

预处理技术改善蛋白质乳化性研究进展

Recent advances in pretreatment techniques to improve the emulsifying property of proteins

望运滔^{1,2,3}王莹娟^{1,2,3}白艳红^{1,2,3}WANG Yun-tao^{1,2,3} WANG Ying-juan^{1,2,3} BAI Yan-hong^{1,2,3}

(1. 郑州轻工业大学食品与生物工程学院, 河南 郑州 450000; 2. 河南省冷链食品质量安全控制重点实验室, 河南 郑州 450000; 3. 河南省食品生产与安全协同创新中心, 河南 郑州 450000)

(1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou, Henan 450000, China; 2. Henan Key Laboratory of Cold Chain Food Quality and Safety Control, Zhengzhou, Henan 450000, China; 3. Henan Collaborative Innovation Center for Food Production and Safety, Zhengzhou, Henan 450000, China)

摘要:文章综述了国内外改善蛋白质乳化性的最新物理化学预处理技术及相应机理, 主要包括物理改性如超声、高压均质、挤压蒸煮、旋流空化等技术, 化学改性如 pH 偏移、磷酸化改性等技术, 以及酶法改性技术。文章还综述了以上多种方法协同作用以改性蛋白质的技术, 阐述了相关协同作用的机理, 并对未来蛋白质改性技术的研究方向进行了展望。

关键词:蛋白质; 乳化性; 改性技术; 改性机理

Abstract: The latest physicochemical pretreatment technologies to improve the emulsifying properties of proteins and the corresponding mechanisms were summarized, including the physical modification such as ultrasound, high pressure homogenization, extrusion cooking, and swirl cavitation, and chemical modification methods such as pH shifting, phosphorylation modification, and enzymatic modification. Moreover, this review also included the synergistic effects of the above methods to modify proteins and the related mechanisms and the future research prospects of the protein modification.

Keywords: proteins; emulsifying properties; modification technology; modification mechanism

蛋白质是关系到人类健康的重要营养物质之一, 在

食品加工中, 蛋白质经常被用作食品乳化剂。因为蛋白质具有亲水性和疏水性基团, 可以向油水界面迁移, 并且蛋白质会在界面展开并重新排列, 疏水基团朝向油相移动, 而亲水性基团朝向水相移动, 其独特的界面性质可以降低油水界面张力, 且在界面处的蛋白质聚集在油滴周围形成黏弹性膜^[1], 能够阻止油滴聚集, 从而稳定乳液^[2]。蛋白质所稳定的乳液在食品加工中具有广泛的应用价值, 如人造奶油、冰淇淋和蛋黄酱等^[3], 因此蛋白质作为乳化剂被广泛研究。

然而天然蛋白质的功能性质不能满足实际生产加工需求, 如某些蛋白质的溶解性、乳化性差等, 并且在加工过程中容易受到环境因素(溶液 pH 值、离子强度和温度)的影响而变性^[4], 从而影响其功能特性及在食品工业中的应用。因此, 为了改善蛋白质的乳化性, 需要对蛋白质进行改性处理。文章对国内外最新蛋白质改性以提高其乳化性的研究进行综述, 以期对蛋白质改性的应用及研究提供一定理论参考。

1 预处理技术改善蛋白质乳化性的原理

蛋白质特异的空间结构决定其独特的功能性质, 而影响蛋白质乳化性的内部因素主要包括蛋白质的组成、结构、分子大小、疏水性、表面电荷量等^[5]。采用高新技术对蛋白质结构进行修饰就是通过物理和化学作用力对蛋白质的一级、二级、三级、四级结构进行人为修饰, 使蛋白质的空间结构发生变化, 柔性结构展开, 刚性区域重排, 非极性基团暴露, 从而改善蛋白质在油水界面的吸附特性^[6]。

2 预处理技术改善蛋白质乳化性的方法

2.1 物理改性

物理改性主要是通过超声波、高压均质、挤压蒸煮、

基金项目:国家自然科学基金青年基金(编号:31801588); 河南省科技攻关项目(编号:182102110246, 202102110295); 河南省高等学校重点科研项目(编号:18B550013); 郑州轻工业大学博士科研启动项目(编号:13501050058)

