

# 大豆蛋白的热处理改性及热聚集行为研究进展

袁德保<sup>1</sup>, 李芬芳<sup>1</sup>, 杨晓泉<sup>2</sup>, 高志明<sup>2</sup>

(1. 中国热带农业科学院 海口实验站, 海南海口 570102) (2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 大豆蛋白的热处理改性有助于提高其功能特性及生物有效利用率, 从而拓宽其在食品工业中作为配料应用的范围。热处理主要通过大豆蛋白热聚集行为的影响, 从而达到影响大豆蛋白功能性质及生物有效利用率的目的。因此, 本文拟对大豆蛋白的热处理改性及大豆蛋白(包括大豆分离蛋白、大豆球蛋白及大豆伴球蛋白)的热聚集行为的研究进展进行综述。希望通过对上述方面的综述, 能为广大科研人员及企业生产单位提供一定的借鉴。

**关键词:** 大豆蛋白; 热处理; 热聚集

**文章篇号:** 1673-9078(2012)12-1829-1833

## The Progress of Heat Treatment and Heat-induced Aggregation of Soy Protein

YUAN De-bao<sup>1</sup>, LI Fen-fang<sup>1</sup>, YANG Xiao-quan<sup>2</sup>, GAO Zhi-ming<sup>2</sup>

(1. Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science (CATAS), Haikou 570102, China)

(2. College of Light industry and Food science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Soy protein modification by heat treatment is helpful to improve the functional properties and biological utilization rate, so as to broaden its application in the food industry as food ingredients. Heat treatments on soybean protein may affect its thermal aggregation behavior, thus modifying its functional properties and biological utilization rate. Therefore, this paper focused on the progress of soy protein modification by heat treatment and soy protein thermal aggregation behavior (including soy protein Isolates, soy globulin and soy  $\beta$ -conglycinin), providing some help for the number of scientific researchers and production corporations.

**Key words:** soy protein; heat treatment; heat-induced aggregation

大豆蛋白广泛应用于食品工业中, 但在现代食品加工中的应用受到一定的限制。一方面其功能性质还不能完全满足需求。另一方面, 大豆抗原蛋白对机体具有较强的免疫原性, 使大豆蛋白的消化率和生物效价大大降低。

热处理对大豆蛋白相关食品体系的主要作用包括: 杀菌、钝化抗营养因子、获得理想的功能特性。涉及热处理的单元操作如高温杀菌、巴氏杀菌、蒸煮等, 在大豆产品加工中应用普遍; 热处理能降低大豆蛋白的抗原性, 如有研究指出大豆球蛋白亚基聚合程度增加可以阻止IgG抗体与抗原决定簇发生反应<sup>[1]</sup>, 热处理同时能钝化一些抗营养因子, 如蛋白酶抑制因子, 从而提高消化率和生物效价; 热处理作为一种改性手段, 通过对大豆蛋白功能性的改善, 能拓宽其作为配

料的应用范围。综上, 可知, 热处理主要通过大豆蛋白热聚集行为的影响, 从而达到影响大豆蛋白功能性质及生物有效利用率的目的。因此, 本文将大豆蛋白的热处理改性及热聚集行为研究进展进行综述。

### 1 大豆蛋白的热处理改性

热处理是大豆蛋白制品加工中不可避免的单元操作, 如热杀菌、喷雾干燥等。热杀菌以及喷雾干燥对大豆分离蛋白及其制品的功能性质, 如溶解性、乳化性、稳定性等具有较大影响<sup>[2-3]</sup>。

目前对大豆蛋白的热处理改性有广泛的研究。热处理改性大豆伴球蛋白时, 乳化性(包括乳化活性和乳化稳定性)与表面疏水性指数呈线性相关<sup>[4]</sup>。80 °C和100 °C热处理改性大豆分离蛋白时, 组分的聚集程度、结构决定了其功能性, 通过控制热处理条件可以调控其功能性质<sup>[5]</sup>。适度的碱处理结合加热处理既能提高蛋白的功能性, 又能保全蛋白的营养不受损失, 如能将大豆分离蛋白的溶解性从47%提高到99.5%, 乳化指数从74提高到184 m<sup>2</sup>/g<sup>[6]</sup>。大豆蛋白原料经90 °C、10

