

豆浆中风味物质形成、与蛋白的互作机制及生物法改善豆浆风味的研究进展

高 宇¹, 齐宝坤¹, 廖 一¹, 闫世长¹, 李 杨¹, 黄雨洋^{2,*}

(1.东北农业大学食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2.哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150028)

摘 要: 豆浆作为一种营养丰富的植物基蛋白饮品, 在全球范围内受到消费者的喜爱。然而, 其特有的不良风味往往影响消费者的接受度, 限制了豆浆产品的市场推广。本文探讨豆浆中风味物质的形成机理、这些风味物质与豆浆中的蛋白质之间的相互作用机制以及通过生物方法改善豆浆风味的研究进展。通过无脂氧合酶大豆品种的开发、酶处理和微生物发酵等生物方法, 可以有效地改善豆浆的风味, 同时保持其营养价值。最后对未来改善豆浆风味的研究方向做出展望, 以期为豆浆及其制品的品质提升和市场推广提供理论依据, 为推动我国大豆制品市场的发展做出贡献。

关键词: 豆浆; 风味物质-蛋白质互作; 生物方法; 风味改良

Research Progress in the Formation of Flavor Substances in Soymilk, Their Interaction Mechanism with Proteins and Biological Methods for Improving the Flavor of Soymilk

GAO Yu¹, QI Baokun¹, LIAO Yi¹, YAN Shizhang¹, LI Yang¹, HUANG Yuyang^{2,*}

(1. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

2. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

Abstract: Soymilk, as a nutritious plant-based protein drink, is favored by consumers worldwide. However, its undesirable flavor often affects consumer acceptance and limits the marketing of soymilk products. In this review, we summarize recent advances in understanding the formation mechanism of flavor substances in soymilk and their interaction mechanism with proteins in soymilk, and recent progress in improving the flavor of soymilk while maintaining its nutritional value through biological methods such as developing lipoxxygenase-free soybean varieties, enzymatic treatment, and microbial fermentation. Finally, we point out future research directions for improving the flavor of soymilk, with a view to providing a theoretical basis for the quality improvement and marketing of soymilk and its products and contributing to the development of the soybean product market in China.

Keywords: soymilk; flavor substance-protein interactions; biological methods; flavor improvement

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240618-127

中图分类号: TS214.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2025) 02-0280-10

引文格式:

高宇, 齐宝坤, 廖一, 等. 豆浆中风味物质形成、与蛋白的互作机制及生物法改善豆浆风味的研究进展[J]. 食品科学, 2025, 46(2): 280-289. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240618-127. <http://www.spkx.net.cn>

GAO Yu, QI Baokun, LIAO Yi, et al. Research progress in the formation of flavor substances in soymilk, their interaction mechanism with proteins and biological methods for improving the flavor of soymilk[J]. Food Science, 2025, 46(2): 280-289. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240618-127. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2024-06-18

基金项目: 黑龙江省重点研发计划项目 (GA23B020)

第一作者简介: 高宇 (2000—) (ORCID: 0009-0007-8840-952X), 男, 硕士研究生, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程。

E-mail: 18746730746@163.com

*通信作者简介: 黄雨洋 (1979—) (ORCID: 0000-0001-8150-4902), 女, 副教授, 博士, 研究方向为天然产物分离纯化及功能性。E-mail: huangyuyang1979@163.com

豆制品的发展已经有很长的历史，特别是在亚洲国家。常见的豆制品有豆浆、豆腐、酱油、纳豆、黄豆酱等^[1]。豆浆是由全豆经过简单的水提取制得的产品，具有丰富的营养和出色的功能特性，其功效包括降低胆固醇水平、预防癌症以及缓解体内氧化应激^[2]。此外，豆浆也是许多传统豆制品和新兴植物基产品的主要原料，例如腐竹、大豆酸奶、大豆奶酪和大豆冰淇淋。但由于其中存在着令人不快的风味，主要表现为青草味、脂肪味等，影响了消费者对其的接受程度，导致食用人群受到限制，严重制约了豆浆产品的市场推广。

豆浆的风味是大豆在生长以及在浸泡、研磨等加工过程中形成的多种挥发性化合物共同作用的结果。人们对豆浆的风味感知主要取决于香气分子的组成，以及在豆浆中风味化学物质的释放或保留程度。风味学家表明蛋白质与风味物质之间的相互作用对食品风味有重要的影响^[3]。尽管豆浆中的蛋白质本身并不具有明显的风味，但它们被认为可以与风味化合物结合并吸收，从而影响豆浆食用时的风味感知^[4]。已有研究表明，当结合风味分子时，蛋白质的构象会发生改变^[5]。一般来说，未折叠或适度变性的蛋白质可以提供大量具有强或弱作用力的结合位点来吸引具有活性基团的风味配体^[6]。因此，任何影响蛋白质结构的因素都会改变蛋白质的风味结合能力，从而对食品的风味产生影响。

随着世界范围内消费者对高质量产品的偏好，如何采用干预措施来改善豆浆的风味已经成为了相关行业亟待解决的问题。热处理被报道是降低豆腥味和抗营养因子的有效方法^[7]。此外，近年来一些新颖的加工策略如 γ 射线和电子束辐照、等离子体活化水、有机溶剂萃取、还原剂抑制等均已被应用于改善豆浆的风味特征^[8]。但相较于可能导致蛋白质变性，并对营养和风味产生负面影响的物理方法以及可能残留化学物质对人体产生一定安全隐患的化学方法，生物方法更加温和，能够高效环保地生产出营养丰富、具有一定保健功效且风味得到有效改善的豆浆^[9-10]，从而满足如今人们对植物基食品的需求，因此有着很大的潜力和应用前景。

本文重点综述迄今为止研究所得出的豆浆中风味物质与蛋白的相互作用机制以及通过生物方法改善其风味的研究进展，以期改善豆浆的风味提供参考，并为未来豆浆及其制品的发展和推广提供理论依据。

1 豆浆中的风味物质及其形成机理

1.1 豆浆中的风味物质

大豆风味的研究可以追溯至20世纪70年代，Wilkens等^[11]利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱（headspace-solid phase microextraction-gas chromatography-mass

spectrometry，HS-SPME-GC-MS）联用的方法对豆浆的风味物质进行了分析，确定了己醛和己醇是豆浆中豆腥味的主要组分。Yuan Shaohong等^[12]同样采用SPME-GC-MS法分析出己醛、己醇、反-2-壬烯醛、1-辛烯-3-醇、反,反-2,4-癸二烯醛都是对豆浆风味贡献较大的挥发性物质。Min等^[13]在探究大豆品种及产区对豆浆风味影响时，采用动态顶空稀释分析法和毛细管气相色谱法分离5个大豆品种制备的豆浆挥发性物质，发现2-戊基呋喃也是豆腥味的主要相关物质。Navicha等^[14]则是通过SPME-GC-MS分析出己醛、1-戊醇、2-庚酮、2-己烯醛、2-戊基呋喃、乙酸、2-辛酮、辛醛、1-己醇、3-辛烯-2-酮、1-辛烯-3-醇、苯甲醛、2,4-癸二烯醛和2,4-壬二烯醛等一系列豆浆中的风味物质。Matsui等^[15]通过SPME-GC-MS技术鉴定出1-辛烯-3-醇这一风味物质，并进一步利用高效液相色谱-串联质谱技术识别并确认了其糖苷形式的存在。以上多个研究利用不同分析方法，证实了豆浆风味主要受己醛、己醇等酶促氧化途径生成的挥发性化合物影响，同时发现自氧化和光氧化途径形成的反-2-庚烯醛、2-戊基呋喃也对其风味有显著贡献。此外，1-辛烯-3-醇的生成机制也得到了阐明，它不依赖于传统的需氧酶促途径，而是作为糖苷形式储存，水合过程中，该化合物通过酶解从糖苷中释放，这为深入理解豆浆风味提供了重要依据。如表1所示，超过20种挥发性化合物已被报道与豆浆风味相关，这些化合物主要包括脂肪醛、脂肪醇、脂肪酮、呋喃类、芳香族化合物等^[16]。