作者简介:望运滔, 男, 郑州轻工业大学讲师, 博士。

通信作者:白艳红(1975—), 女, 郑州轻工业大学教授, 博士。

E-mail: baiyanhong212@163.com

收稿日期:2020-03-07

水动力空化等物理手段改变蛋白质结构及蛋白质分子间的聚集状态,从而改善其乳化特性。物理改性的优点在于廉价、安全、处理时间短以及对产品营养性能影响小^[7]。

2.1.1 超声处理改善蛋白乳化性 超声处理过程中产生的空化效应可以诱导蛋白质分子结构聚集和展开^[8],改变蛋白质分子之间的相互作用,如疏水相互作用,氢键和二硫键等,增强蛋白质分子的柔韧性并提高蛋白质在油水界面的吸附能力,改善蛋白质的乳化性^[9]。目前,单独超声处理已被广泛应用于改善花生蛋白^[10]、核桃蛋白^[11]、向日葵蛋白^[12]、肌原纤维蛋白^[13]以及鳕鱼蛋白^[14]等蛋白质的乳化性。结果表明单独超声处理可以有效地改善蛋白质的乳化性,但超声时间过长以及超声功率过高会使蛋白质严重变性,降低乳化性^[15]。

超声处理也可以与一种或多种改性方法相结合来改善蛋白质的乳化性,Shen 等^[16]采用超声协同热处理改善蛋白质的功能性质,与未处理的乳清蛋白相比,单独超声和加热处理使乳清蛋白的乳化活性和乳化稳定性都分别提高了 1.5 倍和 2.0 倍,二者有相同的改善作用,没有明显差异。而对加热后的乳清蛋白进行超声处理后,它的乳化活性和乳化稳定性分别是未处理组 1.9 倍和 2.5 倍,乳清蛋白的乳化活性和乳化稳定性达到最大值,表明超声协同热处理可以更有效地改善蛋白质的乳化性。超声协同其他方法改性蛋白质可以集合多种改性方法的优点或弥补单一改性效果的不足,最大程度提高蛋白质的乳化性。

2.1.2 高压均质改善蛋白质的乳化性 高压均质是一种非热加工技术^[17],主要包括静态高压均质和动态高压均质。静态高压均质改性蛋白质是指将蛋白质放置在具有静电场的密闭容器内,在常温条件下对蛋白质施加一定静压力,通过破坏蛋白质分子的非共价键,改变其理化性质^[18]。动态高压均质改性蛋白质是指蛋白质溶液通过高压阀流动时,高压产生的强烈剪切力、空化和湍流作用会使蛋白质的二级、三级结构发生改变,从而改变其功能性质^[19]。高压均质技术因其高效快捷的作用方式,经济性、便捷性和安全性,已经被广泛应用到实际生产中。

Ma 等^[20]通过高压均质改变鳕鱼蛋白质的结构来提高其油水乳化液的贮藏稳定性。高压均质处理后鳕鱼蛋白质结构展开,疏水性和亲水性基团的暴露可以增强蛋白质在油水界面的吸附作用,提高鳕鱼蛋白的乳化稳定性。Cha 等^[19]发现高压均质处理可以显著提高由贻贝肌原纤维蛋白和卵磷脂稳定 O/W 乳状液的乳化活性和稳定性。当压力从 40 MPa 增加到 120 MPa 时,乳化活性指数和乳化稳定性指数逐渐增大,在 80 MPa 时达到最大值。这是因为高压均质处理后,蛋白质的溶解度增加,乳液表观黏度和电荷量增大。溶解性的增加可以促进蛋白

质在油水界面的扩散速度,乳状液黏度的改善有助于降低液滴的悬浮速度,使其保持较好的稳定性,而分散的油滴表面电荷增加,乳液液滴之间斥力增大,不易发生于凝结或絮凝,使稳定性提高。

2.1.3 挤压蒸煮技术 挤压蒸煮改性蛋白质是将蛋白质放在高温、高压和机械剪切力条件下,在短时间内使蛋白质结构部分展开和聚集的技术^[21-22]。挤压蒸煮过程中产生的高温会改变蛋白质表面亲水和疏水性位点的分布规律,使蛋白质的官能团暴露出来,而蛋白质的适当变性通常会提高蛋白质的表面活性^[23],有助于其在油—水界面处的吸附,并形成一层物理层,从而提高乳化稳定性。

