

УДК 577.3

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ СКАНИРУЮЩАЯ КАЛОРИМЕТРИЯ ПИЩЕВОГО РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКА В СМЕСИ С ГЛИЦЕРИНОМ

© 2024 г. А.М. Лукин*, М.М. Дотлов*, Н.В. Поздняков*, **, С.В. Шилов*, Р.Х. Садреева***, Д.С. Белоклоков***, А.А. Залятдинов***, В.В. Кононенко*, Е.А. Согорин*.*

*Институт биологического приборостроения Российской академии наук обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,
ул. Институтская, 5, Пушкино, Московская обл., 142290, Россия

**Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Институтская ул., 3, Пушкино Московской области, 142290, Россия

***Альметьевский государственный нефтяной институт,
ул. Ленина, 2, Альметьевск, Республика Татарстан, 423462, Россия

#E-mail: evgenysogorin@gmail.com

Поступила в редакцию 17.11.2023 г.

После доработки 17.11.2023 г.

Принята к публикации 20.12.2023 г.

Изоляты растительных белков – распространенные пищевые ингредиенты. Дифференциальная сканирующая калориметрия изолятов используется для предсказания их функциональных свойств, в том числе для оценки способности образовывать биопластик благодаря формированию межмолекулярных дисульфидных, гидрофобных и других типов связей при нагревании. В данной работе мы использовали дифференциальную сканирующую калориметрию суспензии изолята белка сои в глицерине. Было показано, что процесс нагревания изолята в присутствии глицерина идет с выделением тепла. Предварительная тепловая денатурация водного раствора белков сои (95°C, 30 мин) увеличивала тепловой эффект, в то время как ферментативный гидролиз белка приводил к потере экзотермического теплового эффекта. Добавление β-меркаптоэтанола к изоляту белков сои никак не влияло на наблюдаемый экзотермический процесс, что свидетельствует об отсутствии вклада формирования новых дисульфидных связей в данном случае. Таким образом, образование биопластика изолятом белков сои не зависит от формирования новых дисульфидных связей, а использование метода дифференциальной сканирующей калориметрии можно рассматривать как метод оценки растворимости препарата белка.

Ключевые слова: дифференциальная сканирующая калориметрия, изолят белка сои, лизоцим, экзотермический процесс, экзотермический процесс, глицерин.

DOI: 10.31857/S0006302924010069, EDN: REXVFM

Изоляты пищевых белков активно используются как ингредиенты продуктов питания с высокой пищевой ценностью. Кроме пищевой ценности изоляты обладают такими свойствами, как пенообразование, эмульсификация, гелеобразование и прочее, что влияет на технологический процесс производства продуктов питания с использованием изолятов. Эти свойства определяются главным образом растворимостью белка, а также внутри- и межмолекулярными взаимодействиями белков изолята. Особенности структуры белков определяют характер этих

взаимодействий. Таким образом, технологические свойства белоксодержащего ингредиента могут определяться особенностями структуры входящих в его состав белков, свойства которых, в свою очередь, могут меняться условиями его получения: температурой (например, в разных типах сушки [1]), воздействием химических веществ и др.

Изолят белков сои (ИБС) – один из самых распространенных белковых ингредиентов в пищевой промышленности [2]. Это связано как с пищевой ценностью изолята, так и со способностью данного ингредиента изменять текстуру и другие технологические свойства готового продукта.

Сокращения: ИБС – изолят белков сои, ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия.

Технологические свойства изолятов белка можно изменять целенаправленно под действием протеолитических ферментов. Например, ферментативная обработка может менять пенообразующие свойства ИБС [3], использование разных ферментов может снижать горечь гидролизатов [4], ферментативные гидролизаты разной степени гидролиза имеют разные пенообразующие, жиростойкие свойства и различную растворимость [5, 6].

Метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) используется очень широко для задач пищевой промышленности. С помощью ДСК была замечена разница в термостабильности белков, высушенных лиофильно или с помощью распылительной сушки [7]. Метод позволяет оценить свойства эмульсии на основе ИБС [8, 9] и другие его свойства, в том числе свойства гидролизатов [10–12].

