

# 超高压下大豆亲脂蛋白-羟丙基甲基纤维素理化性质研究

李杨 钟明明 廖一 谢凤英 孙禹凡 齐宝坤

(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

**摘要:**大豆亲脂蛋白(Lipophilic protein, LP)和羟丙基甲基纤维素(Hydroxypropyl methylcellulose, HPMC)在中性条件下(pH值7.4)复合后,可自发组成LP-HPMC复合物,但仍有部分未自组装的LP和HPMC存在于溶液中,目前仍无法实现LP-HPMC最大程度复合以及最多结合位点的目标。采用荧光光谱和红外光谱研究了不同超高压处理对LP-HPMC复合程度以及作用力的影响,采用乳化活性和乳化稳定性测定、表面疏水性分析、动态光散射粒度分析等解析了超高压对LP-HPMC结构变化与功能性质表达的构效关系。结果表明:LP-HPMC复合物通过非共价相互作用结合,蛋白二级结构发生相应改变。当压力为400 MPa时,复合物有最大的溶解度和最小的表面疏水值,分别为41.1%和57 832,此时乳化活性和乳化稳定性指标也最佳。

**关键词:**大豆亲脂蛋白;羟丙基甲基纤维素;复合物;超高压

**中图分类号:** TS214.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2019)12-0365-07

## Physicochemical Properties of Soy Lipophilic Protein-Hydroxypropyl Methylcellulose Complex under Ultra-high Pressure

LI Yang ZHONG Mingming LIAO Yi XIE Fengying SUN Yufan QI Baokun

(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** Soy lipophilic protein (LP) and hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) can form an LP-HPMC complex spontaneously after being combined under neutral conditions (pH value 7.4), but there are still some self-assembled LP and HPMC presented in solution. At present, the research still can not achieve the maximum compounding degree of LP-HPMC and the target of the most binding sites. Fluorescence and infrared spectroscopy were used to study the effects of different ultra-high pressure treatments on the degree of LP-HPMC compounding and the force. The effects of ultra-high pressure on structure-activity relationship of structural changes and functional properties of LP-HPMC were analyzed by emulsion activity and emulsion stability measurement, surface hydrophobicity analysis and dynamic light scattering particle size analysis. The results showed that the LP-HPMC complex was bound by non-covalent interaction and the secondary structure of the protein was changed accordingly. When the pressure was 400 MPa, the maximum solubility and minimum surface hydrophobic value of the composite were 41.1% and 57 832, respectively, and the emulsification activity and emulsion stability index were also the best.

**Key words:** soy lipophilic protein; hydroxypropyl methyl cellulose; complex; ultra-high pressure

## 0 引言

大豆亲脂蛋白(Lipophilic protein, LP)的主要成分是油体蛋白和磷脂,它是油体的原始成分,且具有较强的表面活性。LP作为一种营养价值较高的植物蛋白被广泛应用于食品工业中<sup>[1]</sup>。但在加工中

天然大豆蛋白的功能会受到一定程度的破坏,尤其是当溶液的pH值接近蛋白质的等电点时,蛋白质的各种功能都会大幅度下降,因此常对蛋白进行适当的改性处理<sup>[2]</sup>。研究人员通过多种方式,如加热、超声、微波、超高压等技术手段,改变蛋白质的空间结构和功能特性<sup>[3-6]</sup>,使其表现出更好的功能特

收稿日期:2019-04-07 修回日期:2019-04-26

基金项目:中国博士后科学基金面上项目(2018M631902)和国家自然科学基金重点项目(31430067)

作者简介:李杨(1981—),男,教授,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail:liyanguangyu@163.com

通信作者:齐宝坤(1986—),男,讲师,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail:qibaokun22@163.com

性。近年来,天然大豆蛋白改性成为研究热点,如引入磷脂等生物小分子或多糖等生物大分子物质,使其与蛋白质发生相互作用,复合体系的形成对大豆蛋白的功能性质产生重要影响。

羟丙基甲基纤维素(Hydroxypropyl methylcellulose, HPMC)是一种可食用性纤维素,其健康无毒,且具有良好的水溶性、成膜性和较强的表面活性,可以控制表面压力并改善薄膜粘弹性<sup>[7]</sup>,可作为稳定剂用于乳液制备。作为一种两性离子表面活性剂,HPMC可以通过结合的方式使LP的表面活性发生改变,且它们之间的交互作用会影响LP的功能性质。已有研究通过加入多糖改变蛋白连续相的流变特性和界面膜结构,增强体系的稳定性<sup>[8-10]</sup>。文献<sup>[11]</sup>研究表明,多糖连接到蛋白质表面,部分结构可以伸入两相中形成有效的乳液保护层,降低界面张力,增强液滴间静电排斥或空间位阻。但未能清晰地解释超高压处理等物理加工方式对蛋白质-多糖交互作用的影响。

