doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2021.08.039

均质/加热条件下组分缺失型原料豆乳理化特性研究

吴海波[1,2]　张　麒[1,3]　邱　硕[4]　黎冬梅[1]　张茵茵[1]　江　龙[1]

(1.北部湾大学食品工程学院,钦州 535011;2.北部湾大学钦州市特色果蔬发酵重点实验室,钦州 535011;
3.广西大学轻工与食品工程学院,南宁 530004;4.东北农业大学食品学院,哈尔滨 150030)

摘要:为探究脂氧酶缺失型大豆品种东富 3、7S 球蛋白缺失型大豆品种东富 2 为原料生产的豆乳理化性质,以普通大豆品种黑农 64 为对照,分别探究均质(80 MPa)、加热工艺(95℃、25 min)对 3 种原料豆乳理化性质的影响。结果显示未均质加热前,东富 3 生豆乳的蛋白溶解度、游离巯基含量在 3 种豆乳中最高,平均粒径、浊度、粘度、离心沉淀率最低;东富 2 生豆乳的蛋白溶解度、游离巯基含量显著低于正常品种黑农 64 生豆乳($p<0.05$),平均粒径、浊度、粘度、离心沉淀率显著大于黑农 64 生豆乳($p<0.05$),即生豆乳中东富 3 物理稳定性最高,东富 2 物理稳定性最低。均质后,所有豆乳的蛋白溶解度、游离巯基含量均增加,平均粒径、浊度、粘度均降低。东富 2 和黑农 64 豆乳均质后离心沉淀率显著下降($p<0.05$),而东富 3 豆乳离心沉淀率与均质前无显著差异($p>0.05$),但物理稳定性仍然最高,东富 2 均质豆乳物理稳定性仍最低。加热后 3 种豆乳的蛋白溶解度、平均粒径、粘度均增加,而游离巯基含量、离心沉淀率均下降,较与均质,加热对豆乳物理稳定性提升效果更显著($p<0.05$)。加热后东富 3 豆乳平均粒径和离心沉淀率仍然最低,尽管受热后东富 2 豆乳粒径增加幅度大于其他 2 个品种,但较高的粘度使其离心沉淀率下降程度最大,物理稳定性优于加热后的黑农 64 豆乳。豆乳微观结构图显示均质、加热前后 3 种豆乳油滴尺寸变化与粒径结果一致。

关键词:脂氧酶缺失型大豆;7S 球蛋白缺失型大豆;豆乳;均质;加热;理化特性

中图分类号:TS214.2　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1000-1298(2021)08-0374-12　　**OSID**:

Physicochemical Properties of Soymilk Prepared from Component Deficient Soybean under Homogenization or Heating Conditions

WU Haibo[1,2]　ZHANG Qi[1,3]　QIU Shuo[4]　LI Dongmei[1]　ZHANG Yinyin[1]　JIANG Long[1]

(1. *College of Food Engineering, Beibu Gulf University, Qinzhou* 535011, *China*
2. *Qinzhou Key Laboratory of Characteristic Fruits and Vegetables Fermentation, Beibu Gulf University, Qinzhou* 535011, *China*
3. *College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning* 530004, *China*
4. *College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin* 150030, *China*)

Abstract: To investigate physicochemical properties of soymilk made from soybean varieties with special protein composition, the effect of homogenization (80 MPa) and heating (95℃ for 25 min) on physicochemical characteristics of soymilk prepared respectively from soybean genotype lacking lipoxygenase (Dongfu 3) and soybean lacking 7S globulin (Dongfu 2) was studied with ordinary soybean variety of Heinong 64 as control. The result showed that raw soymilk made from Dongfu 3 soybean null in lipoxygenase showed higher protein solubility, free sulfydryl group content and lower average particle size, turbidity, apparent viscosity, centrifugal precipitation percent than the other varieties evaluated before homogenization and heating, but raw soymilk prepared from Dongfu 2 soybean lacking 7S showed the lowest protein solubility, free sulfydryl group content and highest average particle size, turbidity, apparent viscosity, centrifugal precipitation percent, which meant the physical stability of Dongfu 3 raw soymilk was the highest and Dongfu 2 raw soymilk was the lowest among the all varieties evaluated before homogenization and heating. After homogenization, the protein solubility, free sulfhydryl content of all soymilk was increased, and the average particle size, turbidity and viscosity were decreased. Centrifugal

收稿日期:2021-03-20　修回日期:2021-05-21

基金项目:广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA294067、2020GXNSFAA259027)和广西大学生创新创业训练计划项目(201911607108、201911607109)

作者简介:吴海波(1975—),女,研究员,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail:haibowu202111@163.com

precipitation percent of Dofu 2 and Heinong 64 soymilk was reduced significantly after homogenization ($p < 0.05$). Though there was no significant difference in the centrifugal sedimentation percent between the homogenized and unhomogenized Dongfu 3 soymilk ($p > 0.05$), the physical stability of DongFu 3 soymilk was still the highest and Dongfu 2 soymilk was the lowest after homogenization. After heating, the protein solubility, average particle size, turbidity and apparent viscosity of three varieties of soymilk were increased, while the free sulfhydryl group content and centrifugal precipitation percent were decreased. Although both heating and homogenization had a marked effect on the increase in the protein solubility and decrease in the centrifugal precipitation percent of soymilk, heating more significantly improved the protein solubility and physical stability of soymilk compared with homogenization ($p < 0.05$). The average particle size and centrifugal precipitation percent of Dongfu 3 soymilk were still the lowest after heating. Although the average particle size of Dongfu 2 soymilk was increased more significantly than that of Dongfu 3 and Heinong 64 after heating, higher apparent viscosity contributed to the great reduction of the centrifugal precipitation percent so that the physical stability of heated Dongfu 2 soymilk was more superior than that of heated Heinong 64. Confocal fluorescence micrographs showed the oil droplet size distributions of three varieties soymilk were consistent with the result of particle size before and after homogenization and heating.

Key words: soybean lacking lipoxygenase; soybean lacking 7S globulin; soymilk; homogenization; heating; physicochemical properties

0　引言

豆乳是大豆经浸泡、磨浆、过滤、煮浆、均质等工艺制备而成的植物蛋白基液体饮料，其保留了大豆中的主要营养成分和生物活性物质，如蛋白质、脂肪、维生素、异黄酮、多酚、皂苷、低聚糖等[1-2]，使其具有抗氧化、降血压、降低胆固醇、预防心脏病等功能作用[3-4]，且豆乳中不含胆固醇和乳糖[5]，因此一直以来深受消费者喜欢。

作为乳液体系，豆乳易出现脂肪上浮、蛋白沉淀等物理不稳定现象，从而导致品质下降。大豆蛋白不仅是豆乳的主要营养成分之一，而且对豆乳的乳化性和物理稳定性有重要作用[6]。按沉降速率不同，大豆蛋白分为 2S、7S、11S 和 15S 共 4 个组分。其中 11S(大豆球蛋白)和 7S(β-伴大豆球蛋白)是大豆蛋白中主要的两种组分，占总蛋白的 70% 左右，决定大豆蛋白的主要功能性质[7]。11S 球蛋白是一个六聚体，它由 6 个酸性亚基和 5 个碱性亚基组成，各酸性和碱性亚基间通过二硫键连接[6,8]。7S 球蛋白是一个三聚体的糖蛋白，由 α′、α 和 β 共 3 个亚基组成，各亚基间通过疏水作用结合[9-11]。由于 11S 和 7S 球蛋白结构、氨基酸组成的不同，二者在功能性质和加工特性方面存在许多差异，导致不同 7S/11S 比例组成的大豆蛋白功能性质的不同[7,10-14]。11S 球蛋白含有较多疏水性氨基酸，热变性温度高，受热后发生强烈聚集，形成可溶性或不溶性聚集体；7S 球蛋白中疏水性氨基酸含量和热变性温度均低于 11S 球蛋白，受热后尽管发生聚集，但聚集程度低，形成可溶性聚集体[7,10-12]。豆乳是由大豆中的蛋白质、脂肪、碳水化合物、无机盐等与水共同乳化形成的胶体体系，其中起乳化作用的主要物质是蛋白质，因此原料中 7S、11S 含量会影响豆乳的理化性质。另外，广泛存在于普通大豆品种中的脂氧酶不仅会使豆乳产生豆腥味[15-16]，而且还会促使大豆蛋白发生聚集[17-18]，因此可以推测原料中脂氧酶的存在或缺失可能会引起豆乳理化性质的差异。但目前更多的豆乳研究主要集中于加工工艺对豆乳品质的影响，如煮浆温度和煮浆方式[19-21]、均质条件等[19-20,22]，而对于原料大豆中蛋白组分不同，特别是蛋白组分缺失对豆乳理化性质影响的研究较少。尽管目前有部分关于 7S、11S 大豆蛋白功能性质的研究[7,10,23-24]，但不同于简单的纯品蛋白溶液，豆乳成分复杂，除蛋白外，还含有脂肪、无机盐、碳水化合物等，这些成分在均质、加热等豆乳加工过程中彼此相互作用，共同影响豆乳品质，因此不能单纯地用蛋白性能推测豆乳性质。近些年一些特殊大豆品种，如 7S 球蛋白缺失型、脂氧酶缺失型大豆品种的培育和种植，为豆乳生产提供了更丰富的原料来源，但目前针对这些组分缺失型原料豆乳的研究常局限于风味的测试而非理化性能研究[15-16]，从而限制了这些大豆品种作为食品专用原料的应用与推广。