Обычно методом ДСК исследуют водные растворы белков. Иногда в качестве растворителя также используют глицерин. Было показано, что глицерин стабилизирует белки и повышает температуру их тепловой денатурации, например для лизоцима, что регистрируется сдвигом эндотермического пика в высокотемпературные области [13–15]. Для ряда других белков, например для белков сои, при нагревании с глицерином методом ДСК регистрируется выделение тепла [16, 17]. Экзотермический эффект объясняется образованием новых межмолекулярных взаимодействий белков при нагревании в присутствии глицерина: вследствие тепловой денатурации наружу экспонируются гидрофобные аминокислоты, которые начинают взаимодействовать с глицерином [16]. Глицерин также используется в качестве пластификатора при формировании биodeградируемой пластмассы (биопластик), например на основе изолята белка сои [18]. Глицерин является стимулятором этого процесса [19, 20]. Кроме межмолекулярных гидрофобных взаимодействий, образующихся при нагревании белков с глицерином, к причинам образования биопластика причисляют формирование новых дисульфидных связей [20], однако прямые доказательства этого в литературе отсутствуют.

В нашей работе мы оценили вклад образования новых дисульфидных связей в образование биопластика при нагревании ИБС в растворе глицерина, добавляя восстанавливающий агент (β -меркаптоэтанол). Также мы сравнили влияние глицерина в тигле сравнения на качественный результат получаемых термограмм в двух разных калориметрах теплового потока. Было показано, что наличие тигля с глицерином в ячейке сравне-

ния с разной степенью влияло на качество получаемых термограмм в зависимости от используемого калориметра.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали изолят белков сои (ИБС) Shansong 90 (Linyi Shansong Biological Products Co., Ltd., Китай; 90% белка), лизоцим куриного белка («Реахим», Россия), глицерин (PanReac Applichem, 151339.1211), β -меркаптоэтанол (PanReac Applichem, A1108,0100).

Предварительную тепловую обработку ИБС проводили следующим образом. 10%-й водный раствор ИБС нагревали при 95°C в течение 30 мин при активном перемешивании и охлаждали при комнатной температуре. Далее проводили лиофильную сушку.

Для определения растворимости взвешивали 2.5 г изолята белка и постепенно вносили в стакан с 50 мл деионизированной воды, предварительно нагретой до 25°C и перемешиваемой на магнитной мешалке. Полученные суспензии инкубировали 2 ч при температуре 25°C с перемешиванием, после чего центрифугировали 20 мин при 3000 g и еще 10 мин при 12000 g. Для удаления нерастворившихся остатков отобранный супернатант фильтровали через фильтр с диаметром пор 0.45 мкм. Содержание белка в полученных образцах определяли по реакции с биуретовым реактивом, оптическую плотность измеряли при помощи планшетного фотометра при длине волны 540 нм после 10 мин инкубации образцов с биуретовым реактивом в соотношении 1 : 4 (образец : биуретовый реактив). Для построения калибровочной кривой использовали бычий сывороточный альбумин.

Измеряли протеолитическую активность ферментного препарата и проводили гидролиз ИБС, как описано ранее [21]. Раствор ИБС гидролизировали с помощью Alkalase 2.4 LFG (Novozymes, Дания) из расчета 3 ед. на 1 г белка при 50°C при активном перемешивании в течение 2 ч. Образцы лиофильно высушивали в течение 2 суток при остаточном давлении в 3–4 Па до температуры образца, равной комнатной, с помощью лиофильной сушилки ЛС-1000 («Проинтех-Био», Россия).