收稿日期: 2012-09-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(21076087)

作者简介: 袁德保(1982-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向为农产品贮藏与加工

通讯作者: 杨晓泉

min热处理, 在Alcalase单酶水解情况下, 可提高大豆蛋白的水解度由26%提高到30.2%)<sup>[7]</sup>。60℃干热处理大豆蛋白可降低膜的水溶性、抗拉伸强度与氧气透过性, 提高膜的透光率<sup>[8]</sup>。

喷射蒸煮能提高豆浆得率并能更充分将胰蛋白酶抑制剂灭活<sup>[9]</sup>、减轻大豆制品如大豆酸乳酪的豆腥味<sup>[9]</sup>。喷射蒸煮对大豆蛋白的功能性质有较大的影响, 如能明显增加醇洗大豆浓缩蛋白的氮溶指数, 提高其起泡性和乳化性<sup>[10]</sup>, 使醇变性的大豆浓缩蛋白平坦的溶解度曲线变成类似天然蛋白典型的溶解性曲线<sup>[11]</sup>, 有效提高压榨豆粕蛋白提取率及其功能性如乳化性、起泡性等<sup>[12]</sup>。另外能够增加豆浆絮凝物对钙盐的忍受能力, 有助提高钙强化大豆乳类似物的分散稳定性<sup>[13]</sup>。Wang<sup>[14]</sup>认为喷射蒸煮改性机理为: 变性蛋白聚集体颗粒变小, 粘度增加、分散相和连续相之间的密度差减小, 从而使得蛋白质的溶解性或者分散性增大。

水处理改性产品具有远大于常规非变性蛋白(同样具有高NSI)的分子量, 使产品具有很好的可湿润性和复水性, 同时该产品具有与油脂良好的兼容性, 适合应用于油脂含量约为5% (m/m)的配方食品, 如粉末肉等。Zheng<sup>[15]</sup>发现水处理能较大程度提高醇洗大豆浓缩蛋白的氮溶指数及乳化性。叶荣飞<sup>[16]</sup>发现水处理能改善商用大豆分离蛋白的溶解性。

## 2 大豆蛋白的热聚集

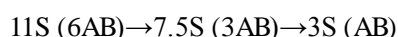
### 2.1 大豆分离蛋白的热聚集

低离子强度下, 大豆分离蛋白加热后浊度不会上升, 可能是因为能形成疏水键的氨基酸残基在分子表面有减少。离子强度增大后, 溶液会变浊, 可能是因为高离子强度下, 形成疏水键的氨基酸残基在加热作用下, 能从蛋白分子内部转移到了分子表面。大豆球蛋白分子在低于80℃下加热, 分子解聚成亚基形式, 加热温度高于80℃时, 亚基逐渐去折叠, 而当体系的离子强度增大时, 去折叠的亚基迅速聚集。高离子强度下, 大豆球蛋白转化为亚基的过程被抑制, 75~90℃的加热过程中, 聚集体形成。大豆分离蛋白加热后不会发生聚集沉淀现象说明大豆球蛋白和大豆伴球蛋白之间存在着相互作用, 生成了使前者稳定的结构或者使解聚后的碱性亚基可溶化, 而共存体系的加热试验证实了大豆球蛋白的碱性亚基与解离后的大豆伴球蛋白亚基之间形成了复合物。Utsumi<sup>[17]</sup>研究了热处理中大豆球蛋白和大豆伴球蛋白的相互作用。加热导致分子解离, 然后形成了分子量大于100万道尔顿的可溶性聚集体。二维电泳显示, 大的复合物主要是由大豆球蛋白的碱性亚基和大豆伴球蛋白的β亚基以及少量的