Mozafarpour 等^[24]研究了挤压温度(110, 130, 160 °C)和水分含量(18%, 25%)对大豆浓缩蛋白结构和乳化性能的影响,发现当水分含量为 18% 时,蛋白质的乳化活性随着温度的升高而增大,在 160 °C 时达到最大值,大约提高了 2.2 倍,而当蛋白质中的水分含量增加到 25% 时,乳化活性大约提高了 1.6 倍,随着温度的升高,乳化活性变化不显著,产生这种现象的原因可能是当水分含量为 18% 时,挤压蒸煮技术可以使大豆蛋白产生更多新的疏水位点并且蛋白质柔性增强,更多的疏水性基团可以与油相更好接触,并且结构更灵活的蛋白质能在油水界面更快吸附,使其具有更高的乳化活性。而当水分含量为 25% 时,蛋白溶液中水分含量增多,蛋白质的流动性更强,由于蛋白质在挤压机内平均停留时间较短,蛋白质变性程度减弱,蛋白质分子暴露出较少的疏水性基团,乳化性提高程度相对较低。因此,在挤压蒸煮过程中,蛋白质的含水量是影响改性后蛋白质乳化性的一个重要因素。

另外,挤压蒸煮技术也可以通过促进蛋白质的酶解反应,进一步提高蛋白质的乳化性。Chen 等^[25]发现由花生蛋白稳定乳状液的体积平均粒径(D_{43})为 29.4 μm 。当对花生蛋白进行单一酶解处理,水解程度为 0.9% 时,所稳定乳液的 D_{43} 为 20.6 μm 。而对于挤压蒸煮后的花生蛋白,在相同酶解条件下,酶解程度为 6.2%,酶解产物所稳定乳液的 D_{43} 为 4.5 μm ,并且形成的乳状液液滴分布均匀,表明经挤压蒸煮预处理后花生蛋白酶解所得产物具有更好的乳化性。这是因为挤压预处理过程中产生的剪切力和高温可以改变蛋白质的构象,蛋白质分子展开以及重新排列,使其形成易被蛋白酶利用的层状结构,在相同的酶解条件下,与单一酶解相比,挤压蒸煮之后蛋白的水解程度显著升高,木瓜蛋白酶可以更有效地将挤压蒸煮之后的不可溶蛋白质多肽解聚成较小可溶性多肽,而蛋白质的溶解度提高有利于其在油水界面的吸附,进而改善其乳化性。这些结果表明,挤压蒸煮协同酶解处理比单一的酶解处理能更有效改善花生蛋白的乳化性能。

2.1.4 旋流空化 旋流空化是一种新兴的工艺技术,旋流空化可以产生与超声相同的空化现象^[26]。空化泡的破裂会引发各种物理化学效应,包括产生剪切力、冲击波、高温、压力以及自由基。旋流空化产生的化学效果优于超声空化,并且旋流空化的能源效率高于超声空化^[27]。目前旋流空化技术已经应用于蛋白质改性研究。Yang等^[27]研究了不同压力和时间的旋流空化对大豆分离蛋白(SPI)乳化性质的影响,结果发现与未处理的SPI相比,处理后的SPI具有更高的乳化活性和乳化稳定性,油滴尺寸和絮凝指数减小,界面吸附蛋白含量增大,表明旋流空化技术可能是改善大豆蛋白乳化性的一种有效技术。

2.2 化学改性

化学改性蛋白质主要是通过化学试剂作用使蛋白质肽链部分断裂或引入新的活性官能团使蛋白质分子结构、电荷特性和亲疏水基团等发生改变,从而对蛋白质分子结构进行有效修饰^[28],主要包括pH偏移、磷酸化反应等。