Пробоподготовку для дифференциальной сканирующей калориметрии проводили следующим образом. В емкость с глицерином засыпали порошкообразный исследуемый образец массой в 5 раз меньше массы глицерина в емкости. Образец перемешивали с глицерином до получения гомогенной смеси. В случае использования β -

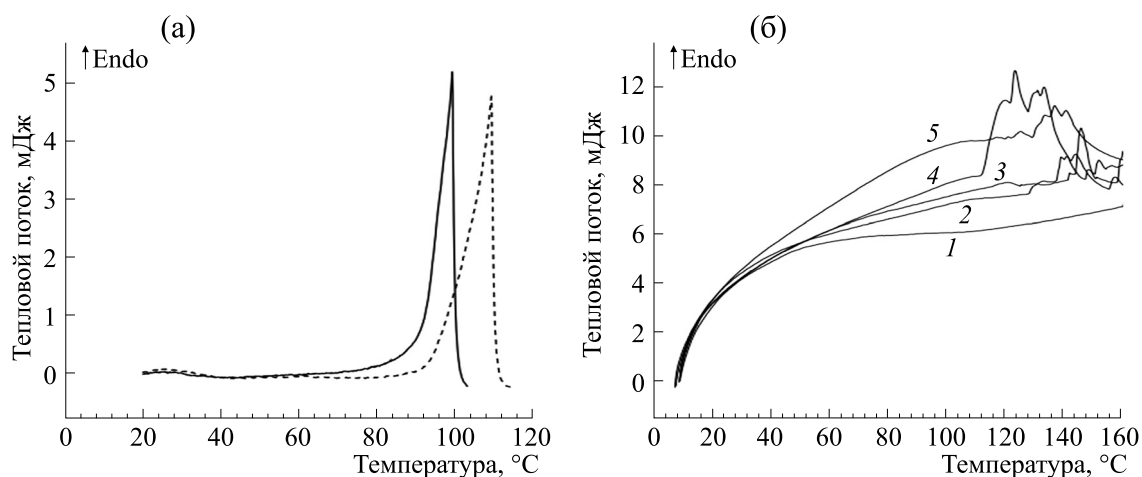


Рис. 1. Термограммы ДСК: (а) — вода (3.44 мкл) в открытом тигле (сплошная кривая) и в закрытом тигле (пунктирная кривая); (б) — смесь глицерина с водой (кривая 1 — без воды, кривая 2 — 10%, кривая 3 — 15%, кривая 4 — 20%, кривая 5 — 25% воды в глицерине; базовая термограмма прибора не вычтена; в ячейке сравнения пустой тигель). Результаты получены на калориметре ЛТК-ДСМ-КБ-80 (ИБП РАН, Россия).

меркаптоэтанола в полученную смесь добавляли восстанавливающий агент и активно перемешивали. Измерение со свежеприготовленной смесью (не более часа после приготовления) проводили на калориметрах теплового потока ЛТК-ДСМ-КБ-80 (ИБП РАН, Россия) и DSC 204 HP Phoenix (Netzsch, Германия): 90–120 мг или 25–35 мг образца (смесь белка с глицерином) соответственно помещали в открытый алюминиевый тигель. В ячейку сравнения помещали пустой тигель или тигель с глицерином, по массе равным образцу в экспериментальном тигле (при получении ДСК-кривых, представленных на рис. 1, в ячейке сравнения находился пустой тигель). В случае использования β -меркаптоэтанола в глицерин тигля сравнения добавляли восстанавливающий агент до конечной концентрации, равной в исследуемом образце. Из полученных термограмм вычитали базовую термограмму прибора.

В случае калориметра DSC 204 HP Phoenix измерение проводили как описано в ГОСТ Р 56754-2015. Калибровку ЛТК-ДСМ-КБ-80 проводили по индию (ГСО 2313-82) и олову (ГСО 2314-82): начало фронта фазового перехода индия и олова брали за стандартную температуру фазового перехода, затем вычисляли коэффициенты для уравнения, чтобы согласовать код аналого-цифрового преобразователя с температурой.

Скорость измерения составляла 10°C/мин, как в других работах по ДСК изолята белков сои в глицерине [16, 17]. Все измерения проводили при нормальном атмосферном давлении.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При нормальном атмосферном давлении испарение воды порошкообразных препаратов белков будет влиять на получаемые термограммы в диапазоне интересующих температур. Чтобы исключить вклад испарения воды, в качестве растворителя был использован глицерин. Известно, что температура кипения воды в смеси с глицерином возрастает: например, 10%-й водно-глицериновый раствор (с содержанием воды 10%) имеет температуру кипения 139.8°C [22].