本文分别采用 7S 球蛋白缺失型大豆品种东富 2、脂氧酶缺失型大豆品种东富 3 为原料制备豆乳，同时以普通大豆品种黑农 64 为对照，分别考察均质、加热处理对 3 种豆乳理化性质的影响，从而明晰东富 2、东富 3 豆乳在加工过程中的性质变化，为选择适宜商业豆乳加工的大豆品种和针对特殊蛋白组

成原料大豆制定适宜的豆乳加工条件提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验原料

东富 2(7S 球蛋白缺失型)大豆、东富 3(脂氧酶完全缺失型)大豆由黑龙江省绿色食品科学研究院提供,黑农 64 大豆由黑龙江省农业科学院提供。

十二烷基硫酸钠(SDS),北京博奥拓达科技有限公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris)、乙二胺四乙酸(EDTA)、甘氨酸、β-巯基乙醇、丙烯酰胺、N,N′-甲叉双丙烯酰胺、四甲基乙二胺(TEMED)、过硫酸铵(AP)、考马斯亮蓝 R-250、5,5′-二硫双-2-硝基苯甲酸(DTNB)、蛋白 Marker,北京索莱宝科技有限公司;8-苯胺基-1-萘磺酸(ANS),Sigma 公司。

1.1.2 实验仪器

九阳 Y917 型破壁料理机,中国九阳股份有限公司;DYCZ-24EN 型双垂直电泳仪,北京六一公司;TU-1901 型双光束紫外分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;Kjeltec 8400 型全自动定氮仪,丹麦福斯分析仪器公司;哈克 MARS Ⅲ 型流变仪,德国哈克公司;Zetasizer Nano-ZS 型纳米粒度电位仪,英国马尔文公司;F-4500 型荧光分光光度计,日本 HITACHI 公司;V10i 型激光共聚焦显微镜,日本 OLYMPUS 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大豆原料中基本成分测定

蛋白含量测定参照 GB 5009.5—2016;脂肪含量测定参照 GB 5009.6—2016;含水率测定参照 GB 5009.3—2016;灰分含量测定参照 GB 5009.4—2016。

1.2.2 大豆分离蛋白提取

参照文献[25]方法并稍作修改。将大豆粉碎、过筛,并经正己烷脱脂,得到的脱脂豆粉按液料比 10 mL/g 溶于水中,用 1 mol/L NaOH 调 pH 值至 8.5,搅拌 1 h,10 000 r/min 离心 20 min,取上清液,然后用 1 mol/L HCl 调节 pH 值至 4.5,静止放置 30 min 后10 000 r/min 离心 10 min,收集到的沉淀水洗 3 次后,溶于少量水中用 1 mol/L NaOH 调 pH 值至 7.0。预冻后进行冷冻干燥得到大豆分离蛋白(SPI),用于蛋白组成成分分析。

1.2.3 大豆蛋白组成成分测定

采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)实验分析大豆原料中蛋白组成。参照文献[26]并稍作修改,浓缩胶和分离胶质量分数分别为 5% 和 12%,将 1.2.2 节提取的大豆蛋白溶解于缓冲溶液中(1% SDS,2% 的 β-巯基乙醇,5% 甘油,0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲溶液,0.02% 溴酚蓝)制成 1 mg/mL 蛋白样品溶液,煮沸 5 min 后上样,上样量为 5 μL,当蛋白样品位于浓缩胶时电压为 80 V,样品运动至分离胶时电压调至 120 V。电泳结束后用考马斯亮蓝 R-250 充分染色,彻底脱色后,用 Image Lab 软件进行扫描,分析蛋白中各亚基组分的相对含量。

1.2.4 生豆乳制备

参照文献[6]稍作修改,将各品种大豆用 10 倍水浸泡 12 h 后,过滤多余水分,计算大豆所吸水量,按液料比 23 mL/g 添加额外所需的豆乳制备用水量,然后用破壁机粉碎 4 min,经纱布过滤 3 次制得生豆乳。

1.2.5 豆乳均质处理

将 1.2.4 节制备的生豆乳在 80 MPa 压力条件下均质 1 次[19]。

1.2.6 豆乳加热处理

参照文献[27]稍作修改,将 1.2.4 节制备的生豆乳 95℃水浴加热 25 min 后,立即置于冰水中冷却至室温(20℃)。

1.2.7 豆乳蛋白溶解度测定

参照文献[20]稍作修改。将豆乳在 25℃、10 000 r/min 离心 10 min。采用凯氏定氮法测定上清液中蛋白含量和豆乳中总蛋白含量,豆乳蛋白溶解度计算公式为

$$S = P_1 / P \times 100\% \tag{1}$$

式中 S——蛋白溶解度,%

P_1——上清液中溶解的蛋白质量,g

P——豆乳样品中总蛋白质量,g

1.2.8 豆乳粒径测定

参照文献[28]方法并稍作修改,将豆乳用去离子水稀释 300 倍,利用纳米粒度电位仪测定豆乳粒径分布与平均粒径,其中蛋白折射率为 1.451,水折射率为 1.330。

1.2.9 豆乳浊度测定

参照文献[29]方法并稍作修改,将豆乳用去离子水稀释 40 倍,采用紫外分光光度计于 600 nm 处测吸光度。浊度计算公式为

$$T = 1.302 V A_{600} / I \tag{2}$$

式中 T——浊度,cm^{-1}

V——稀释倍数

A_{600}——豆乳样品稀释液在 600 nm 处的吸光度

I——光程差,取 1 cm

1.2.10 游离巯基含量测定

参照文献[30]的 Ellman 试剂法。将豆乳稀释

至蛋白质量浓度 1 mg/mL，取 1 mL 豆乳稀释液，加 4 mL 的Tris－甘氨酸缓冲液（0.086 mol/L Tris、0.09 mol/L 甘氨酸、4 mmol/L EDTA，pH 值 8.0）和 0.05 mL 的DTNB 试剂（4 mg/mL），25℃条件下反应 15 min，采用紫外分光光度计在 412 nm 波长处测吸光度，以不加 DTNB 的豆乳样品为空白，豆乳中游离巯基含量计算公式为

$$F = 73.53DA_{412}/C \quad (3)$$

式中　F——游离巯基质量摩尔浓度，μmol/g

D——豆乳样品稀释系数

A_{412}——加 DTNB 豆乳样品与不加 DTNB 豆乳样品在 412 nm 处吸光度差值

C——豆乳样品的蛋白质质量浓度，mg/mL

1.2.11　豆乳流变性质测定

参照文献[27]方法并稍作修改，采用旋转流变仪测定豆乳流变性质。将适量豆乳置于流变仪测试台上，测试温度为 25℃，测量平盘直径 35 mm，夹缝间隙 1 mm，考察豆乳样品在剪切速率 10 ~ 250 s^{-1} 条件下的流变特性。

1.2.12　豆乳物理稳定性测定

豆乳的物理稳定性用离心沉淀率表达。具体测定方法参照文献[22]，取 50 mL 豆乳置于离心管中，3 000 r/min 离心 45 min，倒出上清液，称取沉淀物质量，离心沉淀率计算公式为

$$W = M_1/M \times 100\% \quad (4)$$

式中　W——离心沉淀率，%

M_1——离心后获得沉淀的质量，g

M——离心前豆乳样品总质量，g

1.2.13　豆乳微观结构

参照文献[29]方法，25℃条件下，采用激光共聚焦显微镜观察豆乳微观结构，各取 20 μL 尼罗红异丙醇染色液（1 mg/mL）和尼罗蓝异丙醇染色液（10 mg/mL）加入 0.5 mL 豆乳样品中，漩涡振荡混合 5 s 后，染色 30 min，取 20 μL 染色豆乳样品置于载玻片上，表面覆上盖玻片，并用甘油密封，在激发波长 488 nm、发射波长 633 nm 条件下，采用油镜放大 60 倍观察豆乳微观结构。