α、α'组成, 并认为β与碱性亚基之间有很强的静电相互作用, 因而具有很强的亲和性, 同时复合物中碱性亚基之间存在二硫键作用。在大豆分离蛋白凝胶形成中, β亚基与碱性亚基存在着优先的结合作用, 而β-大豆伴球蛋白的三个组成亚基都参与了可溶性聚集体的形成。Marshall<sup>[18]</sup>指出没有巯基乙醇存在时, 大豆球蛋白的DSC曲线上仅有一吸热峰, 当有巯基乙醇存在时, 在吸热峰后面, 紧跟着出现一个相对较小的放热峰。而放热峰的出现源于碱性亚基的聚集作用。在有大豆伴球蛋白存在情况下, 大豆球蛋白DSC曲线只呈现吸热峰(还原条件下)。大豆伴球蛋白加热后不会产生沉淀, 而添加大豆球蛋白添加后将会产生沉淀。对上清液和沉淀进行凝胶过滤和离子交换色谱分离以及电泳分析, 发现碱性亚基和β亚基通过非共价键作用富集于沉淀中, 而酸性亚基和αα'通过二硫键作用富集于上清液中。Li<sup>[19]</sup>发现离子强度的增加导致大豆蛋白加热后的浊度、聚集体组分含量、粒度都增加。将无盐条件下的热诱导聚集体中添加NaCl, 聚集体的尺寸进一步增大。Tsukada<sup>[20]</sup>发现随着吸附水的减少, 大豆蛋白的热变性温度逐渐增大。Tay<sup>[21]</sup>发现预热处理后的大豆11S、7S和2S的聚集行为时发现, GDL诱导形成聚集体的大小和速度不一致。11S形成了最大的聚集体, 2S次之, 7S最小。三者形成聚集体的速度为11S>2S>7S。Keerati-U-Ra<sup>[22]</sup>发现动态超高压均质处理增加了大豆伴球蛋白和大豆球蛋白的热变性温度。导致β-大豆伴球蛋白的聚集体浓度下降, 而使大豆球蛋白、大豆分离蛋白的聚集体尺寸变大。Inouye<sup>[23]</sup>发现枯草芽孢杆菌蛋白酶酶解得到的大豆球蛋白水解物的热诱导聚集能力强, 且在80℃时聚集程度最高。Kuipers<sup>[24]</sup>发现大豆分离蛋白的水解液中, 来源于大豆球蛋白的水解多肽易聚集沉淀, 而β-大豆伴球蛋白水解物具有抑制大豆球蛋白水解物聚集的作用。

### 2.2 大豆球蛋白的热聚集

大豆球蛋白具有依赖pH值和离子强度的可逆解离/缔合的倾向。蔗糖梯度离心发现pH 7.6、低离子强度为(0.01)时, 大豆球蛋白有两种存在形式: 7S-F和11S-F, 其中7S-F为11S-F的解聚形式。7S形式的大豆球蛋白具有比11S形式更低的热变性温度。在pH 7.6, 离子强度由0.5降到0.03时, 大豆球蛋白逐步解离, 碱性亚基向分子表面移动, 影响着分子的溶解性<sup>[25]</sup>。