表1 豆浆中主要挥发性风味成分、气味阈值及其风味特征^[17-18]
Table 1 Major volatile flavor components, odor thresholds and their flavor characteristics in soymilk^[17-18]

挥发性风味成分	CAS号	气味阈值/ ($\mu\text{g/L}$)	风味特征
醛类			
戊醛	110-62-3	0.008	刺鼻气味
己醛	66-25-1	0.004 5	青草味、割草味
庚醛	111-71-7	0.003	干鱼味
辛醛	124-13-0	0.000 7	脂肪味、辛辣味
壬醛	124-19-6	0.001	青草味、脂肪味
苯甲醛	100-52-7	0.003	苦杏仁味
顺-3-己烯醛	6789-80-6	0.000 12	青草味
反-2-己烯醛	6728-26-3	0.082	叶子味
反-2-庚烯醛	18829-55-5	0.013	肥皂味、脂肪味
反-2-辛烯醛	2548-87-0	0.003	脂肪味、青草味、黄瓜味
反-2-壬烯醛	18829-56-6	0.000 4	豆腥味、青草味
反,反-2,4-庚二烯醛	5910-85-0	0.002 56	脂肪味、鱼腥味
反,反-2,4-壬二烯醛	5910-87-2	0.000 1	脂肪味
反,反-2,4-癸二烯醛	25152-84-5	0.000 027	香料味
酸类			
乙酸	64-19-7	180	酸味
酮类			
2-庚酮	110-43-0	3	花香味
2-辛酮	111-13-7	0.05	肥皂味、花香味
1-戊烯-3-酮	1629-58-9	0.000 9	辛辣味、洋葱味

续表1

挥发性风味成分	CAS号	气味阈值/ ($\mu\text{g/L}$)	风味特征
1-辛烯-3-酮	4312-99-6	0.000 003	蘑菇味
醇类			
戊醇	71-41-0	0.150 2	青草味、蜡味
异戊醇	123-51-3	0.004	香醋味
己醇	111-27-3	0.5	青草味、豆腥味
庚醇	111-70-6	3	甜酒味、坚果味
1-戊烯-3-醇	616-25-1	0.358 1	青草味、豆腥味
1-辛烯-3-醇	3391-86-4	0.007	蘑菇味
吡嗪类			
2-异丙基-3-甲氧基吡嗪	93905-03-4	0.000 8	类似豌豆味、泥土味
呋喃类			
2-戊基呋喃	3777-69-3	0.005 8	豆腥味
2-乙基呋喃	3208-16-0	0.002 3	豆腥味、泥土味

风味是香气、味道和口感的结合，食品风味的形成不仅与其中风味物质的含量相关，也与这些物质的气味阈值密切相关。引起嗅觉的最小物质浓度称为气味阈值，它是将气味物质浓度与人体感觉有机结合起来的一个量化指标^[19]。即使某种风味物质的含量较高，但如果其气味阈值也相对较高，那么它在食品风味中并不一定占据主导地位。相反，即使某种风味物质的含量很少，但如果其气味阈值很低，那么它也可能展现出强烈的气味特征。

表1总结了目前豆浆中与风味相关的主要挥发性化合物、气味阈值及其风味特征。由多不饱和脂肪酸降解形成的己醛和顺-3-己烯醛是豆浆中两种具有代表性的挥发性化合物。如表1所示，己醛具有青草味和割草味，在水中具有极低的阈值（0.004 5 $\mu\text{g/L}$ ），是对豆浆的风味贡献最大的重要挥发性化合物；来源于 α -亚麻酸氧化产生的顺-3-己烯醛也是豆浆风味的重要贡献者，具有极低的气味阈值（0.000 12 $\mu\text{g/L}$ ）^[17]。气味特征表现为蘑菇味的1-辛烯-3-醇因其含量较高且气味阈值低，也对豆浆风味有很大贡献。除此之外，反,反-2,4-壬二烯醛、反,反-2,4-癸二烯醛、1-辛烯-3-酮虽然含量不高，但气味阈值很低，因此也对豆浆的风味有较突出的贡献。

1.2 豆浆中风味物质的形成机理

经研究表明，豆浆中有关风味的挥发性化合物主要来自以下两条途径：酶促氧化以及非酶促氧化。酶促氧化反应主要是指脂氧合酶（lipoxygenase, LOX）-过氧化氢裂解酶（hydroperoxide lyase, HPL）氧化途径，而非酶促氧化反应包括自氧化途径和光氧化途径，主要由低价态金属离子、光等因素催化进行。

1.2.1 LOX-HPL氧化途径

酶促氧化是指有酶参与的氧化反应，参与脂质氧化的酶有两种，即LOX和HPL^[20]。LOX是一种广泛存在于动植物体内的非血红素含铁氧化还原酶，可以催化多不饱和脂肪酸如亚油酸（18:2）和亚麻酸（18:3）的脱氧反应，生成氢过氧化二十碳四烯酸和其他过氧羟基衍生物^[21]。

迄今为止，已发现3种大豆LOX同工酶，即LOX1、LOX2和LOX3^[22]。LOX3可进一步分为LOX3a和LOX3b；然而，由于它们具有相似的性质，因此被认为是同一种同工酶^[23]。HPL是一种膜结合血红素蛋白，是LOX-HPL氧化途径中继LOX之后的下游酶，属于细胞色素P450蛋白家族。HPL以生成的脂质氢过氧化物为底物，催化生成醛、醇和酮等挥发性化合物^[24]。根据催化底物过氧基团的位置，HPL可进一步分为3类；第1类可以特异性催化底物中C13位的过氧基团裂解形成C6和C12化合物，即13-HPL；第2类主要裂解脂质氢过氧化物中第9位的氧原子，形成两个C9化合物，即9-HPL；第3类9/13-HPL能够与9-和13-氢过氧化物反应，催化生成C6和C9醛^[25]。

Murphy^[26]提出在LOX介导的亚油酸反应中的自由基理论（图1A）和Noordermeer等^[27]提出的HPL催化机理（图1B）已被广泛认可。其作用机制为：当亚油酸顺,顺-1,4-戊二烯结构中C11位的亚甲基发生立体专一性夺氢反应，形成以碳原子为中心的烷基自由基^[28]，具有潜手性的潜-S（pro-S）氢原子分解成质子和电子，将LOX活性中心中的 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 时，该反应开始。C—H键过氧化反应的第一步涉及质子耦合电子转移（proton coupled electron transfer, PCET）机制，此时电子从底物的 π 系统转移到辅助因子的铁上，而质子则从底物的C11碳转移到辅助因子的羟基配位体上。自由基的未配位电子与相邻双键的电子结合，形成9-顺式、11-反式或10-反式、12-顺式共轭双键，从而保持稳定。之后，自由基迁移到C9或C13位置，并与三重氧作用生成过氧自由基中间体。然后， Fe^{2+} 通过将一个电子传递给过氧自由基而被氧化为 Fe^{3+} ，过氧自由基作为过氧化物阴离子生成，随后被质子化，生成9-亚油酸氢过氧化物或13-亚油酸氢过氧化物以及具有LOX活性的（ Fe^{3+} ）酶^[29]。之后由HPL催化的反应中，HPL活性中心的 Fe^{3+} 与脂肪酸氢过氧化物之间的相互作用导致过氧基团中O—O键的断裂，形成烷氧自由基和铁羟基络合物。然后，铁羟基络合物为脂肪酸氢过氧化物提供质子，同时从烷氧自由基中吸收电子，产生中间产物烯丙基醚阳离子基团。最后，中间产物经过重排生成C6醛和C12烯醇，但由于C12烯醇的不稳定性，随后会发生酮烯醇同分异构反应，生成 ω -氧代酸^[25]。通过HPL催化反应生成的这一系列短链脂肪族芳香族化合物在乙醇脱氢酶的作用下可以进一步还原为相应的醇类物质^[30]。最终，这些挥发性化合物可能会进一步聚集以激发豆浆风味。