1.2.14　数据统计

每组实验均进行 3 次平行实验，其结果表示为：平均值 ± 标准差，采用 SPSS 18.0 软件对实验数据进行差异显著性分析（$p < 0.05$），采用 Origin Pro 2019 软件制图。

2　结果与分析

2.1　原料大豆基本组成成分

表 1 显示 3 种大豆中的蛋白质、脂肪、水分、灰分含量均存在差异，3 种大豆中蛋白质质量分数在 36% ~41% 之间，脂肪质量分数在 21% ~26% 之间，其中缺失脂氧酶的东富 3 大豆蛋白质含量最高，而缺失 7S 球蛋白的东富 2 大豆脂肪含量最低。

表 1　原料大豆的基本成分

Tab.1　Basic compositions of raw soybean　%

大豆品种	蛋白质质量分数	脂肪质量分数	含水率	灰分质量分数
东富 2（7S 缺失型）	(38.65 ± 0.15)^{b}	(21.23 ± 0.09)^{c}	(7.38 ± 0.07)^{a}	(6.25 ± 0.08)^{a}
东富 3（脂氧酶缺失型）	(40.02 ± 0.16)^{a}	(23.28 ± 0.08)^{b}	(7.03 ± 0.08)^{b}	(6.02 ± 0.05)^{b}
黑农 64（正常品种）	(36.81 ± 0.13)^{c}	(25.13 ± 0.08)^{a}	(7.11 ± 0.08)^{b}	(6.03 ± 0.07)^{b}

注：同列数据不同字母表示差异显著（$p < 0.05$）。

2.2　原料大豆中蛋白成分组成

3 个品种的大豆分离蛋白 SDS－PAGE 电泳实验结果如图 1 所示，图中 M 代表蛋白 Marker，DF2 代表东富 2 大豆蛋白，DF3 代表东富 3 大豆蛋白，64 代表黑农 64 大豆蛋白，LOX 代表脂肪氧化酶。东富 2 为缺失 7S 球蛋白型大豆，可能是电泳上样时受到其他样品轻度污染的缘故，导致 7S 的 α′、α 亚基条带轻微出现，但 11S 的 A、B 亚基条带颜色很深；东富 3 为脂氧酶缺失型大豆，因此其蛋白电泳图中无脂肪氧化酶条带；正常大豆品种黑农 64 分离蛋白中脂氧酶、7S 和 11S 各亚基条带都完整存在于电泳图中。通过 Image Lab 软件扫描分析蛋白各亚基组分含量，并计算各品种大豆蛋白中 7S 和 11S 球蛋白的含量。结果显示东富2大豆11S球蛋白含量在

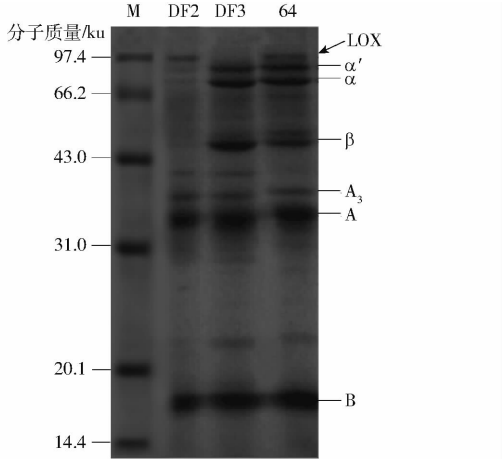

图 1　3 个品种大豆蛋白的 SDS－PAGE 电泳图

Fig.1　SDS－PAGE profiles for three varieties of SPI

3 个品种中最高,质量分数为 87.69%,东富 3 大豆中 7S、11S 球蛋白质量分数分别为 40.05%、59.95%,正常品种黑农 64 大豆中 7S、11S 球蛋白质量分数分别为 27.60%、72.40%,可以看出东富 3 大豆中 7S 球蛋白含量和 7S/11S 比明显高于黑农 64。

2.3 均质、加热对豆乳理化特性的影响

2.3.1 蛋白溶解度

豆乳中蛋白溶解度是蛋白质水合能力的重要体现,蛋白质水合作用越强其溶解度越大。同时豆乳中蛋白溶解度还受豆乳加工过程中压力、温度、pH 值等因素影响[20,31]。

图 2(图中不同大写字母表示相同处理条件下不同品种豆乳数值间差异显著($p<0.05$),不同小写字母表示不同处理条件下同一品种豆乳数值间差异显著($p<0.05$),下同)显示尽管磨浆时 3 种大豆原料中液料比一致,但生豆乳中蛋白溶解度在品种间仍存在显著差异($p<0.05$),说明原料蛋白组成差异会影响生豆乳中蛋白溶解程度。本实验中脂氧酶缺失型东富 3 生豆乳蛋白溶解度在 3 种豆乳中最高,缺失 7S 的东富 2 生豆乳蛋白溶解度低于正常大豆品种黑农 64 生豆乳,为 45.6%。7S 球蛋白为具有柔性结构的三聚体糖蛋白,蛋白分子中含有 5% 的碳水化合物基团,这使 7S 易与水分子结合,具有更好的溶解性[32]。研究显示脂氧酶可促进蛋白分子间形成二硫键或非共价键,导致蛋白聚集生成较大尺寸的蛋白粒子[17-18],东富 3 由于脂氧酶缺失和 7S 蛋白含量较高,其生豆乳中蛋白不易聚集,粒子尺寸小,溶解度测定时高速离心条件下蛋白不易沉降,因此蛋白溶解度高于黑农 64 生豆乳。11S 大豆球蛋白为具有致密空间结构、不含糖基的六聚体蛋白,分子结构柔性差,且含较多疏水性氨基酸,亲水性弱,分子间易自聚形成大的聚集体,溶解度低于 7S 球蛋白[6,33-34],因此东富 2 生豆乳蛋白溶解度最低。文献[34]发现从 7S 含量高的豆粕中提取的可溶性蛋白含量高于 7S 含量低的豆粕,文献[35]发现脂氧酶缺失型大豆中可溶性蛋白含量明显高于正常大豆品种($p<0.05$),与本研究结论一致。

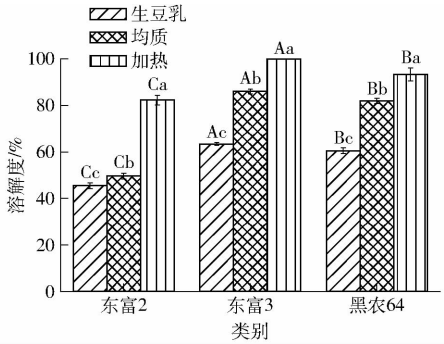

图 2 豆乳均质、加热前后的蛋白溶解度

Fig. 2 Protein solubility of soymilk before and after homogenization and heating

与生豆乳相比,均质后 3 种豆乳的蛋白质溶解度均显著增加($p<0.05$),东富 2、东富 3、黑农 64 豆乳蛋白溶解度分别提高了 8.8%、35.4%、35.5%。由于均质产生的高速剪切、空穴、涡旋作用破坏了蛋白分子结构和分子间/内作用力,使蛋白分子内部极性基团暴露于表面,增强了蛋白质分子与水分子的作用,蛋白质水合能力增强[20,36];同时均质将大尺寸蛋白粒子破坏成小尺寸粒子,蛋白分散性、均一性得到改善,因此均质后豆乳蛋白溶解度提升,这与前人研究结果一致[32,37]。均质后东富 2 豆乳蛋白溶解度增加幅度最低,仅增加了 8.8%。较与 7S 球蛋白,11S 球蛋白具有更为致密的刚性分子结构,分子内/间含有更多二硫键,均质作用力尽管对导致蛋白聚集的疏水作用具有较强破坏力,但对 11S 球蛋白的刚性结构和二硫键的破坏程度低[20,37],导致均质后 11S 球蛋白水合能力提升有限,因此东富 2 豆乳蛋白溶解度增加幅度较小。