本文通过超高压处理改变蛋白质构象,促进柔性结构展开、刚性区域重排、非极性基团暴露,同时改变蛋白质三、四级结构,促进多糖与蛋白质分子的键合,使蛋白-多糖复合物有效提高乳液界面活性、构象稳定性和乳化稳定性;同时,研究超高压处理对LP-HPMC复合程度及复合物功能性质的影响,实验研究超高压处理条件对LP-HPMC复合物形成的影响,以期超高压技术运用于LP-HPMC复合产品和其他蛋白与HPMC复合的食品加工过程提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

大豆(东农43),东北农业大学大豆研究所;羟丙基甲基纤维素(I型,粘度:30 mPa·s),天津市东丽区天大化学试剂厂;葵花籽油,市售;氯化钠,天津市光复精细化工研究所;硫酸,北京新光化工试剂厂;磷酸二氢钠,天津市东丽区天大化学试剂厂;磷酸氢二钠,天津市东丽区天大化学试剂厂;其他试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

ULTRA-TURRAX UTL2000型高压均质机,上海标本模型有限公司;LGR20-W型台式高速冷冻离心机,北京京立离心机有限公司;Mastersizer2000型激光粒度仪,英国马尔文仪器有限公司;DELTA VISION OMX SR型超分辨显微镜,德国徕卡公司;UV-5100型高性能紫外可见分光光度计,上海让奇仪器科学有限公司;F4500型荧光分光光度

计,日本日立公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 大豆亲脂蛋白提取

大豆LP组分的分离由文献<sup>[12]</sup>的方法经修改后使用。大豆磨粉,过60目筛,正己烷脱脂制备低变性大豆脱脂粉,在70℃干热处理2h,此时氮溶指数降至75%。50g干热处理后的脱脂豆粉加入到400mL蒸馏水中,用NaOH调节pH值到8.0。在20℃下搅拌1h后3000g离心10min。分离上清液并加入10mol/L Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>,然后用H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>调节pH值至5.8,3000g离心10min,再用H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>调节上清液pH值至5.0,并在55℃下处理15min。然后加入50mol/L NaCl并用NaOH调节pH值到5.5,3000g离心10min,沉淀即为LP组分。

#### 1.3.2 LP-HPMC复合物的超高压处理

将HPMC与LP以1:5(质量比)的比例混合于100mL锥形瓶中,LP质量浓度为5mg/mL,室温(20℃)搅拌后静置12h。次日,将混合溶液分成5组,密封后将其中4组放入聚乙烯袋内,置于高压容器中。在25℃条件下,对每组溶液分别进行200、300、400、500MPa加压处理,每种压力条件下的连续加压时间为10min。每组测量3次,取平均值,冻干部分备用。

#### 1.3.3 LP-HPMC复合物乳液的制备

用pH值为7.4的10mol/L磷酸盐缓冲溶液制备由HPMC稳定的LP水包油乳液。通过将适量的经不同超高压处理的LP-HPMC复合物溶液中加入25%的葵花籽油,在10000r/min条件下均质3min后形成乳液,4℃条件下贮藏。

#### 1.3.4 三维荧光光谱

采用荧光光谱仪并参照文献<sup>[13]</sup>的方法测定LP-HPMC溶液的三维荧光光谱,将制备好的LP-HPMC溶液稀释50倍后,取一定量置于比色皿中测定得到三维荧光结构图。初始激发波长为280nm,扫描波长为200~500nm,谱带宽度10nm,扫描16条曲线。

#### 1.3.5 红外光谱(FTIR)

将乳液直接进行冻干,冻干后的样品置于干燥器中用P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>充分干燥,取样品1.5mg与200mg溴化钾研磨混匀后压片进行红外光谱测定。在实验过程中,为了减少水蒸气的影响干扰,用干燥的N<sub>2</sub>持续注入测量室。测定时波数为4000~400cm<sup>-1</sup>,扫描次数64,分辨率4cm<sup>-1</sup>,得到的红外吸收曲线采用peak fitting软件和高斯曲线拟合,分析蛋白在不同均质压力的情况下二级结构含量的变化<sup>[14]</sup>。

### 1.3.6 粒径和电位

使用 Mastersizer2000 型粒径电位仪进行 LP-HPMC 溶液粒径分布和  $\zeta$ -电势的测量。在装入 PCS8501 型比色杯之前,用 10 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 值 7.4) 将样品稀释至 0.1%。所有测量均在 25℃ 下进行 3 次。对于分散体使用 1.450 的折射率,对于连续相 (10 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 值 7.4) 使用 1.331 的折射率<sup>[15]</sup>。