SDS将11S直接解聚成2S, 而尿素和盐酸胍先将11S解聚成7S和4S, 然后再进一步解聚成2S。

在有变性剂如尿素或SDS存在情况下, 当二硫键被还原时, 11S蛋白发生完全解离<sup>[26]</sup>: (AB)→A+B

大豆球蛋白在离子强度为0.1和0.5时,热变性温度分别为78.1℃和89.6℃。大豆球蛋白对低离子强度下的热处理敏感,80℃时首先解聚成亚基,然后碱性亚基聚集形成沉淀<sup>[27]</sup>。在高离子强度时,大豆球蛋白90℃时会分解成亚基,温度继续升高时,亚基的构象会进一步发生改变。pH 7.6、离子强度为0.5时,热处理后酸性亚基富集于上清液中,碱性亚基富集在沉淀中。酸性亚基主要是以单体和三聚体形式存,部分以低聚物(四聚体以及六聚体)形式存在<sup>[32]</sup>,形成的聚集体能被SDS解聚。Mori<sup>[28]</sup>发现0.5% (m/V)和5% (m/V)的大豆球蛋白加热1 min (100℃)时,生成了800万道尔顿的可溶性聚集体。0.5%的样品继续加热时,可溶性聚集体完全解聚成酸性亚基和碱性亚基。5%的样品继续加热时,聚集体进一步增大,加热5 min后形成了凝胶,证实可溶性聚集体是大豆球蛋白成胶过程的瞬间中间物。

pH从11调到6时,大豆球蛋白变性温度会增加10℃。pH值从7.6变成3.8时,大豆球蛋白从11S形式变成7S形式,同时伴随着二级结构及三级结构的明显变化。Wolf<sup>[29]</sup>通过凝胶色谱研究发现15S球蛋白是大豆球蛋白(11S)的二聚体。在酸性pH下,含有大量分子间二硫键且带大量正电荷的大豆球蛋白亚基会诱导六聚体向三聚体转变。碱性亚基指导大豆球蛋白的聚合生成三聚体,而修饰后的碱性亚基往往能够阻止大豆球蛋白亚基聚合成三聚体,对酸性亚基的修饰不具上述作用<sup>[30]</sup>。

大豆球蛋白贮藏于RH 96%、温度为50℃的环境中,通过二硫键形成了聚集体,从而导致其分散性不断下降。封闭游离巯基后,大豆球蛋白不会热絮凝沉淀。生成的可溶性聚集体为58S~67S。封闭游离巯基抑制了酸性亚基的释放和碱性亚基的暴露,从而阻止了沉淀的生成<sup>[31]</sup>。同时紫外二级衍生图谱和荧光光谱说明,NEM对大豆球蛋白巯基的封闭能够保护其疏水基团不至于因为加热而暴露于亲水环境中,从而使得分子加热后依然能维持其刚性构象<sup>[32]</sup>。

Wang<sup>[33]</sup>认为天然状态下大豆球蛋白主要是以 $\beta$ -折叠和无规结构为主。加热温度为20~60℃时,大豆球蛋白的构象(高 $\beta$ -折叠含量和低 $\alpha$ -螺旋含量)几乎没有变化,温度超过80℃时, $\beta$ -折叠含量显著下降,无规线团含量相应增加。加热至95℃,大多数 $\beta$ -折叠依然被保留。FTIR酰胺1区1635波长的增加意味着大豆球蛋白热聚集过程中分子间 $\beta$ -折叠的氢键加强。核磁共振光谱证实大豆球蛋白富含Gln和Glu残基的高可变区中具有氢键结构的 $\alpha$ -螺旋区域,加热到95℃时消失。亚基组分I (A<sub>1a</sub>B<sub>1b</sub>、A<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>、A<sub>1b</sub>B<sub>2</sub>)、组分II a (A<sub>5</sub>A<sub>4</sub>B<sub>3</sub>)和组分II b

(A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>)三者加热后的 $\alpha$ -螺旋的含量下降而 $\beta$ -折叠含量增加,组分II a和II b疏水性增加程度要大于组分I。在热凝胶过程中,大豆球蛋白在冷却阶段存在部分重折叠的过程。通过控制蛋白的重折叠程度,可以用来提高球蛋白的凝胶性<sup>[34]</sup>。

大豆球蛋白有限酶解后,内部非极性残基暴露使其表面疏水性指数增大,从而导致了聚集<sup>[35]</sup>。Kuipers<sup>[36]</sup>发现源于大豆球蛋白的枯草杆菌蛋白酶、胰凝乳酶、木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶解产物具有更强的聚集能力。酶解后导致疏水基团的暴露,从而形成了更强的聚集驱动力。同时采用累计-定量肽指纹图谱(accumulative-quantitative peptide mapping)方法对聚集肽在大豆球蛋白中的区域进行了定位,发现碱性多肽链以及连接酸性多肽链与碱性多肽链二硫键附近的酸性亚基区域,都是聚集肽的集中区域<sup>[37]</sup>。