加热处理后,3 种豆乳蛋白质溶解度均显著增加($p<0.05$),增加了 54.0% ~80.5%,高于各均质处理后豆乳,其中东富 3 豆乳蛋白溶解度最高,东富 2 豆乳蛋白溶解度最低。加热使生豆乳中天然大豆蛋白分子结构发生重排,形成可溶性蛋白聚集体,提升了豆乳中可溶性蛋白含量[6,38],另外加热导致天然大豆蛋白分子去折叠,肽链伸展,原本包埋在分子内部的大量极性和疏水性基团暴露于分子表面,增强了蛋白分子与水分子、油脂间的相互作用,因此受热后豆乳蛋白溶解度提高[39-41]。文献[6]发现,生豆乳 95 ~100℃受热 7 min 后 8 000 r/min 离心30 min,上清液中蛋白含量显著高于未加热前生豆乳上清液中蛋白含量,这与本研究结论一致。尽管受热后东富 2 豆乳蛋白溶解度仍然最低,但较与加热前蛋白溶解度增加幅度在 3 种豆乳中最大,增加了 80.5%。11S 球蛋白比 7S 球蛋白分子含有更多的疏水性氨基酸,受热后 11S 蛋白原本致密的刚性分子结构被破坏,更多的疏水基团和极性基团暴露于分子表面,亲水/亲油平衡能力提升[7,10],并且受热后 11S 球蛋白更易形成二硫键发生分子交联生成比 7S 球蛋白更致密的网状水凝胶结构[14,23,42-43],提高了蛋白粒子抗重力能力,因此加热后东富 2 豆乳蛋白溶解度上升幅度更大。以上结果显示原料蛋白组成不仅影响生豆乳中蛋白溶解度也同样影响熟豆乳蛋白溶解度。

2.3.2 豆乳粒径

豆乳属于不稳定的胶体体系,乳液粒径分布和

平均粒径是评价豆乳蛋白聚集程度和乳液稳定性的重要指标。

由图 3a 和图 4 可知东富 2、东富 3 生豆乳粒径分布和平均粒径与普通大豆黑农 64 生豆乳存在较大差异。3 种生豆乳粒径分布曲线均呈单峰，其中东富 3 生豆乳粒径分布曲线位于图 3a 最左侧，平均粒径最小(248 nm)，东富 2 生豆乳粒径分布曲线位于图 3a 最右侧，平均粒径最大(449 nm)。文献[13]将天然 11S 与 7S 球蛋白按不同比例混合制备乳液，结果显示随 11S 比例的增加乳液粒径分布曲线不断右移，平均粒径增大，乳液絮凝及聚结行为加剧，这与本实验结论一致。11S 球蛋白分子中疏水基团多，亲水基团少，在中性水溶液中分子间易通过疏水作用自聚形成较大尺寸的聚集体，由于大尺寸聚集体的空间位阻作用以及 11S 蛋白的刚性结构导致其不能很好地吸附于油水界面处覆盖油滴[37]，油滴间易聚结，因此东富 2 生豆乳粒径较大；而 7S 球蛋白含有较多亲水基团，在中性水溶液中具有良好的溶解性和分散性，同时由于其灵活的柔性结构，易于吸附在油水界面处，降低界面张力[37]，抑制油滴间聚结，因此含有 7S 的黑农 64 和东富 3 生豆乳粒径小于东富 2；东富 3 生豆乳平均粒径显著小于黑农 64 生豆乳($p<0.05$)，这与东富 3 原料中较高的 7S 含量以及脂氧酶的缺失有关。相关研究证实脂氧酶能够促进蛋白分子间通过二硫键、非共价键生成较大尺寸的蛋白聚集体[17,44]。文献[18]认为脂氧酶能促进蛋白与亚油酸反应，蛋白分子伸展暴露出更多疏水基团，使蛋白分子间通过疏水作用、静电作用或氢键等非共价键生成更大的聚集体，导致乳液浊度和平均粒径的增加，这与本实验结论一致。

均质后 3 种豆乳粒径分布曲线均左移(图 3b)，说明均质使豆乳粒径尺寸降低，这与前人研究结果一致[20,36]。均质产生的空穴、碰撞、剪切作用力破坏了蛋白分子间的疏水作用，使豆乳中大的蛋白聚集体、油滴以及其他聚集体细粒化，粒子的分散性、均一性得到改善[45]。均质后各品种豆乳平均粒径大小排序与生豆乳一致，均质后尽管东富 2 豆乳平均粒径仍然最大，但较与均质前平均粒径下降幅度在所有豆乳中最高，与东富 3 和黑农 64 豆乳平均粒径差距缩小(图 4)。如前述东富 2 生豆乳中仅含 11S 大豆球蛋白，蛋白分子间更易通过疏水作用自聚形成大尺寸聚集体，因此在均质作用下东富 2 豆乳粒径下降幅度更大。上述结果显示均质缩小了由原料蛋白组成不同导致的豆乳粒径差距。

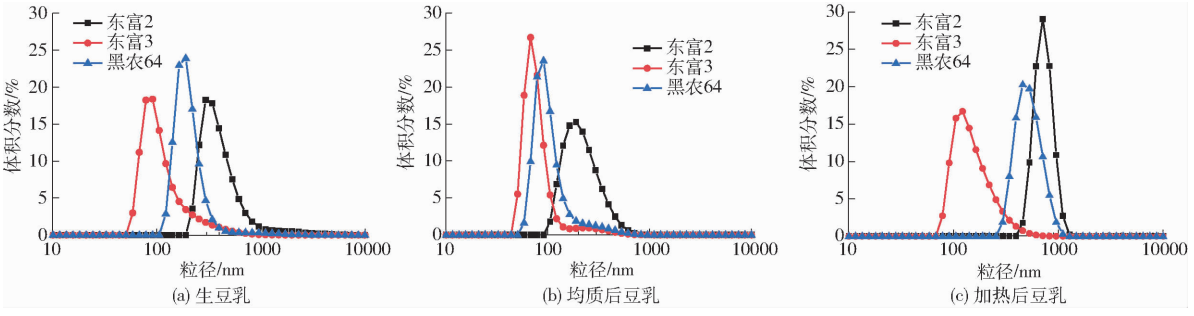

图 3　豆乳均质、加热处理前后的粒径分布

Fig. 3　Particle size distributions of soymilk before and after homogenization and heating

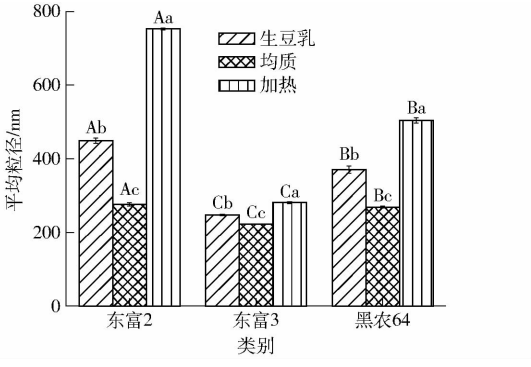

图 4　豆乳均质、加热处理前后的平均粒径

Fig. 4　Average particle size of soymilk before and after homogenization and heating

加热对 3 种豆乳粒径均具有较大影响，受热后，3 种豆乳粒径体积分布峰均向右移动(图 3c)，平均粒径显著增大($p<0.05$)(图 4)，说明加热后豆乳中蛋白质与油脂发生聚集，形成较大尺寸的热聚集体，这与多人研究结论一致[42,46]。加热后，东富 2 豆乳平均粒径增加幅度最大，增加了 67.6%，而东富 3 豆乳平均粒径增加幅度最小，仅为 13.2%，显著低于普通品种黑农 64 豆乳($p<0.05$)。豆乳高温加热时蛋白分子间/内二硫键发生断裂，生成巯基，随着加热的持续，蛋白分子间再次通过氧化巯基基团形成二硫键而发生聚集；同时由于加热破坏了蛋白分子结构，原本包埋于蛋白分子内部的疏水基团暴露于分子表面，蛋白表面疏水性增强，通过二硫键、疏水作用，蛋白-蛋白、蛋白-油体、油体-油体间发生聚合，形成蛋白聚集体、脂质体、蛋白-脂质体聚合物，导致豆乳粒径增大[42,47]。由于 11S 球蛋白比 7S 球蛋白含有更多的疏水氨基酸和二硫键，因此受热