### 1.3.7 溶解性

参考文献[16]的方法稍作修改测定 LP 溶解性,取冻干粉末溶解于蒸馏水中,质量浓度约为 10 mg/mL 的蛋白质溶液,搅拌 1 h 使样品溶解,静置 2 min 后,将静置后的上层溶液倒入离心管中离心 15 min (10 000 g)。取上清液 2  $\mu$ L 稀释 10 倍,采用 BCA (Bicinchoninic acid) 法测定蛋白质含量。以牛血清蛋白为标准物,蛋白质溶解度为上清液中蛋白的含量占样品中总的蛋白含量百分比。

### 1.3.8 表面疏水性

参考文献[17]的方法稍作修改,采用 ANS (8-苯胺基-1-萘磺酸铵) 作为荧光探针测定蛋白质表面疏水性。分别称取 0.025 g 不同冻干样品溶于 50 mL 磷酸盐缓冲液 (10 mol/L, pH 值 7.4) 中,在室温条件下搅拌 1.0 h 后离心 (10 000 g, 30 min), 取上清液用 BCA 法测定蛋白浓度,并用磷酸盐缓冲液 (10 mol/L, pH 值 7.4) 依次稀释蛋白,使其质量浓度在 0.005 ~ 0.1 mg/mL 之间,将所得梯度的上清液溶液与 8.0 mmol/L ANS 以体积比 100:1 混合,静置 3 min 后测其荧光强度。激发波长 390 nm, 发射波长 497 nm, 夹缝为 5 nm。以荧光强度对蛋白质质量浓度制图,初始段斜率即为蛋白质分子的表面疏水值。

### 1.3.9 乳化活性与乳化稳定性

样品乳化性及乳化稳定性测定参考文献[18]的方法。在 0 min 和 10 min 时从乳液样品底部分别取样 50  $\mu$ L, 经 SDS (十二烷基磺酸钠) 稀释 200 倍,充分混合后在 500 nm 处测定吸光度,记录为  $A$ , 以 SDS 做空白对照。乳化活性指数 (Emulsification activity, EAI) 和乳化稳定性指数 (Emulsification stability, ESI) 分别表示为

$$E_1 = 2T \frac{A_0 N}{10\,000\theta L C} \quad (1)$$

$$E_2 = \frac{10A_0}{A_0 - A_{10}} \quad (2)$$

式中  $E_1$ ——乳化活性指数,  $m^2/g$   
 $E_2$ ——乳化稳定性指数, min  
 $T$ ——活性常数, 取 2.303  
 $N$ ——稀释倍数, 取 200

$\theta$ ——油相体积分, 取 25%

$L$ ——比色杯厚度, 取 1 cm

$C$ ——乳化液形成前蛋白质水溶液中蛋白质质量浓度, 取 5 mg/mL

$A_0, A_{10}$ ——乳状液在 0、10 min 的吸光度

### 1.3.10 微观结构测定

参考文献[19]的方法稍加修改以用于乳液微观结构观察。用 0.01 mol/L pH 值 7.0 的磷酸缓冲溶液将样品适度稀释, 取一滴适度稀释的乳液放置在载玻片上, 并用盖玻片固定, 在 40 倍光学显微镜下进行观察。

### 1.4 数据处理

本实验数据均为 3 个平行样的平均值, 结果采用 SPSS 22.0 分析软件和 Origin 8.0 软件进行处理, 采用 ANOVA 对数据进行差异显著性分析 ( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 三维荧光分析

三维荧光是在二维基础上衍生出的新型荧光分析手段, 主要用于描述蛋白的荧光强度在两种维度上的变化。它在二维的基础上增加了测量的维数, 更加便于直观观测荧光强度状态的变化, 增加了光谱的分辨率<sup>[20]</sup>。

LP 和 HPMC 之间的相互作用很大程度上影响 LP 的物化性质, 从而对 LP 进一步应用产生影响, 可以使用三维荧光分析来研究。图 1 显示在不同超高压条件处理下 LP-HPMC 复合物的三维荧光图谱, 实验组前期研究证明 LP 的激发波长和发射波长都在 220 nm 处, 证明其发色基团主要出现在此波长下; 当 LP 与 HPMC 相互结合时在激发波长 280 ~ 480 nm 范围内, 出现第 2 个峰, 证明二者发生相互作用。实验数据显示, 不同超高压处理的 LP-HPMC 复合物荧光强度均高于未经超高压处理的复合物, 且当超高压处理条件为 400 MPa 时, 220 nm 处荧光强度几乎为零, 这可能是由于在此均质压力下 LP 的发色基团被埋在复合物的疏水区域中, LP 荧光强度在复合物的存在下发生猝灭, 暂时无法被识别。这也可以从侧面体现 400 MPa 压力下 LP 溶解性得到很大提升, 增大与 HPMC 反应量更有利于 LP-HPMC 复合物的进一步利用。