### 2.3 大豆伴球蛋白的热聚集

pH值和离子强度影响 $\beta$ -大豆伴球蛋白的聚集形式(见图1)。中性pH和高离子强度(I>0.5)下或是pH<4.8时以7S形式存在;pH4.8~11、低离子强度下(I<0.2)以9S形式存在,极低离子(I<0.01)下还可以解离出 $\alpha'$ -亚基<sup>[38]</sup>。 $\beta$ -大豆伴球蛋白的二聚体(9S)的分子量大约是37万道尔顿。

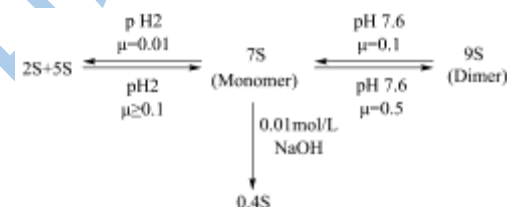


图1  $\beta$ -大豆伴球蛋白的解离和聚集

Fig.1 The dissociation and association of  $\beta$ -conglycinin

离子强度对 $\beta$ -大豆伴球蛋白聚集体的形成影响较大。超速离心结果显示,高离子强度下, $\beta$ -大豆伴球蛋白对热处理敏感,直接生成聚集体。Wang<sup>[39]</sup>指出超声易诱导 $\beta$ -大豆伴球蛋白形成聚集体,相比低离子强度,高离子强度下更明显。

$\beta$ -大豆伴球蛋白贮藏于相对湿度为96%、50℃环境中,其分散性一段时间后下降。凝胶过滤显示贮藏中蛋白发生了聚合<sup>[40]</sup>。NEM封闭 $\beta$ -大豆伴球蛋白游离巯基后,其贮藏中的湿诱导不溶性聚集体得到明显抑制。证明巯基-二硫键交换反应以及巯基氧化作用存在其聚合反应中。组成亚基所起的作用不一样,如 $\alpha$ 和 $\alpha'$ 通过二硫键连接形成了二聚体引发了贮藏中 $\beta$ -大豆伴球蛋白不溶性聚合体的形成,而 $\beta$ 未见参与<sup>[41]</sup>。Nakamura<sup>[42]</sup>指出含有 $\beta$ -亚基的 $\beta$ -大豆伴球蛋白短时内加热时,能形成更大的聚集体。

热诱导 $\beta$ -大豆伴球蛋白构象变化过程,CD和FTIR

结果显示 $\beta$ -大豆伴球蛋白65 °C开始变性,75 °C变性基本结束,继续加热 $\beta$ -折叠结构含量不再增加<sup>[43]</sup>。

Iwabuchi<sup>[44]</sup>发现大豆伴球蛋白在87 °C时约有80%的变性程度。冷却过程能诱导解聚单体去折叠结构的重折叠,但是不能重新获得其三级结构。证明亚基的热解聚是不可逆的,而热解聚亚基的去折叠是可逆的。紫外扫描二级衍生结果表明热处理后依然有接近60~70%埋藏在天然蛋白内部的苯丙氨酸和酪氨酸未暴露,荧光扫描结果表明色氨酸残基微环境变得更加疏水<sup>[45]</sup>。

### 3 结语

蛋白质的热聚集是目前的一个研究热点,其与蛋白质在食品体系中的应用密切相关。对蛋白质聚集机制的了解有助于我们对食品体系聚集行为的控制,比如在饮料等需要避免聚集的体系中减少聚集体的形成,在豆腐等需要聚集产生的食品体系中促进聚集体的形成。大豆蛋白热处理中的聚集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以及拓宽大豆蛋白作为配料的应用范围。