时比 7S 蛋白更快速地发生聚集,生成热聚集体,且由于 11S 球蛋白分子中亲水基团的缺乏,导致蛋白聚集体间静电斥力小,彼此间不断再聚集生成更大的聚集体[48-49],因此受热后东富 2 豆乳平均粒径增加幅度高于其他品种。7S 球蛋白分子中含有较多亲水基团,11S 与 7S 共同受热时彼此发生聚集,7S 蛋白的亲水基团覆盖于 11S 蛋白分子表面,为聚集体提供强大的静电斥力屏障,抑制了聚集体间的再聚集[10],即 7S 具有抑制 11S 热聚集的能力,且随 7S 含量的增加抑制能力增强,因此东富 3 和黑农 64 豆乳受热后平均粒径增长幅度均小于东富 2。尽管在本实验加热条件下脂氧酶基本全部失活(脂氧酶热变性温度 69 ~ 74℃)[50],但受热后东富 3 豆乳平均粒径远小于黑农 64 豆乳,这与东富 3 豆乳中较高的 7S/11S 比使其具有更强的抑制蛋白热聚集能力有关。

文献[51 - 52]显示豆乳受热后粒径明显下降,这与本实验结果相反,主要原因是豆乳加热条件(95 ~ 100℃,加热 5 min)与本实验(95℃,加热 25 min)不同,文献[51 - 52]实验由于受热时间短,豆乳中形成的小分子蛋白聚集体还未再次发生聚集,加热即停止,因此受热后豆乳粒径降低。对比分析可以看出受热时间对豆乳粒径具有较大影响,但豆乳中含有较多抗营养因子,如胰蛋白酶抑制剂、植物红细胞凝集素、脲酶等热敏性抗营养因子,需要保证一定时间的高温加热才能使其充分失活;另外,为消灭豆乳中致病菌和腐败菌以及提高蛋白质消化吸收利用率也需要高温长时加热[6]。

2.3.3 浊度

浊度是表征蛋白聚集程度和乳液稳定性的另一重要指标,蛋白聚集程度、平均粒径与浊度呈正比例关系,蛋白聚集程度越深,平均粒径越大,体系浊度越高[29]。

图 5 显示生豆乳中东富 2 生豆乳浊度最大,东富 3 生豆乳浊度最小。东富 3 生豆乳粒径均一细小,蛋白溶解度、分散性好,因此具有较低的乳液浊度,而东富 2 生豆乳由于较大的粒径,乳液吸光度上升,乳液浊度最大。与生豆乳相比,均质后各品种豆乳浊度均显著降低($p < 0.05$)。均质将豆乳中的可溶性物质均匀细化,大颗粒物质破碎成小颗粒物质,豆乳粒径降低,因此乳液透光度更好。尽管均质后东富 2 豆乳浊度仍然最高,但较与均质前,其浊度下降幅度大于其他品种,这与均质更大程度降低了东富 2 豆乳粒径有关(见 2.3.2 节结果)。加热后东富 2 和黑农 64 豆乳浊度明显上升($p < 0.05$),而东富 3 豆乳浊度变化不显著($p > 0.05$)。7S 与 11S 蛋白受热期间不同的热聚集行为导致各品种豆乳受热后浊度的变化差异。11S 球蛋白受热时更高的聚集程度导致生成更大粒径的聚集体,因此东富 2 豆乳受热后吸光度增强,浊度显著上升($p < 0.05$)。东富 3 豆乳中较高的 7S/11S 比使其蛋白热聚集程度低,豆乳受热后粒径增加幅度小,因此加热前后豆乳浊度变化不显著($p > 0.05$)。

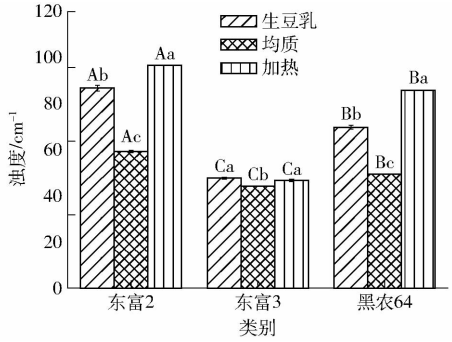

图 5 豆乳均质、加热处理前后的浊度

Fig. 5 Turbidity of soymilk before and after homogenization and heating

尽管豆乳浊度还受豆乳中碳水化合物以及其他可溶性物质影响,但在本实验中豆乳浊度仍体现出与蛋白聚集程度较强的规律性,说明原料大豆蛋白组成对豆乳浊度有决定性影响,特别是一些蛋白组分缺失型品种。

2.3.4 游离巯基含量

游离巯基对蛋白质界面行为和乳化性质具有重要影响,能够改善蛋白质分子结构柔性,提升乳液稳定性[37]。由巯基基团(—SH)形成的二硫键(S—S)是维持蛋白空间结构的重要化学键,而且巯基与二硫键在一定条件下可以相互转换[44]。

由图 6 可知,生豆乳中东富 3 生豆乳的游离巯基含量最高,质量摩尔浓度为 3.41 μmol/g;东富 2 生豆乳中游离巯基含量低于黑农 64 生豆乳,质量摩

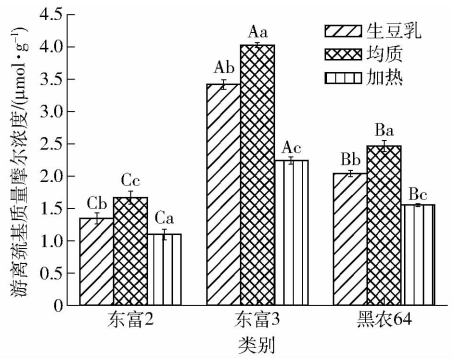

图 6 豆乳均质、加热处理前后的游离巯基含量

Fig. 6 Free sulfhydryl content in soymilk before and after homogenization and heating

尔浓度为 1.34 μmol/g。研究显示大豆蛋白中巯基基团降解与脂氧酶活性密切相关，大豆磨浆制备豆乳过程中脂氧酶会促进巯基降解，导致游离巯基含量下降[18,44]，因此缺失脂氧酶的东富 3 生豆乳中含有更多的游离巯基。

3 种豆乳均质后游离巯基含量均显著增加（$p < 0.05$），增加了 17.9% ~23.9%（图 6）。一方面，均质的高速剪切和涡旋作用破坏了蛋白分子高级结构，肽链舒展，原本埋藏在蛋白分子内部的巯基基团暴露出来；另一方面，均质作用下维持蛋白空间结构的部分二硫键被切断，S—S 转化为—SH，导致均质后豆乳中游离巯基含量增加。

热处理后所有豆乳游离巯基含量均不同程度降低，这与文献[53 - 54]研究结果一致。高温受热时豆乳中的游离巯基受热氧化生成二硫键，导致游离巯基含量下降。加热后尽管东富 3 豆乳中游离巯基含量仍最高，但降低幅度却最大，这与东富 3 生豆乳中含有更多的游离巯基有关，使其加热后更易发生—SH/S—S 转化。

2.3.5　流变性质

豆乳的流变性质与蛋白质水合作用密切相关，同时还受蛋白分子间作用力、蛋白聚集程度、粒径、粒子含量、豆乳微观结构等因素影响[21]。

图 7a 显示，在本实验任何剪切速率下东富 3 生豆乳的表观粘度均低于东富 2 和黑农 64 生豆乳，而东富 2 生豆乳的表观粘度均高于黑农 64 生豆乳。11S 球蛋白含有较多疏水氨基酸，室温条件下也存在较强的自聚行为，形成大尺寸聚集体，占用更多空间，导致分子运动阻力增强[6,37,41]，因此东富 2 生豆乳粘度最高；东富 3 原料大豆中脂氧酶的缺失和较高的 7S 含量，使其生豆乳粒径小，粒子分散性好，因此粘度低于黑农 64 生豆乳。