2.2.1 pH偏移对蛋白质乳化性的影响 pH偏移改性蛋白质是指在极端pH条件下使蛋白质结构展开,然后在中性环境中诱导蛋白重新折叠^[29]。蛋白质经历展开一再折叠过程,分子构象会发生部分改变,乳化性从而改变。研究^[30]表明,大豆分离蛋白、豌豆蛋白和肌浆蛋白经过pH偏移处理后,其功能特性显著增强。Chen等^[30]将乳清蛋白在pH 12条件下反应1 h,随后调回中性诱导蛋白结构折叠。结果发现该条件下处理后花生蛋白的乳化活性指数从7.073 m²/g增加到了7.193 m²/g,乳化稳定性指数从66.5 min增加到了73.34 min。这是因为pH 12偏离蛋白质的等电点,可能导致蛋白质分子内较强的静电排斥作用,从而导致蛋白质结构展开,疏水基团或区域暴露,蛋白质分子灵活性增加。而这些改变均可以促进乳清蛋白分子与水相及油相的接触,增强其界面吸附特性。

另外,研究还发现pH—偏移协同温热处理可以更有效地改善蛋白质的乳化特性。Wang等^[31]将大麻种子蛋白在不同温度(20~60℃) pH 12条件下处理5 min使其结构展开,后将溶液的pH值调回pH 7诱导蛋白质折叠。结果发现,未处理组蛋白质的乳化活性指数为5.63 m²/g, pH 12处理之后蛋白质的乳化活性指数为5.43 m²/g,表明单独在pH 12条件下处理并没有显著改善蛋白质的乳化性。而对于pH 12结合温热处理改性的蛋白质,随着热处理温度的升高(20~60℃),蛋白质的乳化活性指数从5.43 m²/g增加到7.39 m²/g,蛋白质的TSI值由8.81降低至1.08,共聚焦显微镜下油滴尺寸逐渐减小,且分布更均匀,表明pH 12结合温热处理能更显著改善蛋白质的乳化性。溶解度和表面疏水性是影响蛋白质乳化性的重要因素。单一的pH 12处理时,蛋白质溶解度改善不显著($P>0.05$),并且pH偏移过程中屏蔽

了带电基团,不利于蛋白与水之间的相互作用,进而不能明显改善蛋白质的乳化性。而pH—偏移协同温热处理之后的蛋白质溶解度和表面疏水性明显增大,二者的增加使蛋白质的亲水和亲油性显著增强,从而使蛋白质的乳化性增强。

2.2.2 磷酸化反应 磷酸可以选择性地与蛋白质的侧链基团,如丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸中的一OH基团,赖氨酸的 ϵ -NH₂,组氨酸咪唑环的1,3个氮原子发生反应,在蛋白质分子表面引入更多的负电荷,增强蛋白质的水化作用,从而提高蛋白质的乳化性^[32]。

磷酸化反应改善蛋白乳化性的关键因素是控制其磷酸化程度。Hu等^[32]将米糠蛋白在不同pH值(3,5,7,9,11)条件下采用三偏磷酸钠进行水热磷酸化反应,结果发现在pH 9.0条件下磷酸化所得米糠蛋白具有最高的溶解性和乳化活性,米糠蛋白的溶解度和乳化活性分别提高了8.7倍和8.1倍。一方面,随着磷酸盐含量的增加,米糠蛋白表面的净负电荷增加。在乳液的制备过程中,液滴的电位绝对值越大,液滴的静电斥力越强,液滴之间不易聚集和结合。另一方面,亲水性/疏水性平衡也可以影响蛋白质的乳化活性,蛋白质被吸收并迅速移动到油/水界面后,可通过疏水相互作用来稳定油滴的聚集状态。磷酸化处理使米糠蛋白的表面疏水性增大,亲水亲油平衡较好,油滴更容易被蛋白质固定,从而使其乳化性得到改善。同理,Sánchez-Reséndiz等^[33]采用三偏磷酸钠对花生蛋白和大豆蛋白进行磷酸化处理也得到类似结论。

2.3 酶法改性

酶法改性主要是指通过酶解反应使蛋白质分子中多肽链断裂、分子内或分子间交联以及蛋白质分子侧链基团发生改变,从而使蛋白质分子的组成、空间结构及理化性质发生变化,进而改善其功能特性^[34]。酶法改性常用酶的种类主要有蛋白酶^[35]、转谷氨酰胺酶^[36]、胰蛋白酶^[37]等。