Нами было показано, что испарение воды вносит вклад в результаты ДСК начиная с 60 или 90°C при использовании соответственно открытого или герметично закрытого тигля (рис. 1а). В последнем случае разгерметизация происходит по причине повышения давления внутри тигля. Если же воду смешать с глицерином, то начало ее испарения регистрируется лишь после 110°C, что позволяет использовать открытый тигель и получать результаты ДСК для белка без вклада испарения воды в получаемые термограммы до данных значений температур (рис. 1б).

Обычно в экспериментах ДСК в ячейку сравнения помещают тигель с растворителем. Мы решили проверить, насколько это важно для получения качественного результата при использовании глицерина как растворителя. Влияние глицерина в ячейке сравнения проверяли на двух разных приборах. Как на калориметре SC 204 HP Phoenix (рис. 2а), так и на калориметре ЛТК-ДСМ-КБ-80 (рис. 2б,в) наличие глицерина в тиг-

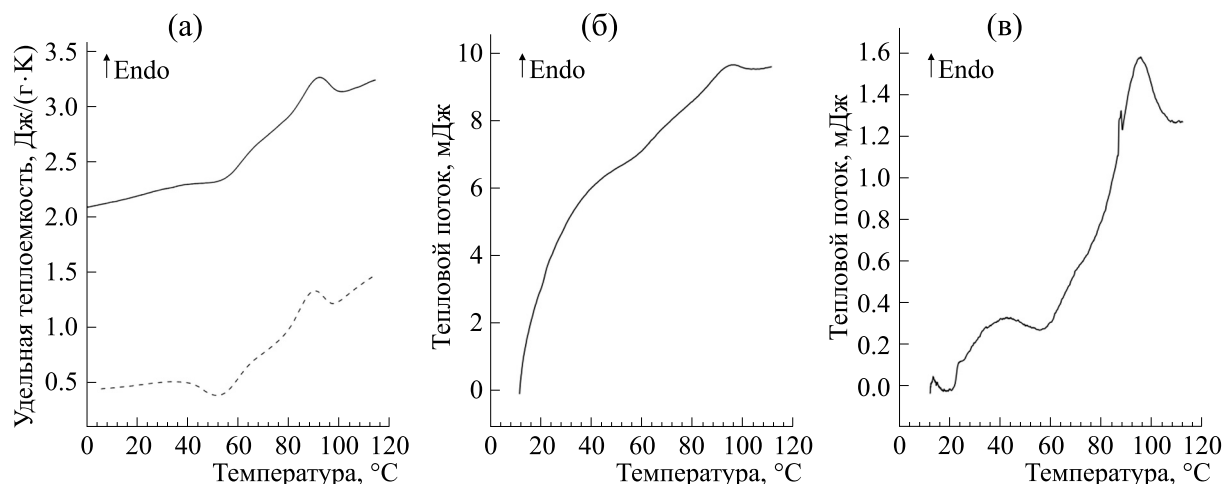


Рис. 2. Термограммы ДСК: (а) — смесь лизоцима с глицерином с использованием (пунктирная кривая) и без использования (сплошная кривая) тигля с глицерином в ячейке сравнения, результаты получены на калориметре SC 204 HP Phoenix (Netzsch, Германия); (б) — смесь лизоцима с глицерином без использования тигля с глицерином в ячейке сравнения; (в) — смесь лизоцима с глицерином с использованием тигля с глицерином в ячейке сравнения. Термограммы (б) и (в) получены на калориметре ЛТК-ДСМ-КБ-80 (ИБП РАН, Россия).