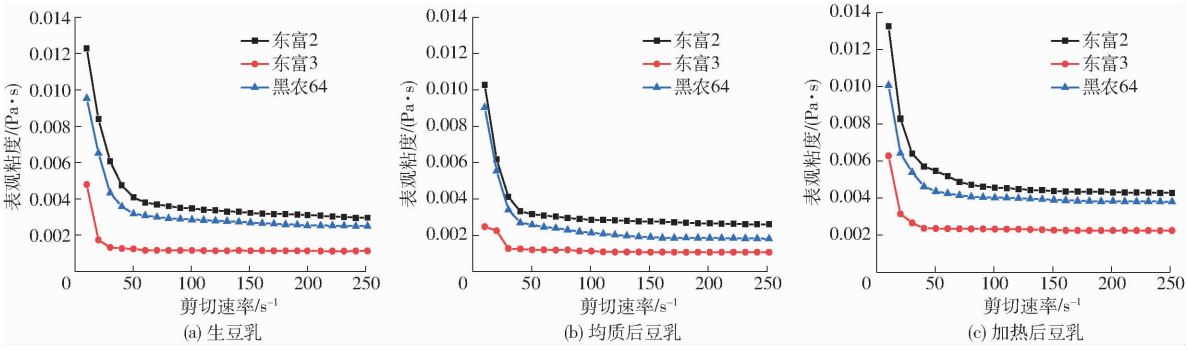

图 7　豆乳均质、加热处理前后的流变曲线

Fig. 7　Rheological curves of soymilk before and after homogenization and heating

均质后 3 种豆乳各剪切速率下的表观粘度均降低（图 7b）。均质破坏了蛋白分子间疏水作用及部分二硫键，降低了豆乳中蛋白、脂质体的聚集程度，豆乳粒径减小，因此粘度下降。受热后所有豆乳各剪切速率下的表观粘度均高于未加热前（图 7c）。豆乳受热时蛋白分子结构改变，蛋白水合能力和表面疏水性提高，蛋白与水分子、蛋白与蛋白以及蛋白与油脂间的相互作用增强，形成大的聚集体，导致豆乳粘度上升[39,40 - 41,55]；另外，豆乳受热时蛋白分子间形成二硫键或通过疏水作用发生交联和聚集，形成弱的网状水凝胶结构，束缚了水分子及其他粒子的运动，增强了流体阻力[23,42 - 43,55]，这是豆乳粘度增加的另一重要原因。较与 7S 球蛋白，11S 球蛋白受热时聚集程度更高，且更易形成二硫键发生分子交联生成更加致密的网状结构[14,23]，因此加热后东富 2 豆乳表观粘度仍高于东富 3 和黑农 64 豆乳。东富 3 豆乳受热后蛋白聚集程度最低，粒径最小，因此粘度仍最低。文献[40]证实加热增强了豆乳中蛋白与油脂的交互作用，促进了油脂与蛋白粒子的聚集，导致豆乳粘度增大。文献[41]发现卵白蛋白加热后粘度上升，认为蛋白粘度变化与受热后形成的蛋白聚集体尺寸具有密切关系，更大聚集体的形成会导致更高的粘度，这些研究结果与本实验结论一致。

均质、加热前后的东富 2、黑农 64 豆乳在本实验剪切速率范围内均呈剪切稀化，为非牛顿流体；而均质、加热前后的东富 3 豆乳在剪切速率 150 ~ 250 s^{-1} 时乳液粘度基本保持恒定，接近牛顿流体，这与东富 3 豆乳均质、加热前后均具有较低的聚集程度和较小的粒径密切相关。本实验中虽然豆乳加热后粒径增大，但乳液粘度增加，抑制了粒子间的聚集，使豆乳保持一定的稳定性。

2.3.6　物理稳定性

豆乳的物理不稳定性主要表现为生产和贮存过程中易发生脂肪上浮、蛋白沉淀现象，从而影响豆乳品质。本研究通过离心加速沉淀发生，以离心沉淀率表示豆乳的物理稳定性，沉淀率越低意味豆乳的物理稳定性越高。

图 8 显示 3 种生豆乳的离心沉淀率存在显著差异($p<0.05$),东富 2 生豆乳的离心沉淀率远高于其他 2 个品种,达 11.93%,是正常品种黑农 64 生豆乳的 2 倍多,东富 3 生豆乳的离心沉淀率最低,仅为 1.85%,即生豆乳中东富 2 生豆乳物理稳定性最低,东富 3 生豆乳稳定性最高。Stockes 原理证明粒子自然沉降或上浮的速度与粒子直径有关,更大直径的粒子沉降速度更快,更易沉降。蛋白是豆乳固形物中含量最高的成分,其聚集程度是影响豆乳物理稳定性的重要因素。由上文实验结果可知由于 11S 球蛋白的刚性结构和较低的水合能力,东富 2 生豆乳粒子尺寸大于其他品种,这些粒子在离心时会作为核心形成更大的聚集体,导致东富 2 生豆乳离心沉淀率高于其他品种,而东富 3 原料大豆中脂氧酶的缺失以及较高的 7S 球蛋白含量,使其生豆乳中的粒子具有较小的尺寸,因此离心沉淀率显著低于正常品种黑农 64 生豆乳($p<0.05$)。

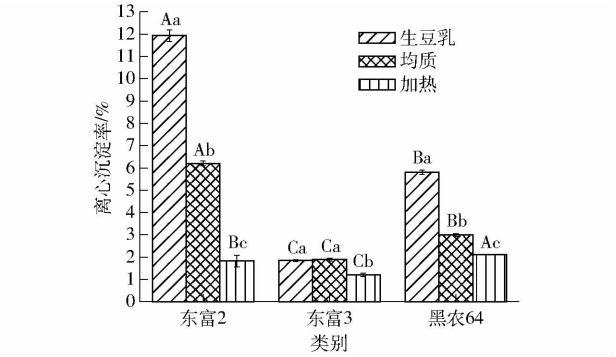

图 8 豆乳均质、加热处理前后的离心沉淀率

Fig. 8 Centrifugal precipitation rates of soymilk before and after homogenization and heating

均质后东富 2 和黑农 64 豆乳离心沉淀率均显著降低($p<0.05$),分别降低了 48.0% 和 48.4%。由于均质破坏了蛋白分子间/内作用力(包括疏水作用与二硫键),大的聚集体解离为小分子聚集体,导致豆乳粒径下降,因此均质后东富 2 和黑农 64 豆乳离心沉淀率降低,物理稳定性提升,这与文献[22]结果一致。东富 3 豆乳均质前后离心沉淀率无显著性差异($p>0.05$),这与东富 3 豆乳均质前后均具有较低的粒子聚集程度和较小的粒径密切相关,说明东富 3 豆乳即使不进行均质也具有较强的物理稳定性,对均质工艺的依赖性减弱。

所有豆乳加热后离心沉淀率均显著降低($p<0.05$),降低了 34.6% ~84.7%。豆乳加热后粒径增大,但离心沉淀率却下降,这与 Stockes 定律相反。豆乳物理稳定性除受粒子聚集程度影响,还受各组分间相互作用以及乳液粘度、乳液微观结构等因素影响[42-43]。尽管加热导致豆乳粒子聚集,粒径增大,不利于豆乳物理稳定性的提升,但加热提高了蛋白水合能力和表面疏水性,增强了蛋白与水分子、蛋白与油脂、蛋白与蛋白分子间的相互作用;同时受热时蛋白分子通过疏水作用和二硫键彼此聚集形成弱的三维网状水凝胶结构,乳液粘度上升,豆乳粒子处于网状结构中,增加了粒子运动和沉降所受的粘滞阻力[14,42-43],因此加热后豆乳离心沉淀率显著降低($p<0.05$),物理稳定性提升。

尽管加热后东富 3 豆乳离心沉淀率仍然最低,但东富 2 豆乳离心沉淀率较加热前下降幅度最大,下降了 84.7%,小于加热后的黑农 64 豆乳,这与东富 2 豆乳中 11S 球蛋白形成更致密的网状微凝胶结构和更高的粘度有关(见 2.3.5 节粘度结果)。较与 7S 球蛋白,11S 球蛋白含有更多的疏水性氨基酸和二硫键,热敏感性更强,受热时易在分子间形成更多二硫键,导致东富 2 豆乳受热后 11S 球蛋白分子快速通过疏水作用和二硫键发生聚集和交联,形成更加致密的三维网状结构[14,23,42-43],乳液粘度更高,因此东富 2 豆乳加热后离心沉淀率下降幅度更大。加热后尽管各豆乳离心沉淀率仍存在显著差异($p<0.05$),但较与加热前差距缩小,即加热使原料蛋白组成不同导致的豆乳物理稳定性差异缩小。

加热后各豆乳的离心沉淀率显著低于均质处理豆乳($p<0.05$),说明本实验中加热对豆乳物理稳定性的提升效果优于均质。

2.4 豆乳的微观结构

采用激光共聚焦显微镜观察 3 种豆乳均质、加热前后的油滴分布情况。图 9 中红色部分为油滴。生豆乳中东富 3 生豆乳油滴粒径最小,而东富 2 生豆乳油滴粒径明显大于黑农 64 生豆乳(图 9a ~9c)。均质后所有豆乳油滴粒径均减小且粒径大小均一(图 9d ~9f),各品种豆乳间的油滴粒径差距缩小。加热后所有豆乳的油滴粒径均增大,特别是东富 2 豆乳中油滴发生强烈聚集,油滴粒径明显大于东富 3 和黑农 64 豆乳(图 9g ~9i)。各品种豆乳均质、加热前后的油滴分布情况与 2.3.2 节粒径结果一致。