### 参考文献

- [1] Ogawa A, Samoto M and Takahashi K. Soybean allergens and hypoallergenic soybean products [J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2000, 46:271-279
- [2] van de Ven C, Courvoisier C and Matser A. High pressure versus heat treatments for pasteurisation and sterilisation of model emulsions [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2007, 8:230-236
- [3] Hu XZ, Cheng YQ, Fan JF, et al. Effects of drying method on physicochemical and functional properties of soy protein isolates [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2010, 34: 520-540
- [4] Kato A, Osaka Y, Matsudomi N, et al. Changes in the emulsifying and foaming properties of proteins during heat denaturation [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1983, 47: 33-37
- [5] Sorgentini DA, Wagner JR. Effects of thermal treatment of soy protein isolate on the characteristics and structure-function relationship of soluble and insoluble fractions [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43: 2471-2479
- [6] Wu W, Hettiarachchy NS, Kalapathy U, et al. Functional properties and nutritional quality of alkali and heat-treated soy protein isolate [J]. *Journal of Food Quality*, 1999, 22: 119-133
- [7] 班玉凤,朱海峰,关纳新.热处理对大豆蛋白酶解性能的影响 [J].*现代食品科技*,2005,21(1):72-77
- [8] 张民,秦培军,刘丁玉.大豆分离蛋白成膜工艺优化[J].*现代食品科技*,2011,27(4):404-407
- [9] Johnson LA, Deyoe CW, Hoover WJ. Yield and quality of soy milk processed by steam-infusion cooking [J]. *Journal of Food Science*, 1981, 46: 239-243
- [10] Pravate T, Larry EE, Daniel YCF, et al. Sensory analysis of soy yogurt and frozen soy yogurt produced from rapid hydration hydrothermal cooked soy milk [J]. *Journal of Food Quality*, 1993, 16: 223-239
- [11] Wang H, Wang T, Johnson LA. Refunctionalization of extruded-expelled soybean meals [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2004, 81: 789-794
- [12] Wang C, Johnson LA. Functional properties of hydrothermally cooked soy protein products [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2000, 78: 189-195
- [13] Wang H, Wang T, Johnson LA. Effect of alkali on the refunctionalization of soy protein by hydrothermal cooking [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2005, 82: 451-456
- [14] Wang C, Johnson LA, Wilson LA. Calcium coagulation properties of hydrothermally processed soy milk [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2003, 80: 1225-1229
- [15] Zheng HG, Yang XQ, Tang CH. Preparation of soluble soybean protein aggregates (SSPA) from insoluble soybean protein concentrates (SPC) by hydrothermal cooking and its functional properties [J]. *Food Research International*, 2008, 41: 154-164
- [16] 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
- [17] Utsumi S, Kinsella JE. 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: 297-303
- [18] Marshall WM, Zarins ZM. Exothermic transitions of glycinin determined by differential scanning calorimetry [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1989, 37: 869-873
- [19] Li XH, Cheng YH, Yi CP, et al. Effect of ionic strength on the heat-induced soy protein aggregation and the phase separation of soy protein aggregate/dextran mixtures [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23: 1015-1023
- [20] Tsukada H, Takano K, Hattori M, et al. Effect of sorbed water on the thermal stability of soybean protein [J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2006, 70: 2096-2103
- [21] Tay S L, Xu GQ, Perera CO. Aggregation profile of 11S, 7S and 2S coagulated with GDL [J]. *Food Chemistry*, 2005, 91:

- 457-462
- [22] Keerati-U-Rai M, Corredig M. Effect of dynamic high pressure homogenization on the aggregation state of soy protein [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57: 3556-3562
- [23] Inouye K, Nakano K, Asaoka K, et al. Effects of thermal treatment on the coagulation of soy proteins induced by Subtilisin Carlsberg [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57: 717-723
- [24] Kuipers BJH, Koningsveld GAV, Alting AC, et al. Opposite contributions of glycinin- and  $\beta$ -conglycinin-derived peptides to the aggregation behavior of soy protein isolate hydrolysates [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2006, 1: 178-188
- [25] Utsumi S, Nakamura T, Harada K, et al. Occurrence of dissociable and undissociable soybean glycinin [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1987, 51: 2139-2144
- [26] Lakemond CMM, de Jongh HHJ, 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: 1985-1990
- [27] Chandra BRS, Prakash V, Rao MSN. Association-dissociation of glycinin in urea, guanidine hydrochloride and sodium dodecyl sulphate solutions [J]. *Journal of Biosciences*, 1985, 9: 177-184
- [28] Mori T, Nakamura T, Utsumi S. Gelation mechanism of soybean 11S globulin: Formation of soluble aggregates as transient intermediates [J]. *Journal of Food Science*, 1981, 47: 26-30
- [29] Wolf WJ, Nelsen TC. Partial purification and characterization of the 15S globulin of soybeans, a dimer of glycinin [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44: 785-791
- [30] Dickinson CD, Scott MP, Hussein EHA, et al. Effect of structural modifications on the assembly of a glycinin subunit [J]. *Plant Cell*, 1990, 2: 403-413
- [31] Yamagishi T, Yamauchi F, Shibasaki K. Electrophoretical and differential thermal analysis of soybean 11S globulin heated in the presence of N-Ethylmaleimide [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1981, 45: 1661-1668
- [32] Yamagishi T, Yamauchi F, Shibasaki K. State of aromatic amino acid residues in soybean 11S globulin heated in the presence of N-Ethylmaleimide by derivative spectrophotometry [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1981, 45: 459-467
- [33] Wang CH, Damodaran SJ. Thermal gelation of globular proteins: Influence of protein conformation on gel strength [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1991, 39: 433-438
- [34] Damodaran S. Refolding of thermally unfolded soy proteins during the cooling regime of the gelation process: Effect on gelation [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1988, 36: 262-269
- [35] Creusot N, Gruppen H. Enzyme-induced aggregation and gelation of proteins [J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25: 597-601
- [36] Kuipers BJH, Alting AC, Gruppen H. Comparison of the aggregation behavior of soy and bovine whey protein hydrolysates [J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25: 606-610
- [37] Kuipers BJH, Gruppen H. Identification of strong aggregating regions in soy glycinin upon enzymatic hydrolysis [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56: 3818-3827
- [38] Thanh VH, Shibasaki K. Beta-conglycinin from soybean proteins. Isolation and immunological and physicochemical properties of monomeric forms [J]. *Acta Biochem. Biophys*, 1997, 490: 370-384
- [39] Wang LC, Wolf WJ. Soybean protein aggregation by sonication: Ultracentrifugal analysis [J]. *Journal of Food Science*, 1983, 48: 1260-1264
- [40] Hoshi Y, Yamauchi F, Shibasaki K. Effects of relative humidity on aggregation of soybean 7S and 11S globulin [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1982, 46: 1513-1517
- [41] Hoshi Y, Yamauchi F and Shibasaki K. On the role of disulfide bonds in polymerization of soybean 7S globulin during storage [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1982, 46: 2803-2807
- [42] Nakamura T, Utsumi S, Mori U. Mechanism of heat-induced gelation and gel properties of soybean 7S globulin [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1986, 50: 1287-1293
- [43] Nagano T, Akasaka T, Nishinari K. Study on the heat-induced conformational changes of  $\beta$ -conglycinin by FTIR and CD analysis [J]. *Food Hydrocolloids*, 1995, 9: 83-89
- [44] Iwabuchi S, Watanabe H, Yamauchi F. Thermal denaturation of  $\beta$ -conglycinin. Kinetic resolution of reaction mechanism [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1991, 39: 27-33
- [45] Yamagishi T, Ebina F and Yamauchi F. Analysis of the state of aromatic amino acid residues in heated soybean 7S globulin by absorption derivative spectrophotometry and spectrofluorimetry [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1982,

现代食品科技