选取最佳酶解反应条件并控制蛋白水解度是改善蛋白质乳化性的关键因素。Ghribia等^[38]研究了碱性蛋白酶对鹰嘴豆分离蛋白乳化性的影响,结果发现蛋白质的乳化性随着酶解程度的增加先增大后减小,在蛋白水解度较低(4%)时,鹰嘴豆蛋白的乳化活性大约是未酶解蛋白质的1.85倍。碱性蛋白酶可以将鹰嘴豆蛋白分解成小分子多肽,而多肽分子具有更强的灵活性,更易吸附到油水界面。而当水解度>4%时,蛋白质的乳化活性逐渐下降,可能是因为酶解程度过高时,水解过程中产生过多的小分子多肽在界面的相互作用减弱,界面膜黏弹性下降,并且由于多肽分子间的电荷排斥作用,低分子量肽在界面上既不能展开也不能重新定向排列,导致乳化性降低^[38]。Liu等^[39]发现经微生物谷氨酰胺转氨酶(MTG)改性后的蚕豆分离蛋白是一种高效乳化剂,经最佳改性

时间(60 min)改性后的蚕豆分离蛋白,在改善乳液脂质氧化稳定性的同时,还可保持乳液物理稳定性,但延长 MTG 处理时间(>60 min)可能导致蛋白质严重变性,过高的表面疏水性会降低蛋白质的水溶性和表面活性,不利于蛋白质在油水界面吸附,从而减弱其乳化性。这些研究表明采用酶法改善蛋白乳化性时,需要根据蛋白质的性质来控制反应时间和反应条件。

酶法改性也可以和物理方法(高压微射流,超微粉碎)相结合来改善蛋白质的乳化性质。张雪春等^[40]采用胰蛋白酶处理花生蛋白得到花生蛋白酶解液,然后对酶解液进行高压均质处理,研究均质压力对花生蛋白酶解液乳化性的影响。结果发现在均质压力为 100 MPa 时,乳化性达到最高。这可能是由于高压均质可使花生蛋白酶解物的粒径变小,溶解性增大;同时蛋白酶解物的柔性增大,吸附到乳液表面量增多,乳化性增强。但均质压力过大时(>100 MPa),可能会使花生蛋白酶解物聚集,乳化性下降。Wang 等^[41]研究了超微粉碎处理时间对转谷氨酰胺酶交联乳清分离蛋白结构、理化及乳化性能的影响。结果发现超微粉碎结合转谷氨酰胺酶处理后乳清蛋白的乳化性和黏度高于单独转谷氨酰胺酶处理乳清蛋白的乳化特性和黏度。这是因为超细粉碎处理可以提高转谷氨酰胺酶交联度,从而改善了转谷氨酰胺酶交联乳清蛋白的乳化性。

3 展望

通过物理、化学以及酶法改性对蛋白质的结构进行修饰,可以得到乳化性较好的蛋白质,对于单一改性方法,控制改性过程参数是得到具有理想乳化性蛋白质的关键。随着单一物理化学方法被广泛用于修饰蛋白质,多种高新技术相结合来改善蛋白质的乳化性是今后蛋白质改性研究的一个主要发展方向,且研究协同相互作用的内在机理是以后研究需要解决的问题。另外,随着更多新型技术的诞生,采用更新颖和更高新的技术进而更有效地改善蛋白质的乳化性也是今后的一个研究方向。

参考文献

[1] ISLAM A M, PHILLIPS G O, SLJIVO A, et al. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum Arabic[J]. Food Hydrocolloids, 1997, 11(4): 493-505.

[2] SUI Xiao-nan, BI Shuang, QI Bao-kun, et al. Impact of ultrasonic treatment on an emulsion system stabilized with soybean protein isolate and lecithin: Its emulsifying property and emulsion stability[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 727-734.

[3] LI Dan, ZHAO Yue, WANG Xu, et al. Effects of (+)-catechin on a rice bran protein oil-in-water emulsion: Droplet

size, zeta-potential, emulsifying properties, and rheological behavior[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 98: 105306.