在豆浆的加工过程中，浸泡后的大豆经过研磨这一步骤导致细胞结构破裂，使得原本隔离在大豆表皮和子叶中的脂质与LOX发生接触，从而触发了迅速的氧化反应，产生了豆腥味化合物。Feng Xiaoxiao等^[31]的研究精确地阐明了这一机制。在大豆浸泡期间，由于细

胞结构保持完整,亚油酸和亚麻酸仅在膜结合的LOX的作用下经历氧化,主要形成13-羟基过氧十八碳三烯酸(13-hydroperoxylinoleic acid, 13-HPOD/T)。然而,在大豆磨碎过程中,由于细胞的机械破坏,细胞质中的LOX也被释放出来,这导致接触到饱和脂肪酸的LOX增多,从而不仅形成13-HPOD/T,还同时产生了9-羟基过氧十八碳三烯酸(9-hydroperoxylinoleic acid, 9-HPOD/T)。这些氢过氧化物随后被HPL进一步裂解生成己醛或反-2-己烯醛,二者均为豆浆中豆腥味的主要来源。Feng Xiaoxiao等^[31]的研究不仅在分子水平上阐明了豆浆加工过程中酶促氧化途径生成风味化合物的机制,而且为控制和改良豆浆的风味提供了可能的途径。

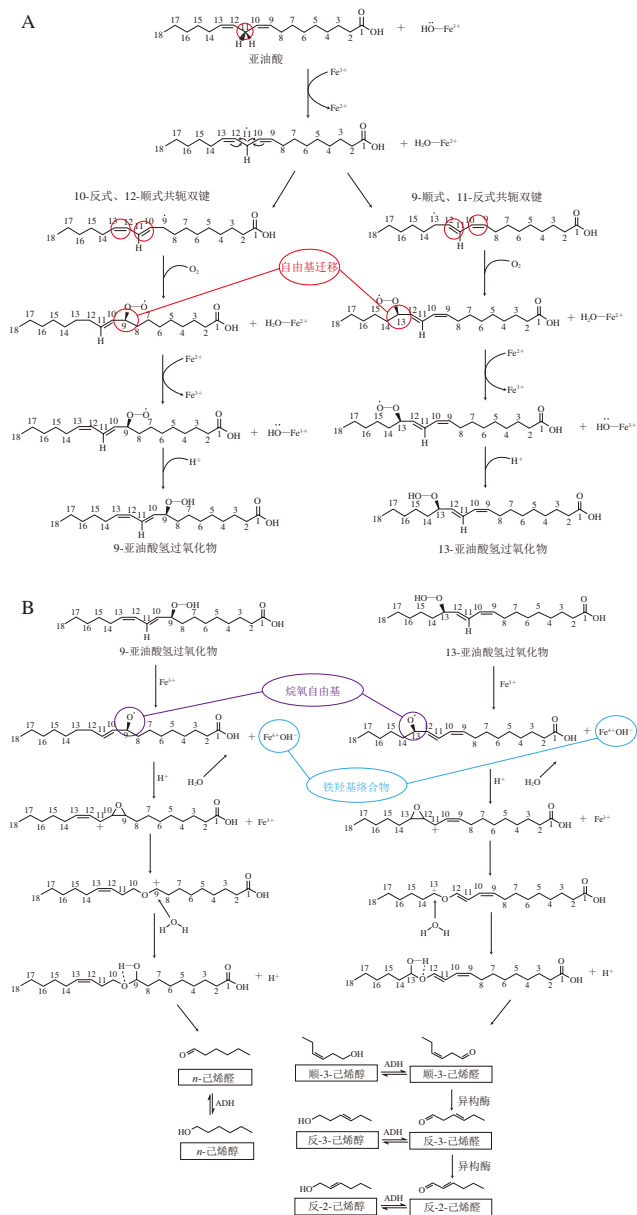


图1 LOX (A) 和HPL (B) 在LOX-HPL途径中的作用机制
Fig. 1 Action mechanisms of lipoxygenase (A) and hydroperoxide lyase (B) in the LOX-HPL pathway

1.2.2 自氧化途径

自氧化是不饱和脂肪酸与氧气相互作用的主要过程,因此会产生食品的氧化变质。1987年, Simic等^[32]通过指出食品体系中氧介导的氧化反应常被称为自氧化,为自氧化提出了一个非常简单且令人信服的解释。如图2所示,脂质分子自氧化过程通常表现为3个不同阶段的组合:自由基产生的链引发阶段、反应性化合物数量增加的链传播阶段,以及反应性化合物降解或相互反应形成非反应性化合物的链终止阶段。

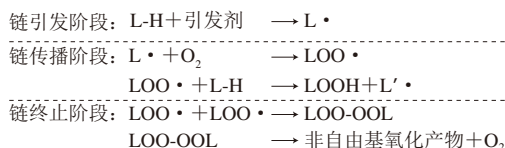


图2 脂质的自动氧化途径

Fig. 2 Auto-oxidation pathways of lipids

脂质(L-H)在光、热或金属催化剂等引发剂的作用下被活化,使其双键相邻的亚甲基碳原子有一个H原子被解离,形成脂质上的烷氧自由基(L·)。当活性氧存在时,烷基自由基(L·)上的活性位点可以与氧气结合生成脂质过氧自由基(LOO·),而后LOO·夺取其他脂质上的氢形成氢过氧化物和一个新的烷基自由基(L'·),此过程可以不断重复,从而形成一个反应链。随着链传播阶段中脂质过氧自由基逐渐积累起来,其含量达到峰值,反应会逐渐向过氧自由基相互作用的方向偏移,这时候体系内过氧自由基含量逐渐降低,进入链终止阶段^[17]。该过程是一个自由链反应过程,可以产生与豆浆中风味相关的化合物,从而影响豆浆的风味和品质。

在豆浆中,特定的脂质氧化产物,如反-2-庚烯醛,对风味特征有显著影响。Feng Xiaoxiao等^[33]的研究进一步阐明了这一过程的分子机制。他们发现,在豆浆的特定条件下,磷脂过氧化物(如12-磷脂氢过氧化物)可以与Fe²⁺反应形成复合物。这个复合物的分解产生了烷氧自由基(LO·)和过氧基脂质自由基(LOO·)。LO·通过α-断裂的方式快速裂解,生成了新的碳中心自由基(R·)和反-2-庚烯醛。这一发现不仅证实了脂质自由基链反应在食品体系中的作用,而且揭示了豆浆中特定风味化合物形成的可能途径。

1.2.3 光氧化途径

与自氧化不同,在光氧化过程中,不饱和脂肪酸通常通过非自由基途径产生。光氧化是单线态氧直接攻击不饱和脂肪酸双键的反应。除了自氧化中的基态(三重态)氧外,激发态(单重态)氧可以直接与C=Cs反应参与光氧化^[34]。单线态氧通过化学氧化、光化学和酶法以及氢过氧化物分解产生^[35]。单线态氧是一种主要的活性氧物种,很容易

(比三线态氧快1 500 倍)参与氧化过程。光诱导单线态氧的产生需要光敏剂(Sen)的存在,如叶绿素、核黄素、肌红蛋白和重金属等,这些物质广泛存在于自然界中。这些光敏剂从光(可见或紫外)吸收能量,被激活进入激发态(Sen^*)。激发态的单线态光敏剂非常不稳定,倾向于通过直接与脂质底物(I型光敏剂)反应或通过激活三线态氧到单线态氧(II型光敏剂)来恢复基态,从而容易启动氧化过程^[36]。光敏剂参与的脂质氧化反应如图3所示。