ле сравнения качественно улучшало результаты ДСК. Для калориметра ЛТК-ДСМ-КБ-80 наличие глицерина в тигле сравнения было более критично при получении термограмм в сравнении с калориметром DSC 204 HP Phoenix. Это объясняется теплофизическими свойствами блока первого калориметра, обладающего меньшей чувствительностью. В качестве примера: измерительные ячейки блока ЛТК-ДСМ-КБ-80 выполнены из нержавеющей стали, теплопроводность которой в 23 раза ниже, чем серебро, служащее материалом блока калориметра DSC 204 HP Phoenix. Следовательно, использование тигля с глицерином в ячейке сравнения может быть особенно критично для некоторых калориметров, например с блоками, сделанными из материала с низкой теплопроводностью.

Пик эндотермического процесса ДСК лизоцима наблюдали при 90°C при использовании обоих приборов, что соответствует ранним наблюдениям [15]. Интересно отметить, что при 55°C наблюдался экзотермический ДСК-процесс лизоцима, который отчетливо детектировался при использовании тигля с глицерином в ячейке сравнения (рис. 2а,в). Наблюдаемый экзотермический процесс при 55°C мы пока объяснить не можем.

Исследование с помощью ДСК изолята белка сои в смеси с глицерином ранее показало, что пик экзотермического процесса при нагревании приходится на 70–80°C в зависимости от соотношения воды и глицерина в смеси с белком [16]. В на-

ших экспериментальных условиях он находится в области 105°C (рис. 3а).

Предварительная тепловая обработка водного раствора ИБС (95°C, 30 мин) приводила к увеличению растворимости белка: растворимость исходного препарата ИБС составляла 45% ($SD = 2$), после обработки — 82% ($SD = 4$). Данная обработка также приводила к увеличению экзотермического теплового эффекта примерно в два раза и к сдвигу пика в область 95°C (рис. 3а). ДСК ферментативного гидролизата ИБС (распределение молекулярных масс пептидов: <1 кДа — 5.5%, 1–12.5 кДа — 72%, >12.5 кДа — 22% [21]), полученного с помощью препарата алкалазы, показало значительное снижение экзотермического теплового эффекта (рис. 3б).

Экзотермический процесс при пластификации белков в присутствии глицерина объясняется образованием новых связей, в том числе образованием дисульфидных связей при нагревании. Чтобы оценить вклад в экзотермический процесс образования дисульфидных связей, мы провели ДСК изолята белка сои в глицерине в присутствии 1% β-меркаптоэтанола для исходного препарата ИБС (рис. 3в) и для препарата ИБС после тепловой обработки водного раствора (рис. 3г). Известно, что β-меркаптоэтанол восстанавливает дисульфидные связи. Оказалось, что β-меркаптоэтанол значительно не влияет на наблюдаемый экзотермический тепловой эффект белков ИБС.