[4] LI Qun, WANG Zhi-gao, DAI Cai-xia, et al. Physical stability and microstructure of rapeseed protein isolate/gum Arabic stabilized emulsions at alkaline pH[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 88: 50-57.

[5] PILLAI P K S, WICKER L, NICKER M T, et al. Effect of enzyme de-esterified pectin on the electrostatic complexation with pea protein isolate under different mixing conditions[J]. Food Chemistry, 2020, 305: 125433.

[6] 耿蕊, 卢岩, 孔保华, 等. pH 偏移结合加热处理对大豆分离蛋白乳化特性的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(1): 173-180.

[7] 郭超凡, 王云阳. 蛋白质物理改性的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(2): 428-433.

[8] WEN Chao-ting, ZHANG Ji-xian, YAO Hui, et al. Advances in renewable plant-derived protein source: The structure, physicochemical properties affected by ultrasonication[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2019, 53: 83-98.

[9] HU Hao, FAN Xin, ZHAO Zhi, et al. Acid-induced gelation behavior of soybean protein isolate with high intensity ultrasonic pre-treatments[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20: 187-195.

[10] ZHANG Qiu-ting, TU Zong-cai, XIAO Hui, et al. Influence of ultrasonic treatment on the structure and emulsifying properties of peanut protein isolate[J]. Food and Bioproducts Processing, 2014, 92: 30-37.

[11] ZHU Zhen-bao, ZHU Wei-duo, YI Jian-hua, et al. Effects of sonication on the physicochemical and functional properties of walnut protein isolate[J]. Food Research International, 2018, 106: 853-861.

[12] MALIK M A, SHARMA H K, SAINI C S, et al. High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal: Effect on physicochemical and functional properties[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 39: 511-519.

[13] LI Ke, FU Lei, ZHAO Ying-ying, et al. Use of high-intensity ultrasound to improve emulsifying properties of chicken myofibrillar protein and enhance the rheological properties and stability of the emulsion[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 98: 105275.

[14] MA Wu-chao, WANG Jia-mei, XU Xian-bing, et al. Ultrasound treatment improved the physicochemical characteristics of cod protein and enhanced the stability of oil-in-water emulsion [J]. Food Research International, 2019, 121: 247-256.

[15] 李杨, 田甜, 刘军, 等. 超声对大豆分离蛋白结构及乳化特性影响研究[J]. 食品工业, 2019, 40(1): 184-188.