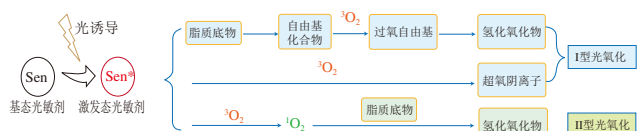


图3 光敏剂参与的脂质光氧化途径

Fig. 3 Lipid photo-oxidation pathways involving photosensitizers

I型光氧化通过自由基或自由基离子途径发生,导致氢过氧化物的形成;而在II型光氧化中,高亲电性的单线态氧直接与不饱和脂肪酸的 $\text{C}=\text{C}$ s反应,而不是通过自由基中间体。氢过氧化物在单线态氧的攻击过程中产生^[37]。

单线态氧对于光氧化比自氧化更为关键,因此单线态氧猝灭剂(β -胡萝卜素和生育酚)可以限制光氧化反应的发生,而氧气浓度对光氧化的影响较小^[38]。此外,豆浆中不饱和脂肪酸的数量和分布对光氧化反应有显著影响^[31]。由于不饱和脂肪酸中碳碳双键的存在,它们在光照和氧气的共同作用下更容易发生光氧化。随着不饱和脂肪酸含量的增加,这些双键的数量也随之增多,从而增加了光氧化的可能性,进而促进了特定风味物质,如2-戊基呋喃的形成。这种物质是光氧化过程中产生的代表性风味化合物。

为了降低光氧化反应,可以通过调控脂肪酸组成和优化豆浆的配方来实现。具体而言,可以通过选择那些天然含有较高饱和脂肪酸的大豆品种进行加工,以增加饱和脂肪酸的比例,从而降低不饱和脂肪酸的相对含量,进而减少光氧化的风险。此外,在豆浆生产过程中通过添加 β -胡萝卜素和生育酚等单线态氧猝灭剂,可以与单线态氧反应,将其转化为无害的三线态氧,限制光氧化反应发生,从而保护豆浆中的不饱和脂肪酸免受氧化损伤,进而有效地管理和优化豆浆的风味特性。

2 风味物质-蛋白质相互作用对豆浆风味的影响机制

在食品系统中,风味化合物与食品基质成分之间的相互作用会通过改变挥发性风味的释放速率对风味感知产生深远的影响。蛋白质在这方面尤为重要,因为许多蛋白质具有结合和整合亲脂性分子的能力。为了掌握豆

浆中最佳风味载体和释放特性,有必要对风味物质-蛋白质互作的机制进行细致分析。

2.1 风味物质-蛋白质相互作用的机制及其调控方法

在高水分含量的食品体系中,风味物质-蛋白质相互作用的机制不仅取决于水分含量,还取决于蛋白质侧链的数量和结构,它们可以提供非共价作用力和共价作用力等多种作用力^[39]。一般而言,大多数非共价作用力是可逆的,如范德华作用、离子键、氢键和疏水作用等^[40]。研究发现,在风味物质-蛋白质相互作用过程中,蛋白质和风味物质的疏水性呈现正相关性^[41]。然而,一些风味分子可以通过共价结合的方式与蛋白质的侧链相互作用,包括醛-赖氨酸和胺-羰基,这些相互作用通常是不可逆的。含硫化合物与蛋白质的结合也可以归类为共价相互作用^[42-43]。蛋白质和风味物质共价键的形成是导致食品香气损失和货架期缩短的原因^[44]。只有通过非共价作用力与蛋白质相互作用的香气才有利于含蛋白质食品的整体风味特征。可逆结合作用可用于减少加工过程中风味的损失和在消费过程中风味成分的重新释放,而非可逆结合作用在去除食品中的异味方面具有重要作用^[45-46]。

由于蛋白质和风味物质在化学结构和官能团上的差异,目前还没有统一的理论来解释风味物质-蛋白质之间的相互作用^[47]。一般研究倾向于认为风味成分与蛋白质的结合强度依次为:醛类>酮类>醇类^[48-49]。当风味分子具有相同的化学类别时,随着脂肪链长度的增加,可以观察到较高的风味保留效果^[47]。与酮类化合物相比,醛类化合物通常与蛋白质有更高的结合亲和力。醇类的结合亲和力是酮类的3倍。然而,同一类挥发性化合物的结合亲和力随着碳链的增加而增加,Wang Juan等^[50]证明了上述观点,认为丁醇比己醇具有更高的结合常数。

豆浆中蛋白的结构也是影响结合亲和力的主要因素。风味化合物可以通过疏水相互作用与蛋白质结合。在这种情况下,改变蛋白质构象和暴露或破坏内部疏水区域的因素将改变与风味化合物的结合亲和力^[17]。因此,通过靶向修饰大豆蛋白结构或调控食品体系中的关键外部因素,可有效改变蛋白与风味物质之间的结合亲和力,从而达到改善豆浆风味的目的。

目前,改变大豆蛋白与风味物质之间的结合亲和力的方法主要有3种,包含物理、化学和酶法对大豆蛋白进行改性,改变其与风味物质的结合亲和力。在食品体系中,温度和pH值等因素的变化会改变蛋白质与风味物质的相互作用,影响食品体系的风味。Kühn等^[51]研究了80℃条件下2-壬酮与乳清分离蛋白的结合,随着加热时间的延长,2-壬酮的结合能力呈下降趋势。加热80 min后,2-壬酮的结合能降低了20%。Guo Jun等^[52]研究了pH 3.0、6.0和9.0条件下大豆分离蛋白(soy protein

isolate, SPI) 与风味物质的相互作用。结果表明, 改变溶液的pH值可以显著影响大豆蛋白的聚集, 而SPI的结构可以通过特定的多肽亚基重组而发生改变。此外, 在pH 3.0条件下, 乙酸己酯的风味结合常数 K 值为630 L/mol, 而SPI (5 400 L/mol, pH 6.0) 和乙酸庚酯 (1 300 L/mol, pH 9.0) 的 K 值急剧上升, 这是SPI亚基之间的界面紧缩所致。另有研究发现, 在大豆蛋白溶液中添加丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 后, 大豆蛋白与风味物质的结合能力发生改变。在低浓度MDA (1 mmol/L) 条件下, SPI与醇类和醛类的结合亲和力增加。这可以通过未折叠结构和暴露的疏水基团增加SPI表面疏水性的证据来证实。当MDA浓度超过2.5 mmol/L时, SPI被高度氧化, 与己醛、壬醛等风味物质与蛋白质之间的结合减弱, 而与反式-2-己烯醛和1-辛烯-3-醇的结合增强。结果表明结合机制中的疏水相互作用减弱, 而共价相互作用在高氧化水平下得到增强^[49]。Suppavorasatit等^[53]采用平衡透析 (超滤) 技术结合蛋白质谷氨酰胺酶研究了SPI与香草醛和麦芽酚的结合亲和力。结果表明, 酶解后两种风味物质 (香草醛和麦芽酚) 与大豆蛋白在25 °C条件下的结合亲和力降低。Lv Tong等^[54]的研究表明, 经胰蛋白酶 (质量分数1%~10%) 处理的肌球蛋白对醛酮类物质的吸收能力增加, 其将蛋白质结合能力的提高归因于二级结构的展开以及随之而来的总巯基含量和表面亲水性的增加。

综上所述, 尽管风味物质-蛋白质相互作用的机制尚不明确, 但通过对大豆蛋白进行物理、化学或酶法改性等方法, 可以干扰风味物质-蛋白质的结合机制, 降低蛋白与风味物质间的相互作用, 从而改善豆浆的风味。