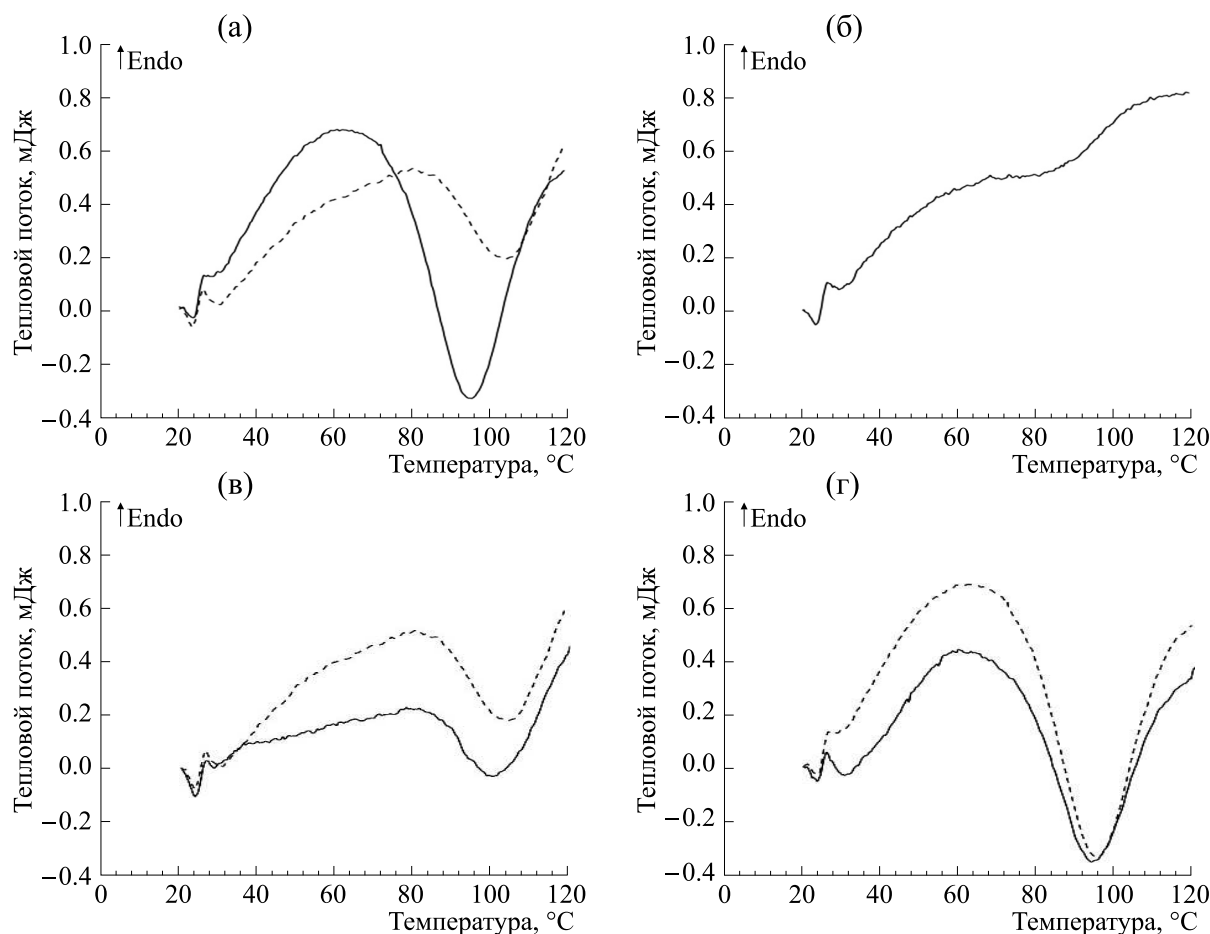


Рис. 3. Термограммы изолята белка сои в глицерине: (а) — исходный ИБС (пунктирная кривая) и ИБС после нагревания раствора при 95°C в течение 30 мин (сплошная кривая), (б) — гидролизат ИБС, (в) — исходный ИБС (пунктирная кривая) и он же в присутствии 1% β-меркаптоэтанола (сплошная кривая), (г) — ИБС после нагревания раствора при 95°C в течение 30 мин (пунктирная кривая) и он же в присутствии 1% β-меркаптоэтанола (сплошная кривая).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее было известно, что при тепловой денатурации изолята белка сои в присутствии глицерина наблюдается экзотермический тепловой эффект [16, 17]. Выделение тепла объясняется новыми гидрофобными взаимодействиями, а также формированием дисульфидных связей в процессе нагревания. Действительно, известно, что в водном растворе некоторые белки сои при нагревании при 80–100°C образуют новые межмолекулярные дисульфидные связи [23], хотя они и не являются движущей силой при агрегации [24]. Происходит ли формирование дисульфидных связей белков сои в глицерине при нагревании, до сих пор экспериментально не представлено.

