izumori K. Modification of ovalbumin with a rare ketohexose through the Maillard reaction: effect on protein structure and gel properties [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(5): 1293-1299
- [4] Dickinson E, Izgi E. Foam stabilization by protein-polysaccharide complexes [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 1996, 113(1-2): 191-201
- [5] Akhtar M, Dickinson E. Emulsifying properties of whey protein-dextran conjugates at low pH and different salt concentration [J]. *Colloids and Surfaces B: Bio interfaces*, 2003, 31(14): 125-132
- [6] Kato A, Shimokawa K, Kobayashi K. Improvement of the functional properties of insoluble gluten by pronase digestion followed by dextran conjugation [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1991, 39(6): 1053-1056
- [7] 许彩虹,于淑娟,杨晓泉.糖基化对大豆7S球蛋白凝胶流变性质的影响[J].*现代食品科技*,2010,26(12):1293-1296
- [8] Kato A, Sasaki Y, Furuta R. Functional protein-polysaccharide conjugate prepared by controlled dry-heating of ovalbumin-dextran mixtures [J]. *Agric Biol Chem.*, 1990, 54(1): 107-112
- [9] Vardhanabhuti, Foegeding, Matthew. Gelation properties of dispersions containing polymerized and native whey protein isolate [J]. *Food Hydrocolloids*, 2001, 15: 165-175
- [10] 刘燕,裘爱泳.大豆蛋白与多糖的接枝改性[J].*中国油脂*, 2006,31(1):39-41
- [11] S Bin Md Yasira, KH Sutton, MP Newberry, et al. The impact of Maillard cross-linking on soy proteins and tofu texture [J]. *Food Chemistry*, 2007, 104: 1502-1508
- [12] 龚加顺,幸治梅,彭春秀.高浓度魔芋葡甘聚糖与大豆分离蛋白混合凝胶质地特性研究[J].*食品科学*,2005,26(7):35-39
- [13] Handa A, Kuroda N. Functional improvements in dried egg white through the maillard reaction [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47: 1845-1850
- [14] Margoshes BA. Correlation of protein sulfhydryls with the strength of heat-formed egg white gels [J]. *Journal of Food Science*, 1990, 55: 1753-1753
- [15] Yeboah FK, Alli I, Yaylayan VA. Reactivities of D-glucose and D-fructose during glycation of bovine serum albumin [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47: 3164-3172
- [16] Chee-Yuen Gan, Lai-Hong Cheng, Azhar Mat Easa. Physicochemical properties and microstructures of soy protein isolate gels produced using combined cross-linking treatments of microbial transglutaminase and Mail lard cross-linking [J]. *Research International*, 2008, 6(41): 600-605
- [17] Alizadeh-Pasdar N, Li-Chan EC. Comparison of protein surface hydrophobic measured at various pH values using three different fluorescent probes [J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2000, 48(2): 328-334
- [18] Ames JM. The Maillard reaction. In: *Biochemistry of Food Proteins* [M]. Hudson BJB, Ed., Elsevier Science Publishers, 1992
- [19] A Ruqaiya M, Kasap is S, Abeysekera R. Structural properties of pectin-gelatin gels. Part II, effect of sucrose /glucose syrup [J]. *Carbohydrate Polymers*, 1997, 34(4): 309-321
- [20] 孙鹏,程建军,刘钊.大豆分离蛋白-麦芽糊精接枝聚合度的工艺优化[J].*食品与发酵工业*,2011,37(11):99-104
- [21] Xiaoyan Zhao, Jun Chena, Qingjun Zhua. Surface characterization of 7S and 11S globulin powders from soy protein examined by X-ray photoelectron spectroscopy and scanning electron microscopy [J]. *Colloids and Surfaces B: Bio interfaces*, 2011, (86):260-266