2.2 描述风味物质-蛋白质相互作用的理论模型

由于风味物质-蛋白质的大多数相互作用归因于可逆的非共价结合, 因此, 在平衡条件下描述风味化合物与蛋白质相互作用的经典理论模型为Scatchard (或Klotz) 方程^[55] (式 (1)) 或Hill模型^[56] (式 (2)):

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{n} + \frac{1}{nK[L]} \quad (1)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{n} + \frac{1}{n(K[L])^h} \quad (2)$$

式中: v 为每摩尔蛋白质结合的风味配体的物质的量/mol; n 为蛋白上的结合位点数; K 和 $[L]$ 分别为平衡条件下的结合常数/(L/mol) 和溶液中游离风味配体的浓度/(mol/L); h 为Hill系数, 描述了蛋白质中各个结合位点与风味配体之间的协同性特征。结合常数 K 可以被认为气-液分配系数, 它定义了平衡时风味在空气和液相中的浓缩比。此外, K 值还为结合自由能 (ΔG)、结合焓 (ΔH) 和结合熵 (ΔS) 等热力学参数的计算提供了如下信息:

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (3)$$

$$\Delta H = \frac{-Rd \ln K}{d(1/T)} \quad (4)$$

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} \quad (5)$$

式中: R 为摩尔气体常数 (8.314 472 J/(mol·K)); T 为热力学温度/K。

一般而言, 风味与蛋白质的结合属于自发过程 ($\Delta G < 0$)。因此, 根据 ΔH 和 ΔS 的大小, 从热力学参数的角度可以将结合机制分为两类: 焓驱动和熵驱动^[57]。焓驱动的过程表明, 风味与蛋白质的结合可以在低温下发生。相互作用力包括范德华力和氢键。此外, 由熵驱动的风味与蛋白质的结合意味着高温有利于相互作用。换言之, 加热处理或其他能够诱导蛋白质去折叠的过程更有利于促进风味-蛋白质相互作用^[58-59]。已有的研究表明, 蛋白质构象的改变可以暴露更多的疏水相互作用位点, 这可能有助于风味蛋白的结合^[60]。

许多研究证明风味化合物与蛋白质的结合行为大多遵循Scatchard方程^[61-63]。Guo Jun等^[64]利用HS-SPME-GC-MS技术研究了风味物质结构对天然和预热SPI (80、90 °C和100 °C) 结合行为的影响。选择的风味物质包括乙酸己酯、乙酸庚酯、甲酸芳樟酯、乙酸芳樟酯、香叶醇、芳樟醇、柠檬烯和月桂烯, 浓度范围为0.012~0.08 mmol/L。结果表明, 无论食物是否预热, 风味结合模型都遵循Scatchard方程。

此外, Guo Jun等^[3]建立了不同浓度香茅醛、乙酸香茅酯、丙酸香茅酯和香茅醇风味物质相互作用的天然SPI溶液。他们采用Scatchard和Hill结合模型, 比较了低 (0.04~0.16 mmol/L) 和高 (0.4~1.6 mmol/L) 浓度的风味物质与SPI结合的结合参数。结果表明, 在风味物质风味浓度较低条件下, SPI的构象未发生改变, 表现为线性结合行为。Hill系数 $h=1$, 说明风味与蛋白质的相互作用属于非协同性反应。然而, 当应用风味物质浓度较高的条件时, 结合行为转变为非线性关系。香茅醇、香茅醛、乙酸香茅酯和丙酸香茅酯的 h 值分别为1.13、1.98、1.36和1.65。 $h>1$ 表明当风味配体与蛋白结合时, 蛋白与其他配体相互作用的能力增加^[56]。因此, 高浓度的风味物质可以改变SPI的构象, Hill系数 h 可反映风味分子结合后蛋白质构象变化的信息。

尽管许多研究根据不同的方法提出了风味物质-蛋白质相互作用的数学模型, 但是目前构建豆浆中风味物质与蛋白质相互作用的模型仍然存在一定困难。总而言之, 当前描述风味物质-蛋白质相互作用的理论模型多基于简单的模型蛋白质体系, 但豆浆中涉及蛋白质、水、脂类、碳水化合物等大分子, 需要考虑它们之间的相互作用。因此, 应基于真实的豆浆食品体系提出数学模

型。同时, 相关的研究应致力于探究蛋白质与风味化合物在豆浆中的结合行为, 并提出统一的描述模型。

3 生物方法改善豆浆风味的研究进展

目前改善豆浆风味的基本手段和应用主要分为三大类。其中物理方法操作简便、经济且对环境友好, 但通常会导致蛋白质变性, 影响豆浆的功能特性, 对豆浆的营养和风味造成负面影响, 需要进一步研究完善; 化学方法虽然可以有效地消除豆浆中的豆腥味, 但化学残留物具有一定的安全隐患, 可能对消费者健康造成影响, 需要严格监督检验以保证食品安全。

而生物方法相较以上两种方法要更为温和且安全, 去除豆腥味较为彻底, 能有效改善其风味感知, 对人体无不良影响, 具备发展前景。主要的生物方法主要包括无LOX大豆品种开发、酶处理和微生物发酵(图4)。

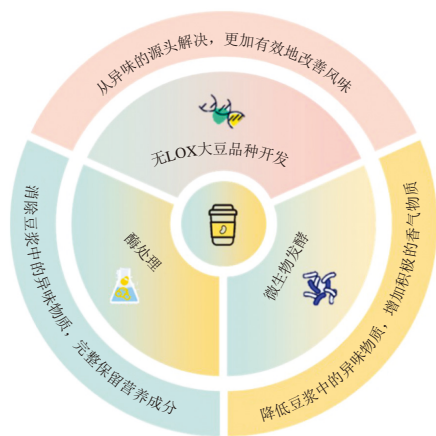


图4 改善豆浆风味的生物方法及其特点

Fig. 4 Biological methods for improving the flavor of soymilk and their characteristics

3.1 无LOX大豆品种的研发

如前所述, 大豆中的内源LOX可以诱导脂质氧化产生豆浆的不良风味。因此培育无LOX的大豆新品种是解决豆浆不良风味问题的一种有前景的途径。根据Yang Aijun等^[22]的研究, 用3种不同类型的大豆(普通大豆、缺失LOX-1和LOX-2的大豆(Lx12)、缺失3种LOX同工酶的大豆(Lx123))制备豆浆, 结果表明, 缺失LOX的大豆品种制备的豆浆产生的过氧羟基衍生物和己醛的含量远低于普通豆浆, 并且Lx123品种制备的豆浆表现出了最低的豆腥味水平。Zhou Yanping等^[65]通过研究大豆中LOX的缺失对豆浆和发酵豆浆性能的影响时发现, 缺乏LOX的发酵豆浆的乙醇和1-辛烯-3-醇含量最低。LOX是脂质氧化的关键催化酶, 这一现象说明LOX的消除阻碍了LOX催化的大豆中多不饱和脂肪酸的氧化反应, 并阻止了具有豆腥味的风味化合物的形成。基于

这些事实, 有理由认为, 缺失脂肪氧化酶的大豆更适合制备豆浆, 提升豆浆的感官品质, 获得更高的消费者可接受性。

然而, 值得注意的是, 研发无LOX大豆品种改善豆浆风味的方法也存在一定的局限性。一方面, LOX在大豆中发挥着重要的生理作用, 对保护植物免受虫害侵害具有重要意义, 因此, 大豆中LOX同工酶的完全消除可能会对植物的防御机制产生不利影响^[66]。另一方面, 一些消费者可能对基因编辑技术和转基因食品持怀疑态度, 担心其可能带来的潜在风险和未知影响, 因此无LOX大豆在市场上的接受度存在一定挑战。在未来的发展中, 应加强科学研究和监管, 确保无LOX大豆品种的安全性、质量和社会可持续性。