В нашей работе было показано, что в случае ИБС экзотермический тепловой эффект не зависит от формирования дисульфидных мостиков, что экспериментально продемонстрировано до-

бавлением в смесь восстанавливающего агента (β-меркаптоэтанола). Интересным наблюдением является увеличение теплового эффекта для ИБС после предварительного нагрева при 95°C. Вероятно, такая предварительная процедура позволит в будущем получать биопластик с улучшенными свойствами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метод дифференциальной сканирующей калориметрии широко используется как для исследования стабильности структуры белков, так и для предсказания функциональных свойств пищевых белоксодержащих ингредиентов. Использование глицерина в качестве растворителя вместо воды при ДСК ИБС приводит к наблюдению экзотермического теплового эффекта. При этом экзотермический эффект при ДСК ИБС не зависит от образования дисульфидных мостиков. В

дальнейшем полученные результаты могут лечь в основу предсказания функциональных свойств препаратов пищевых белков, по крайней мере растворимости. Также полученные результаты могут поспособствовать пониманию механизмов формирования биопластика на основе ИБС при нагревании в присутствии глицерина.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят Т.Н. Мельник за критические и конструктивные замечания по тексту статьи, а также Е.М. Согорину за моральную поддержку.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hu X.-Z., Cheng Y.-Q., Fan J.-F., Lu Z.-H., Yamaki K., and Li L.-T. Effects of drying method on physicochemical and functional properties of soy protein isolates. *J. Food Processing and Preservation*, **34** (3), 520–540 (2010).
2. Astawan M. and Prayudani A. P. The overview of food technology to process soy protein isolate and its application toward food industry. *World Nutrition J.*, **4** (S1), 12–17 (2020).
3. Liang G., Chen W., Qie X., Zeng M., Qin F., He Z., and Chen J. Modification of soy protein isolates using combined pre-heat treatment and controlled enzymatic hydrolysis for improving foaming properties. *Food Hydrocolloids*, **105**, 105764 (2020).
4. Meinschmidt P., Schweiggert-Weisz U., and Eisner P. Soy protein hydrolysates fermentation: Effect of debittering and degradation of major soy allergens. *LWT-Food Sci. Technol.*, **71**, 202–212 (2016).
5. Jung S., Murphy P. A., and Johnson L. A. Physicochemical and functional properties of soy protein substrates modified by low levels of protease hydrolysis. *J. Food Sci.*, **70** (2), C180–C187 (2005).
6. Kempka A., Honaiser T., Fagundes E., and Prestes R. Functional properties of soy protein isolate of crude and enzymatically hydrolysed at different times. *Int. Food Res. J.*, **21** (6), 2229–2236 (2014).
7. Keeratiurai M., Wang Z., and Corredig M. Adsorption of soy protein isolate in oil-in-water emulsions: difference between native and spray dried isolate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **88**, 1593–1602 (2011).
8. Keeratiurai M. and Corredig M. Heat-induced changes occurring in oil/water emulsions stabilized by soy glycinin and β -conglycinin. *J. Agricultural Food Chem.*, **58** (16), 9171–9180 (2010).
9. Keeratiurai M. and Corredig M. Heat-induced changes in oil-in-water emulsions stabilized with soy protein isolate. *Food Hydrocolloids*, **23** (8), 2141–2148 (2009). DOI: 10.1016/j.foodhyd.2009.05.010
10. Sousa I. M., Mitchell J. R., Ledward D. A., Hill S. E., and Beirao da Costa M. L. Differential scanning calorimetry of lupin and soy proteins. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, **201**, 566–569 (1995).
11. Arntfield S. and Murray E. The influence of processing parameters on food protein functionality I. Differential scanning calorimetry as an indicator of protein denaturation. *Can. Institute Food Sci. Technol. J.*, **14** (4), 289–294 (1981).
12. Ryan M., McEvoy E., Duignan S., Crowley C., Fenelon M., O'Callaghan D., and FitzGerald R. Thermal stability of soy protein isolate and hydrolysate ingredients. *Food Chemistry*, **108** (2), 503–510 (2008).
13. Burova T. V., Grinberg N. V., Grinberg V. Y., Rariy R. V., and Klibanov A. M. Calorimetric evidence for a native-like conformation of hen egg-white lysozyme dissolved in glycerol. *Biochim. Biophys. Acta – Protein Structure and Molecular Enzymology*, **1478** (2), 309–317 (2000).
14. Fatkhutdinova A., Mukhametzyanov T., and Schick C. Refolding of lysozyme in glycerol as studied by fast scanning calorimetry. *Int. J. Mol. Sci.*, **23** (5), 2773 (2022).
15. Cinelli S., De Francesco A., Onori G., and Paciaroni A. Thermal stability and internal dynamics of lysozyme as affected by hydration. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6** (13), 3591–3595 (2004).
16. Wang S., Sue H.-J., and Jane J. Effects of polyhydric alcohols on the mechanical properties of soy protein plastics. *J. Macromol. Sci. Part A: Pure and Applied Chemistry*, **33** (5), 557–569 (1996).
17. Mo X., Sun X. S. и Wang Y. Effects of molding temperature and pressure on properties of soy protein polymers. *J. Appl. Polymer Sci.*, **73** (13), 2595–2602 (1999).
18. Swain S., Biswal S., Nanda P., and Nayak P. L. Biodegradable soy-based plastics: opportunities and challenges. *J. Polymers Environ.*, **12**, 35–42 (2004).
19. Gennadios A. and Weller C. Edible films and coatings from soymilk and soy protein. *Cereal foods world*, **36** (12), 1004–1009 (1991).
20. Calva-Estrada S. J., Jimenez-Fernandez M., and Lugo-Cervantes E. Protein-based films: Advances in the