3 结束语

本文分别考察均质和加热处理对脂氧酶缺失型大豆品种东富 3、7S 球蛋白缺失型大豆品种东富 2 豆乳理化特性的影响,同时以正常大豆品种黑农 64 为对照。结果显示均质和加热对 3 个品种豆乳理化特性均具有一定提升作用,缩小了由原料蛋白组分不同导致的豆乳理化特性差异,但较与均质,加热对豆乳物理稳定性提升效果更显著($p<0.05$)。东富 3

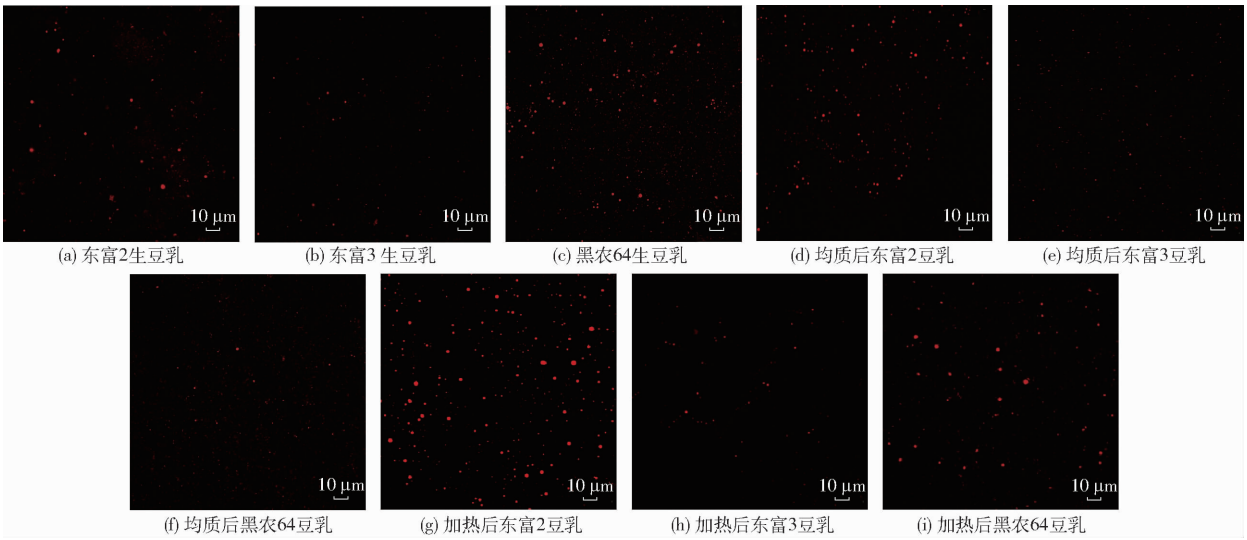

图 9　豆乳均质、加热处理前后的微观结构

Fig. 9　Microstructures of soymilk before and after homogenization and heating

豆乳在均质、加热前后都具有比黑农 64、东富 2 豆乳更小的粒径、浊度、离心沉淀率和更高的蛋白溶解度，具有最优的物理稳定性。尽管均质和加热也会引起东富 3 豆乳粒子聚集程度、平均粒径的减小和增加，但增减程度显著小于黑农 64 和东富 2 豆乳，即使在无均质条件下，东富 3 生豆乳依然具有较小的平均粒径和较高的物理稳定性，表现出对均质工艺较小的依赖性，这主要归因于东富 3 原料中脂氧酶的缺失以及较高的 7S/11S 比；东富 2 豆乳尽管在未均质加热前具有最低的蛋白溶解度，最大的平均粒径和离心沉淀率，但均质后平均粒径、离心沉淀率均显著降低（$p < 0.05$），加热虽然导致东富 2 豆乳粒径显著增加（$p < 0.05$），但极大提高了蛋白溶解度和表观粘度，使东富 2 豆乳离心沉淀率降低幅度在 3 种豆乳中最大，物理稳定性优于加热后的黑农 64 豆乳。较与东富 3 和黑农 64，东富 2 豆乳理化性质受均质、加热影响更显著。实验结果显示东富 3 和东富 2 大豆都适宜作为高品质商业豆乳生产的原料。

参　考　文　献

[1] ZHAO L L, ZHANG M, WANG H X, et al. Effect of carbon dots in combination with aqueous chitosan solution on shelf life and stability of soy milk[J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 326: 108650.

[2] LI Y T, CHEN M S, DENG L Z, et al. Whole soybean milk produced by a novel industry-scale microfluidizer system without soaking and filtering[J]. Journal of Food Engineering, 2020, 291: 110228.

[3] FERNANDES S, LIMA F S, RODRIGUES D, et al. Evaluation of the isoflavone and total phenolic contents of kefir-fermented soymilk storage and after the in vitro digestive system simulation[J]. Food Chemistry, 2017, 229(6): 373 – 380.

[4] ROSENTHAL A, DELIZA R, CABRAL L, et al. Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk[J]. Food Control, 2003, 14(3): 187 – 192.

[5] TORO-FUNES N, BOSCH-FUSTE J, LATORRE-MORATALLA M L, et al. Isoflavone profile and protein quality during storage of sterilized soymilk treated by ultra high pressure homogenization[J]. Food Chemistry, 2015, 167: 78 – 83.

[6] NIK A M, TOSH S M, POYSA V, et al. Protein recovery in soymilk and various soluble fractions as a function of genotype differences, changes during heating, and homogenization[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(22): 10893 – 10900.

[7] 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, 2015, 96(4): 1121 – 1131.

[8] NIELSEN N C. The structure and complexity of the 11S polypeptides in soybeans[J]. Journal of American Oil Chemist' Society, 1985, 62(12): 1680 – 1686.

[9] HOU H J, CHANG K C. Structural characteristics of purified β-conglycinin from soybeans stored under four conditions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(26): 7931 – 7937.

[10] GUO J, YANG X Q, HE X T, et al. Limited aggregation behavior of β-conglycinin and its terminating effect on glycinin aggregation during heating at pH 7.0[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(14): 3782 – 3791.

[11] 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, 1985, 32(6): 1406 – 1412.

[12] NAKAMURA T, UTSUMI S, MORI T. Interactions during heat-induced gelation in a mixed system of soybean 7S and 11S

globulins[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1986, 50(10): 2429 - 2435.

[13] 陈硕,唐传核. 不同比例球蛋白组成对大豆蛋白溶液乳化性与界面特性的影响[J]. 现代食品科技,2016,32(9): 62 - 68.
CHEN Shuo, TANG Chuanhe. Effect of varying β-conglycinin/glycinin ratios on the emulsifying and interfacial properties of soybean proteins[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(9): 62 - 68. (in Chinese)

[14] 蓝伟杰,林莹,康庆,等. 原料组分与工艺条件对腐竹品质的影响[J]. 食品科学,2020,41(16): 252 - 258.
LAN Weijie, LIN Ying, KANG Qing, et al. Effects of raw material composition and processing conditions on quality of yuba [J]. Food Science, 2020, 41(16): 252 - 258. (in Chinese)

[15] 曾祥博. 不同脂肪氧化酶缺失型大豆制备豆浆中挥发性组分及其中间产物比较和分析[D]. 长春: 吉林农业大学, 2019.
ZENG Xiangbo. Comparison and analysis on the volatility components and intermediate products in soymilk prepared from different lipoxygenase-free soybean varieties[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2019. (in Chinese)

[16] IASSONOVA D R, JOHNSON L A, HAMMOND E G, et al. Evidence of an enzymatic source of off flavors in "Lipoxygenase-Null" soybeans[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2009, 86(1): 59 - 64.

[17] ROBINSON D S, WU Z, DOMONEY C, et al. Lipoxygenase and the quality of foods[J]. Food Chemistry, 1995, 54(1): 33 - 43.

[18] HUANG Y, HUA Y, QIU A. Soybean protein aggregation induced by lipoxygenase catalyzed linoleic acid oxidation[J]. Food Research International, 2006, 39(2): 240 - 249.