3.2 酶处理去除豆腥味

酶水解的目的是去除豆浆中的豆腥味物质, 如己醇、戊醇、庚醇和己醛, 通过高特异性的蛋白酶, 如乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶, 将脂质氧化后形成的挥发性化合物转化为相应的酸^[67]。豆浆的豆腥味可以通过酶解处理去除。由于酶的专一性强, 对豆浆中的其他营养成分基本不会产生影响。Rosenthal等^[68]研究表明, 与单独均质处理相比, 在1(弱)到9(强)属性尺度上, 使用纤维素酶Celluclast 1.5L (1.2%, 处理3 h)制备的发酵豆乳的豆腥味评分(2.5)显著低于单独均质处理(4.8)。

酶处理法与其他方法联合处理可以更加有效地去除豆浆中的不良风味。在磷脂酶A₂的存在下, 磷脂可以被水解, 同时产生一些游离脂肪酸, 这些脂肪酸是脂质氧化过程中产生不良风味的潜在前体物质。之后游离脂肪酸被环糊精包合, 产生分子包合物, 可以去除大豆蛋白中引起不良风味的前体物质, 从而减轻豆腥味^[69]。而有研究发现, 在pH 8.0和43℃条件下反应3 h, 磷脂酶A₂的降解效率为75.7%, 而相同条件下 α -环糊精结合磷脂酶A₂的降解效率为95.3%^[70]。另外通过酶解结合过滤(20 μ m孔径组织)处理也可以部分降低大豆中约20%的豆腥味^[68]。

总结而言, 酶法处理可以有针对性地消除豆浆中的异味物质, 完整保留其他营养成分, 且与其他技术相结合能够进一步增强效果。鉴于此, 该方法具备广阔的应用前景和市场价值, 值得相关研究人员进一步深入研发和探究。

3.3 微生物发酵改善豆浆风味

发酵是一种传统的技术, 是指在适宜的条件下, 通过特定的代谢途径将原料转化为产品的过程, 已被广泛用于改善营养物质的生物可及性、生物利用率以及豆类的风味品质。微生物的代谢活动可以降低豆浆中的脂质氧化程度, 从而去除豆浆中的异味化合物。例如, 未处理样品中己醛的质量浓度为17.9 mg/L, 而在乳酸菌和链球菌发酵的豆浆中几乎检测不到己醛^[71]。Zhang Xueliang等^[9]

通过研究4株不同表型特征的植物乳杆菌(T1、CL80、CSK和S-1A)菌株对豆浆风味的影响,发现1-辛烯-3-醇、1-壬醇、己醛、庚醛、2-辛烯醛、糠醛和反,反-2,4-癸二烯醛等豆腥味相关挥发性化合物含量明显降低。结果表明,发酵过程可以有效去除豆浆中的不良风味。

另一方面,在发酵过程中产生的额外挥发性化合物增强了大豆的一些积极的香气特性,而豆浆的不良风味可以被同样的方式限制。这种现象可能是由于微生物在代谢过程中不仅能够分解某些与脂质氧化相关的物质,而且还能够促进一些积极风味物质的生成。在适当的情况下,枯草芽孢杆菌和少孢根霉发酵大豆的挥发性化合物与对照不同。具体来说,与制作过程中的豆腥味密切相关的醛类物质显著下降了5%~11%;与此同时,发酵后的大豆还生成了1.35%~4.87%的吡嗪(吡嗪可以作为坚果属性和烘焙食品的风味增强剂)^[13]。结果表明,发酵不仅降低了豆腥味,而且额外增加了大豆的香气特性。Meng Jun等^[72]采用乳酸菌发酵豆浆,发现发酵改变了豆浆中挥发性风味物质的种类和含量。醛类物质的减少以及有机酸、醇类和酯类物质的增加减弱了豆浆的不良风味,增加了豆浆的香气。

微生物发酵技术以其卓越的转化能力,为豆浆的风味和营养品质的提升提供了一种创新途径,通过微生物的代谢作用,可以显著降低豆浆中脂质氧化的水平,从而减少豆浆中的异味物质含量,并增加积极的香气化合物,有效地平衡了豆浆的风味,显著改善了其风味特性,为豆浆制品带来了更加丰富的感官体验。

4 结 语

豆浆风味的形成受酶促和非酶促氧化过程的显著影响,其中LOX-HPL途径尤为关键。风味物质-蛋白质的相互作用对风味感知有重要影响,风味物质与蛋白质通过非共价作用力和共价作用力等多种作用力结合,影响豆浆的风味,可通过调整豆浆中蛋白质结构或豆浆生产体系条件进行调控。生物方法,包括无LOX大豆品种、酶处理和微生物发酵,已证明能有效改善豆浆风味。然而,研究仍面临挑战:需深入探究风味物质-蛋白质相互作用机制,以精确控制风味释放;在培育无LOX大豆品种时,需权衡生理功能与消费者对转基因食品的接受度;酶处理法需提升效率并降低成本,同时探索更多酶种类;微生物发酵技术需优化以增强风味;风味物质分析检测方法需提高灵敏度和准确性,并发展豆浆体系适用的风味物质-蛋白质相互作用模型。此外,应积极探索天然、安全的风味改良剂和策略,以满足消费者对健康食品的需求。未来的研究应集中于基础研究和技术开发,为豆浆及其制品的品质提升和市场推广提供科学支撑,促进大豆制品产业的健康发展。

参考文献:

- [1] JAYACHANDRAN M, XU B J. An insight into the health benefits of fermented soy products[J]. Food Chemistry, 2019, 271: 362-371. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.07.158.
- [2] MADJIREBAYE P, PENG F, HUANG T, et al. Effects of fermentation conditions on bioactive substances in lactic acid bacteria-fermented soymilk and its storage stability assessment[J]. Food Bioscience, 2022, 50: 102207. DOI:10.1016/j.fbio.2022.102207.
- [3] GUO J, HE Z Y, WU S F, et al. Effects of concentration of flavor compounds on interaction between soy protein isolate and flavor compounds[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105388. DOI:10.1016/j.foodhyd.2019.105388.
- [4] BARROS M R, MENEZES T M, DA SILVA L P, et al. Furan inhibitory activity against tyrosinase and impact on B16F10 cell toxicity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 136: 1034-1041. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.06.120.
- [5] ZHA F C, DONG S Y, RAO J J, et al. The structural modification of pea protein concentrate with gum Arabic by controlled Maillard reaction enhances its functional properties and flavor attributes[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 92: 30-40. DOI:10.1016/j.foodhyd.2019.01.046.
- [6] WANG K, ARNTFIELD S D. Modification of interactions between selected volatile flavour compounds and salt-extracted pea protein isolates using chemical and enzymatic approaches[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61: 567-577. DOI:10.1016/j.foodhyd.2016.05.040.
- [7] CAI J S, ZHU Y Y, MA R H, et al. Effects of roasting level on physicochemical, sensory, and volatile profiles of soybeans using electronic nose and HS-SPME-GC-MS[J]. Food Chemistry, 2021, 340: 127880. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.127880.
- [8] CAI J S, FENG J Y, NI Z J, et al. An update on the nutritional, functional, sensory characteristics of soy products, and applications of new processing strategies[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 112: 676-689. DOI:10.1016/j.tifs.2021.04.039.
- [9] ZHANG X L, ZHANG C L, XIAO L Y, et al. Effects of *Lactiplantibacillus plantarum* with different phenotypic features on the nutrition, flavor, gel properties, and digestion of fermented soymilk[J]. Food Bioscience, 2023, 55: 103026. DOI:10.1016/j.fbio.2023.103026.
- [10] PENG X H, LIAO Y, REN K Y, et al. Fermentation performance, nutrient composition, and flavor volatiles in soy milk after mixed culture fermentation[J]. Process Biochemistry, 2022, 121: 286-297. DOI:10.1016/j.procbio.2022.07.018.
- [11] WILKENS W F, LIN F M. Gas chromatographic and mass spectral analyses of soybean milk volatiles[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1970, 18(3): 333-336. DOI:10.1021/jf60169a003.
- [12] YUAN S H, CHANG S K C. Selected odor compounds in soymilk as affected by chemical composition and lipoxygenases in five soybean materials[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(2): 426-431. DOI:10.1021/jf602274x.
- [13] MIN S, YU Y, YOO S, et al. Effect of soybean varieties and growing locations on the flavor of soymilk[J]. Journal of Food Science, 2005, 70(1): C1-C11. DOI:10.1111/j.1365-2621.2005.tb09009.x.
- [14] NAVICHA W B, HUA Y F, MASAMBA K, et al. Distribution of odour compounds, antinutritional factors and selected storage stability parameters in soymilk as affected by differences in roasting temperatures and times[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2018, 12(3): 1695-1706. DOI:10.1007/s11694-018-9785-5.