- development of biomaterials applicable to food packaging. *Food Eng. Rev.*, **11**, 78–92 (2019).
21. Pozdnyakov N., Shilov S., Lukin A., Bolshakov M., and Sogorin E., Investigation of enzymatic hydrolysis kinetics of soy protein isolate: laboratory and semi-industrial scale. *Bioresources and Bioprocessing* **9** (1), 1–13 (2022).
 22. Рахманкулов Д. Л., Кимсанов Б. Х. и Чанышев Р. Р. *Физические и химические свойства глицерина*, Под общ. ред. акад. АН РБ Д. Л. Рахманкулова (Химия, М., 2003).
 23. Ruan Q., Chen Y., Kong X. and Hua Y. Analysis using fluorescence labeling and mass spectrometry of disulfide-mediated interactions of soy protein when heated. *J. Agricult. Food Chem.*, **63** (13), 3524–3533 (2015).
 24. Ruan Q., Chen Y., Kong X., and Hua Y. Heat-induced aggregation and sulphhydryl/disulphide reaction products of soy protein with different sulphhydryl contents. *Food Chem.*, **156**, 14–22 (2014).

Differential Scanning Calorimetry of Edible Plant-based Protein Using Glycerol as a Medium

A.M. Lukin*, M.M. Dotlov*, N.V. Pozdnyakov*, **, S.V. Shilov*, R.Kh. Sadreeva*, D.S. Beloklov***, A.A. Zalyatdinov***, V.V. Kononenko*, and E.A. Sogorin***

*Institute for Biological Instrumentation, Russian Academy of Sciences,
Institutskaya ul. 5, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

**Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,
Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

***Almetyevsk State Oil Institute, ul. Lenina 2, Almetyevsk, Republic of Tatarstan, 423462 Russia

Plant-based protein isolates are common food ingredients. Differential scanning calorimetry is used to forecast functional properties of these isolates as well as to evaluate the propensity of these isolates for bioplastic formation through heat-induced formation of intermolecular disulfide, hydrophobic, and other types of bonds. In this work, differential scanning calorimetry was employed in the study of a suspension containing soy protein isolate and glycerol. It was shown that heat release occurred upon heating the isolate in the presence of glycerol. Preheating-induced denaturation of soy proteins in aqueous solution (95°C, 30 min) made the observed heat more exothermic, whereas exothermic reaction was not observed during enzymatic hydrolysis of the protein. Since adding β -mercaptoethanol to soy protein isolate had no effect on the observed exothermic process, this chemical compound could not contribute to formation of new disulfide bonds. Thus, bioplastic formation using soy protein isolate occurs independently of the formation of new disulfide bonds, and differential scanning calorimetry can be used to assess protein solubility.

Keywords: differential scanning calorimetry, soy protein isolate, lysozyme, endothermic process, exothermic process, glycerol