[16] SHEN Xue, FANG Tian-qi, GAO Feng, et al. Effects of

- ultrasound treatment on physicochemical and emulsifying properties of whey proteins pre- and post-thermal aggregation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63: 668-676.
- [17] LI Yu-feng, CHEN X, XUE S W, et al. Effect of the disruption chamber geometry on the physicochemical and structural properties of water-soluble myofibrillar proteins prepared by high pressure homogenization (HPH) [J]. *LWT- Food Science and Technology*, 2019, 105: 215-223.
- [18] 薛路舟, 陈淑花, 夏远景, 等. 超高压处理对生物大分子的影响研究进展[J]. *食品工程*, 2009(1): 19-22.
- [19] CHA Yue, SHI Xiao-jie, WU Fan, et al. Improving the stability of oil-in-water emulsions by using mussel myofibrillar proteins and lecithin as emulsifiers and high-pressure homogenization[J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 258: 1-8.
- [20] MA Wu-chao, WANG Jia-mei, WU Di, et al. Physicochemical properties and oil/water interfacial adsorption behavior of cod proteins as affected by high-pressure homogenization[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 10: 105429.
- [21] CHEN Liang-feng, WEI Yi-min, ZHANG Bo, Chemical cross-linking and molecular aggregation of soybean protein during extrusion cooking at low and high moisture content[J]. *LWT- Food Science and Technology*, 2011, 44(4): 957-962.
- [22] GUERRERU P, BEATTY E, KERRY J P, et al. Extrusion of soy protein with gelatin and sugars at low moisture content[J]. *Journal of Food Engineering*, 2012, 110(1): 53-59.
- [23] BUENO A S, PEREIRA C M, MENEGASSI B, et al. Effect of extrusion on the emulsifying properties of soybean proteins and pectin mixtures modelled by response surface methodology[J]. *Journal of Food Engineering*, 2009, 90(4): 504-510.
- [24] MOZAFARPOUR R, KOOCHEKI A, MILANI E et al. Extruded soy protein as a novel emulsifier: Structure, interfacial activity and emulsifying property[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 93: 361-373.
- [25] CHEN Lin, CHEN Jian-she, YU Lin, et al. Emulsification performance and interfacial properties of enzymically hydrolyzed peanut protein isolate pretreated by extrusion cooking[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 77: 607-616.
- [26] WANG Xi-kui, WANG Jin-gang, GUO Pei-quan, et al. Chemical effect of swirling jet-induced cavitation: Degradation of rhodamine B in aqueous solution[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2008, 15: 357-363.
- [27] YANG Feng, LIU Xue, HUANG Xian'e, et al. Swirling cavitation improves the emulsifying properties of commercial soy protein isolate[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2018, 42: 471-48.
- [28] 王迪, 代蕾, 高彦祥. 蛋白质酶法改性研究进展[J]. *食品科学*, 2018, 39(15): 233-239.
- [29] JIANG Jiang, WANG Qing-ling, XIONG You-ling, et al. A pH shift approach to the improvement of interfacial properties of plant seed proteins[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2018, 19: 50-56.
- [30] CHEN Wei-jun, WANG Wen-jun, MA Xiao-bin, et al. Effect of pH-shifting treatment on structural and functional properties of whey protein isolate and its interaction with (-)-epigallocatechin-3-gallate[J]. *Food Chemistry*, 2019, 274(15): 234-241.
- [31] WANG Qing-ling, JIN Yan, XIONG You-ling, et al. Heating-aided pH shifting modifies hemp seed protein structure, cross-linking, and emulsifying properties[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66: 10 827-10 834.
- [32] HU Zhen-ying, QIU Liang, SUN Yong, et al. Improvement of the solubility and emulsifying properties of rice bran protein by phosphorylation with sodium trimetaphosphate [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 96: 288-299.
- [33] SANCHEZ-RESENDIZ A, RODRIGUEZ-BARRIENTOS S, RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, et al. Phosphoesterification of soybean and peanut proteins with sodium trimetaphosphate (STMP): Changes in structure to improve functionality for food applications[J]. *Food Chemistry*, 2018, 260(15): 299-305.
- [34] 程云龙, 管军军, 李世豪. 酶法改性大豆分离蛋白最新研究进展[J]. *粮食与饲料工业*, 2015(3): 20-23, 27.
- [35] 常慧敏, 杨敬东, 田少君. 超声辅助木瓜蛋白酶改性对米糠蛋白溶解性和乳化性的影响[J]. *中国油脂*, 2019, 44(4): 35-40.
- [36] 薛雨菲, 张玥, 程怡媚, 等. 酶法改性对核桃谷蛋白微观结构及功能特性的影响[J]. *食品与机械*, 2019, 35(10): 18-23.
- [37] 宋春丽, 任健, 陈佳鹏, 等. 糖基化与胰蛋白酶酶解对大豆蛋白构象和功能性质的影响[J]. *中国油脂*, 2017, 42(12): 22-25.
- [38] GHRIBIA A M, GAFSIA I, SILA A, et al. Effects of enzymatic hydrolysis on conformational and functional properties of chickpea protein isolate[J]. *Food Chemistry*, 2015, 187(15): 322-330.
- [39] LIU Chang, DAMODARAN S, HEINONEN M, et al. Effects of microbial transglutaminase treatment on physicochemical properties and emulsifying functionality of faba bean protein isolate [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 99: 396-403.
- [40] 张雪春, 王振兴, 涂宗财, 等. 酶—微射流复合改性花生蛋白及其在微胶囊粉末油脂中的应用研究[J]. *中国油脂*, 2014, 39(11): 32-35.
- [41] WANG Chun-yan, LI Tian-qi, MA Ling, et al. Consequences of superfine grinding treatment on structure, physicochemical and rheological properties of transglutaminase-crosslinked whey protein isolate[J]. *Food Chemistry*, 2020, 309(30): 125757.