- [15] MATSUI K, TAKEMOTO H, KOEDUKA T, et al. 1-Octen-3-ol is formed from its glycoside during processing of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seeds[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(28): 7409-7416. DOI:10.1021/acs.jafc.8b01950.
- [16] ROLAND W S U, POUVREAU L, CURRAN J, et al. Flavor aspects of pulse ingredients[J]. Cereal Chemistry, 2017, 94(1): 58-65. DOI:10.1094/cchem-06-16-0161-fi.
- [17] WANG B, ZHANG Q, ZHANG N, et al. Insights into formation, detection and removal of the beany flavor in soybean protein[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 112: 336-347. DOI:10.1016/j.tifs.2021.04.018.
- [18] XIANG L B, JIANG B, XIONG Y L, et al. Beany flavor in pea protein: recent advances in formation mechanism, analytical techniques and microbial fermentation mitigation strategies[J]. Food Bioscience, 2023, 56: 103166. DOI:10.1016/j.fbio.2023.103166.
- [19] RUTH J H. Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances: a review[J]. American Industrial Hygiene Association Journal, 1986, 47(3): A142-A151. DOI:10.1080/15298668691389595.
- [20] LAMPI A M, YANG Z, MUSTONEN O, et al. Potential of faba bean lipase and lipoxygenase to promote formation of volatile lipid oxidation products in food models[J]. Food Chemistry, 2020, 311: 125982. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.125982.
- [21] ALHENDI A, YANG W D, SARNOSKI P J. The effect of solution properties on the photochemical ability of pulsed light to inactivate soybean lipoxygenase[J]. International Journal of Food Engineering, 2018, 14(5/6): 20180086. DOI:10.1515/ijfe-2018-0086.
- [22] YANG A J, SMYTH H, CHALIHA M, et al. Sensory quality of soymilk and tofu from soybeans lacking lipoxygenases[J]. Food Science & Nutrition, 2016, 4(2): 207-215. DOI:10.1002/fsn3.274.
- [23] AXELROD B, CHEESBROUGH T M, LAAKSO S. Lipoxygenase from soybeans: EC 1.13.11.12 linoleate: oxygen oxidoreductase[J]. Methods in Enzymology, 1981, 71: 441-451. DOI:10.1016/0076-6879(81)71055-3.
- [24] DEMAN J M. Principles of food chemistry[M]. 3rd edition. Springer New York, 1999. DOI:10.1007/978-1-4614-6390-0.
- [25] HASHEM C, HOCHRINNER J, BÜGLER M B, et al. From linoleic acid to hexanal and hexanol by whole cell catalysis with a lipoxygenase, hydroperoxide lyase and reductase cascade in *Komagataella phaffii*[J]. Frontiers in Molecular Biosciences, 2022, 9: 965315. DOI:10.3389/fmolb.2022.965315.
- [26] MURPHY, P. Soybean proteins[M]//JOHNSON L A, WHITE P J, GALLOWAY R. Soybeans: chemistry, production, processing, and utilization. Academic Press and AOCS Press, 2008: 229-267. DOI:10.1016/B978-1-893997-64-6.50011-1.
- [27] NOORDERMEER M A, VAN DIJKEN A J, SMEEKENS S C, et al. Characterization of three cloned and expressed 13-hydroperoxide lyase isoenzymes from alfalfa with unusual N-terminal sequences and different enzyme kinetics[J]. European Journal of Biochemistry, 2000, 267(9): 2473-2482. DOI:10.1046/j.1432-1327.2000.01283.x.
- [28] DOBBELAAR E, RAUBER C, BONCK T, et al. Combining structural with functional model properties in iron synthetic analogue complexes for the active site in rabbit lipoxygenase[J]. Journal of the American Chemical Society, 2021, 143(33): 13145-13155. DOI:10.1021/jacs.1c04422.
- [29] HATCHER E, SOUDACKOV A V, HAMMES-SCHIFFER S. Proton-coupled electron transfer in soybean lipoxygenase: dynamical behavior and temperature dependence of kinetic isotope effects[J]. Journal of the American Chemical Society, 2007, 129(1): 187-196. DOI:10.1021/ja0667211.
- [30] HAEGGSTROM J Z, FUNK C D. Lipoxygenase and leukotriene pathways: biochemistry, biology, and roles in disease[J]. Chemical Reviews, 2011, 111(10): 5866-5898. DOI:10.1021/cr200246d.
- [31] FENG X X, LI X F, ZHANG C M, et al. Formation mechanism of hexanal and (*E*)-2-hexenal during soybean [*Glycine max* (L.) Merr] processing based on the subcellular and molecular levels[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(1): 289-300. DOI:10.1021/acs.jafc.1c06732.
- [32] SIMIC M G, TAYLOR K A. Introduction to peroxidation and antioxidation mechanisms[J]. Basic Life Sciences, 1988, 49: 1-10. DOI:10.1007/978-1-4684-5568-7_1.
- [33] FENG X X, HUA Y F, LI X F, et al. (*E*)-2-Heptenal in soymilk: a nonenzymatic formation route and the impact on the flavor profile[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(50): 14961-14969. DOI:10.1021/acs.jafc.0c06192.
- [34] DIAZ-URIBE C, VALLEJO W, DE LA HOZ T, et al. Theoretical and kinetic study of the singlet oxygen quenching reaction by hesperidin isolated from mandarin (*Citrus reticulata*) fruit peels[J]. Chemical Papers, 2022, 76(1): 169-178. DOI:10.1007/s11696-021-01825-2.
- [35] VAN DYCK S. The impact of singlet oxygen on lipid oxidation in foods[M]//DECKER E A. Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications. Amsterdam: Elsevier, 2010: 57-75. DOI:10.1533/9780857090447.1.57.
- [36] WANG D, XIAO H M, LYU X, et al. Lipid oxidation in food science and nutritional health: a comprehensive review[J]. Oil Crop Science, 2023, 8(1): 35-44. DOI:10.1016/j.ocsci.2023.02.002.
- [37] ITO J, SHIMIZU N, KOBAYASHI E, et al. A novel chiral stationary phase LC-MS/MS method to evaluate oxidation mechanisms of edible oils[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 10026. DOI:10.1038/s41598-017-10536-2.
- [38] HAMMOND E G, WHITE P J. A brief history of lipid oxidation[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2011, 88(7): 891-897. DOI:10.1007/s11746-011-1761-8.
- [39] WANG K, ARNTFIELD S D. Effect of salts and pH on selected ketone flavours binding to salt-extracted pea proteins: the role of non-covalent forces[J]. Food Research International, 2015, 77: 1-9. DOI:10.1016/j.foodres.2015.03.017.
- [40] HENG L, VAN KONINGSVELD G A, GRUPPEN H, et al. Protein-flavour interactions in relation to development of novel protein foods[J]. Trends in Food Science & Technology, 2004, 15(3/4): 217-224. DOI:10.1016/j.tifs.2003.09.018.
- [41] GUICHARD E. Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception[J]. Food Reviews International, 2002, 18(1): 49-70. DOI:10.1081/fri-120003417.
- [42] WANG K, ARNTFIELD S D. Binding of carbonyl flavours to canola, pea and wheat proteins using GC/MS approach[J]. Food Chemistry, 2014, 157: 364-372. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.02.042.
- [43] DUPUIS J H, WANG S L, SONG C, et al. The role of disulfide bonds in a *Solanum tuberosum* saponin-like protein investigated using molecular dynamics[J]. PLoS ONE, 2020, 15(8): e0237884. DOI:10.1371/journal.pone.0237884.
- [44] PELLETIER E, SOSTMANN K, GUICHARD E. Measurement of interactions between β -lactoglobulin and flavor compounds (esters, acids, and pyrazines) by affinity and exclusion size chromatography[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(4): 1506-1509. DOI:10.1021/jf970725v.
- [45] GU S Q, DAI W L, CHONG Y Q, et al. The binding of key fishy off-flavor compounds to silver carp proteins: a thermodynamic analysis[J]. RSC Advances, 2020, 10(19): 11292-11299. DOI:10.1039/d0ra01365j.