[19] 郝建敏. 加工技术对豆乳蛋白质特性的影响研究及产品评价[D]. 哈尔滨: 东北农业大学,2016.
HAO Jianmin. Effect of processing technology on the proterties of soymilk protein and evaluation of products[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2016. (in Chinese)

[20] 姜梅,董明盛,芮昕,等. 高压均质和热处理对豆乳蛋白质溶解性的影响[J]. 食品科学,2013,34(21): 125 - 130.
JIANG Mei,DONG Mingsheng,RUI Xin,et al. Effects of high pressure homogenization and heat treatment on protein solubility in soymilk[J]. Food Science, 2013, 34(21): 125 - 130. (in Chinese)

[21] ZUO F, PENG X Y, SHI X D, et al. Effects of high-temperature pressure cooking and traditional cooking on soymilk: protein particles formation and sensory quality[J]. Food Chemistry, 2016, 209: 50 - 56.

[22] CRUZ N, CAPELLAS M, HERNÁNDEZ M, et al. Ultra-high pressure homogenization of soymilk: microbiological, physicochemical and microstructural characteristics[J]. Food Research International, 2007, 40(6): 725 - 732.

[23] 冯芳,刘文豪,陈志刚. 大豆 7S、11S 蛋白的结构与热致凝胶特性的分析[J]. 食品科学,2020,41(2): 58 - 64.
FENG Fang, LIU Wenhao, CHEN Zhigang. Structure and heat-induced gelation properties of soybean 7S and 11S proteins [J]. Food Science, 2020, 41(2): 58 - 64. (in Chinese)

[24] YUAN D B, YANG X Q, TANG C H, et al. Physicochemical and functional properties of acidic and basic polypeptides of soy glycinin[J]. Food Research International, 2009, 42(5 - 6): 700 - 706.

[25] 齐宝坤,赵城彬,江连洲,等. 大豆分离蛋白组成及二级结构对表面疏水性的影响[J]. 中国食品学报,2018,18(5): 288 - 293.
QI Baokun, ZHAO Chengbin, JIANG Lianzhou, et al. Effect of composition and secondary structure of soybean protein isolate on surface hydrophobicity[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(5): 288 - 293. (in Chinese)

[26] LAEMMLI U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. Nature, 1970, 227 (15): 680 - 685.

[27] PENG X, WANG Y, XING J, et al. Characterization of particles in soymilks prepared by blanching soybeans and traditional method: a comparative study focusing on lipid-protein interaction[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63(2): 1 - 7.

[28] WANG R, LIU J, GUO S. Binding of phytate to soybean protein during the heat treatment of soymilk and its effect on protein aggregation[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 84(31): 368 - 378.

[29] LI Y, LI M D, QI Y M, et al. Preparation and digestibility of fish oil nanoemulsions stabilized by soybean protein isolate-phosphatidylcholine[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105310.

[30] SHIMADA K, CHEFTEL J C. Determination of sulfhydryl groups and disulfide bonds in heat-induced gels of soy protein isolate [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1988, 36(1): 147 - 153.

[31] 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(2): 262 - 269.

[32] MARUYAMA N, SATO R, WADA Y, et al. Structure-physicochemical function relationships of soybean β-conglycinin constituent subunits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(12): 5278 - 5284.

[33] MORR C W. Current status of soy protein functionality in food systems[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1990, 67(5): 265 - 271.

[34] MIRJANA B P, BILJANA V, MIROLJUB B, et al. The influence of genotypic variation in protein composition on emulsifying properties of soy proteins[J]. Journal of American Oil Chemist' Society, 2005, 82(9): 667 - 672.

[35] 吕莹,陈学珍,谢皓,等. 脂肪氧化酶缺失品种豆腐的感官和质构评价[J]. 中国粮油学报,2013,28(3): 12 - 16.

LÜ Ying, CHEN Xuezhen, XIE Hao, et al. The sensory taste and texture evaluation of lipoxygenase-deficient soybean tofu [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2013, 28(3): 12 – 16. (in Chinese)

[36] 寻崇荣,范志军,王冬梅,等. 酶解-高压均质制备高溶解性、高消化率豆乳粉工艺[J]. 中国食物与营养,2018,24(6): 30 – 35.
XUN Chongrong, FAN Zhijun, WANG Dongmei, et al. Process of soybean milk powder with high solubility, high digestibility by enzyme hydrolysis – high pressure homogenization treatment[J]. Food and Nutrition in China, 2018, 24(6): 30 – 35. (in Chinese)

[37] 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.

[38] 齐宝坤,赵城彬,李杨,等. 热处理对大豆球蛋白溶解性和二级结构的影响[J]. 食品科学,2018,39(22): 46 – 51.
QI Baokun, ZHAO Chengbin, LI Yang, et al. Effect of heat treatment on solubility and secondary structure of soybean 11S glycinin[J]. Food Science, 2018, 39(22): 46 – 51. (in Chinese)

[39] FRISCH H L, SIMHA R. Viscosity of colloidal suspensions and macromolecular solutions[M]// EIRICH F. Rheology. New York: Academic Press, 1956: 525 – 613.

[40] SHIMOYAMADA M, ISHIYAMA A, MASUDA H, et al. Viscosity changes of soymilk due to vacuum evaporation with moderate heating[J]. LWT—Food Science and Technology, 2019, 112(7): 108 – 255.

[41] ALAVI F, EMAM-DJOMEH Z, CHEN L. Acid-induced gelation of thermal co-aggregates from egg white and hempseed protein: impact of microbial transglutaminase on mechanical and microstructural properties of gels[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 107: 105960.

[42] BERNAT N, CHÁFER M, RODRÍGUEZ-GARCÍA J, et al. Effect of high pressure homogenisation and heat treatment on physical properties and stability of almond and hazelnut milks[J]. LWT—Food Science and Technology, 2015, 62(1): 488 – 496.

[43] MANZOOR M F, AHMAD N, AADIL R M, et al. Impact of pulsed electric field on rheological, structural, and physicochemical properties of almond milk[J]. Journal of Food Process Engineering, 2019, 42(10): 213 – 299.

[44] ZHOU Y, LI X, HUA Y, et al. The absence of lipoxygenase and 7S globulin of soybeans and heating temperatures on the properties of soymilks and soy yogurts[J]. LWT—Food Science and Technology, 2019, 115(3): 108431.

[45] OKURO P K, GOMES A, COSTA A L R, et al. Formation and stability of W/O-high internal phase emulsions (HIPEs) and derived O/W emulsions stabilized by PGPR and lecithin[J]. Food Research International, 2019, 122(2): 252 – 262.

[46] MANZOOR M F, ZENG X, AHMAD N, et al. Effect of pulsed electric field and thermal treatments on the bioactive compounds, enzymes, microbial, and physical stability of almond milk during storage[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2020, 44(7): 514 – 541.

[47] PANG Z, SAFDAR B, WANG Y, et al. Improvement of tribo-rheological properties of acid soymilk gels by reinforcement of 7S or 11S proteins[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 110: 106173.

[48] MATEMU A O, KAYAHARA H, MURASAWA H, et al. Improved emulsifying properties of soy proteins by acylation with saturated fatty acids[J]. Food Chemistry, 2011, 124(2): 596 – 602.

[49] HU H, LI-CHAN E C, WAN L, et al. The effect of high intensity ultrasonic pre-treatment on the properties of soybean protein isolate gel induced by calcium sulfate[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 32(2): 303 – 311.

[50] 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 Hydrocolloid, 2009, 23(3): 936 – 941.

[51] ONO T, CHOI M R, IKEDA A, et al. Changes in the composition and size distribution of soymilk protein particles by heating [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1991, 55(9): 2291 – 2297.

[52] NIK A M, TOSH S M, WOODROW L, et al. Effect of soy protein subunit composition and processing conditions on stability and particle size distribution of soymilk[J]. LWT—Food Science and Technology, 2009, 42(7): 1245 – 1252.

[53] SHIMOYAMADA M, TSUSHIMA N, TSUZUKI K, et al. Effect of heat treatment on dispersion stability of soymilk and heat denaturation of soymilk protein[J]. Food Science and Technology International Tokyo, 2008, 14(1): 32 – 38.

[54] PETRUCCELLI S, ANON M C. Thermal aggregation of soy protein isolate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 43(12): 3035 – 3041.

[55] 郭增旺, 郭亚男, 李柏良, 等. 高压均质条件下大豆蛋白热聚集体结构和乳化特性研究[J/OL]. 农业机械学报, 2021, 52(4):351 – 358,374.
GUO Zengwang, GUO Ya'nan, LI Bailiang, et al. Effects of high-pressure homogenization on structural and emulsifying properties of soybean protein thermal aggregates[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2021, 52(4):351 – 358,374. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no=20210438&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2021.04.038. (in Chinese)