- [46] MA Y J, WU J H, LI X, et al. Effect of alkyl distribution in pyrazine on pyrazine flavor release in bovine serum albumin solution[J]. RSC Advances, 2019, 9(63): 36951-36959. DOI:10.1039/c9ra06720e.
- [47] WANG K, ARNTFIELD S D. Effect of protein-flavour binding on flavour delivery and protein functional properties: a special emphasis on plant-based proteins[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2017, 32(2): 92-101. DOI:10.1002/ffj.3365.
- [48] KÜHN J, CONSIDINE T, SINGH H. Interactions of milk proteins and volatile flavor compounds: implications in the development of protein foods[J]. Journal of Food Science, 2006, 71(5): R72-R82. DOI:10.1111/j.1750-3841.2006.00051.x.
- [49] LOU X W, YANG Q L, SUN Y Y, et al. The effect of microwave on the interaction of flavour compounds with G-actin from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(12): 3917-3922. DOI:10.1002/jsfa.8325.
- [50] WANG J, ZHAO M M, QIU C Y, et al. Effect of malondialdehyde modification on the binding of aroma compounds to soy protein isolates[J]. Food Research International, 2018, 105: 150-158. DOI:10.1016/j.foodres.2017.11.001.
- [51] KÜHN J, CONSIDINE T, SINGH H. Binding of flavor compounds and whey protein isolate as affected by heat and high pressure treatments[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(21): 10218-10224. DOI:10.1021/jf801810b.
- [52] GUO J, HE Z Y, WU S F, et al. Binding of aromatic compounds with soy protein isolate in an aqueous model: effect of pH[J]. Journal of Food Biochemistry, 2019, 43(10): e12817. DOI:10.1111/jfbc.12817.
- [53] SUPPAVORASATIT I, CADWALLADER K R. Effect of enzymatic deamidation of soy protein by protein-glutaminase on the flavor-binding properties of the protein under aqueous conditions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(32): 7817-7823. DOI:10.1021/jf301719k.
- [54] LV T, WANG Y, PAN D D, et al. Effect of trypsin treatments on the structure and binding capacity of volatile compounds of myosin[J]. Food Chemistry, 2017, 214: 710-716. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.07.115.
- [55] SCATCHARD G. The attractions of proteins for small molecules and ions[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 1949, 51(4): 660-672. DOI:10.1111/j.1749-6632.1949.tb27297.x.
- [56] HARRISON M, HILLS B P. Mathematical model of flavor release from liquids containing aroma-binding macromolecules[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(5): 1883-1890. DOI:10.1021/jf9607876.
- [57] MOHAMMADZADEH-AGHDASH H, EZZATI NAZHAD DOLATABADI J, DEHGHAN P, et al. Multi-spectroscopic and molecular modeling studies of bovine serum albumin interaction with sodium acetate food additive[J]. Food Chemistry, 2017, 228: 265-269. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.01.149.
- [58] ARROYO-MAYA I J, CAMPOS-TERÁN J, HERNÁNDEZ-ARANA A, et al. Characterization of flavonoid-protein interactions using fluorescence spectroscopy: binding of pelargonidin to dairy proteins[J]. Food Chemistry, 2016, 213: 431-439. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.06.105.
- [59] MAHMOUDPOUR M, JAVAHERI-GHEZELDIZAJ F, YEKTA R, et al. Thermodynamic analysis of albumin interaction with monosodium glutamate food additive: insights from multi-spectroscopic and molecular docking approaches[J]. Journal of Molecular Structure, 2020, 1221: 128785. DOI:10.1016/j.molstruc.2020.128785.
- [60] KANG D C, ZOU Y H, CHENG Y P, et al. Effects of power ultrasound on oxidation and structure of beef proteins during curing processing[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016, 33: 47-53. DOI:10.1016/j.ultrsonch.2016.04.024.
- [61] GIANELLI M P, FLORES M, TOLDRÁ F. Interactions of soluble peptides and proteins from skeletal muscle on the release of volatile compounds[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(23): 6828-6834. DOI:10.1021/jf0303666.
- [62] KÜHN J, ZHU X Q, CONSIDINE T, et al. Binding of 2-nonanone and milk proteins in aqueous model systems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(9): 3599-3604. DOI:10.1021/jf063517o.
- [63] LANDY P, DRUAUX C, VOILLEY A. Retention of aroma compounds by proteins in aqueous solution[J]. Food Chemistry, 1995, 54(4): 387-392. DOI:10.1016/0308-8146(95)00069-U.
- [64] GUO J, HE Z Y, WU S F, et al. Binding of aroma compounds with soy protein isolate in aqueous model: effect of preheat treatment of soy protein isolate[J]. Food Chemistry, 2019, 290: 16-23. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.03.126.
- [65] ZHOU Y P, LI X F, HUA Y F, et al. The absence of lipoxigenase and 7S globulin of soybeans and heating temperatures on the properties of soymilks and soy yogurts[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 115: 108431. DOI:10.1016/j.lwt.2019.108431.
- [66] KUMARI S, DAHUJA A, VINUTHA T, et al. Changes in the levels of off-flavor generation in soybean through biotic elicitor treatments[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(2): 700-706. DOI:10.1021/jf505199a.
- [67] SETHI S, TYAGI S K, ANURAG R K. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review[J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 53(9): 3408-3423. DOI:10.1007/s13197-016-2328-3.
- [68] ROSENTHAL A, DELIZA R, CABRAL L M C, et al. Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk[J]. Food Control, 2003, 14(3): 187-192. DOI:10.1016/S0956-7135(02)00087-7.
- [69] LEE E J, KIM H, LEE J Y, et al. β -Cyclodextrin-mediated beany flavor masking and textural modification of an isolated soy protein-based Yuba film[J]. Foods, 2020, 9(6): 818. DOI:10.3390/foods9060818.
- [70] ZHU D, DAMODARAN S. Removal of off-flavour-causing precursors in soy protein by concurrent treatment with phospholipase A₂ and cyclodextrins[J]. Food Chemistry, 2018, 264: 319-325. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.05.045.
- [71] BLAGDEN T D, GILLILAND S E. Reduction of levels of volatile components associated with the “beany” flavor in soymilk by lactobacilli and streptococci[J]. Journal of Food Science, 2006, 70(3): M186-M189. DOI:10.1111/j.1365-2621.2005.tb07148.x.
- [72] MENG J, WANG J L, HAO Y P, et al. Effects of *Lactobacillus fermentum* GD01 fermentation on the nutritional components and flavor substances of three kinds of bean milk[J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 184: 115006. DOI:10.1016/j.lwt.2023.115006.