### 2.2 红外光谱分析

通常, 多糖可以通过静电吸引、氢键或与蛋白质的疏水相互作用在蛋白质稳定的乳液界面处形成双层结构<sup>[21]</sup>。超高压均质作用后, LP 和 HPMC 在水相中的相互作用研究尚属空白。因此, 傅里叶变换

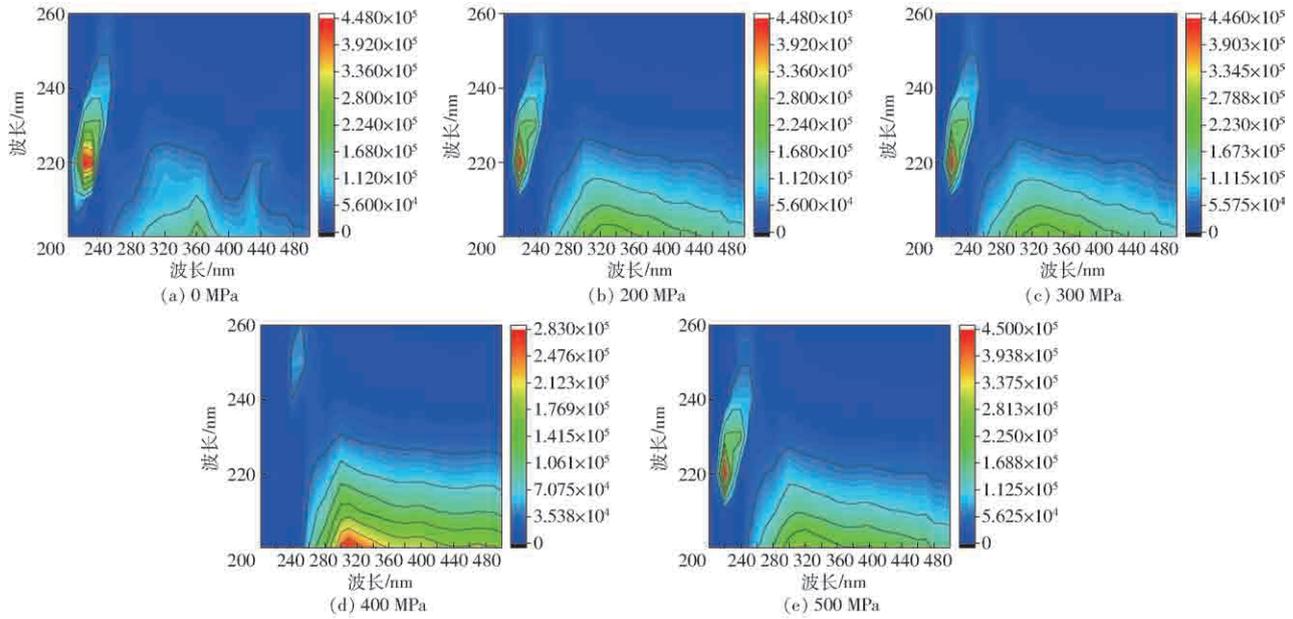


图1 不同超高压处理条件下LP-HPMC复合物三维荧光光谱

Fig.1 Three-dimensional fluorescence of LP-HPMC complex under different ultra-high pressure treatment conditions

红外光谱 (FTIR) 被用来研究均质化过程对其结构和潜在相互作用的影响。在超高压作用之前和之后 LP-HPMC 分散体的光谱在  $900 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$  的波段内收集,求得 LP 二级结构含量的同时分析  $1350 \sim 1700 \text{ cm}^{-1}$  之间的光谱,因为该区域覆盖了蛋白的主要特征吸收峰<sup>[22]</sup>。LP-HPMC (图 2) 在  $1645, 1548, 1456, 1400 \text{ cm}^{-1}$  处存在特征吸收峰对应作用键分别为 C=O 拉伸和 N-H、C-H、C-N 键的弯曲<sup>[23]</sup>。与均质化前的 LP-HPMC 相比,均质化后 LP-HPMC 光谱没有显示出显著差异。结果表明:均质化不会引起 LP 分子结构的显著变化;均质化处理不会在 LP 和 HPMC 之间引起明显的共价相互作用。LP-HPMC 可能通过非共价相互作用形成复合物,例如静电吸引或疏水相互作用。结合溶解度以及电位数据进行进一步分析,溶解度数据显示,未经超高压处理的 LP-HPMC 复合物溶解度较低,相比之前的实验数据得知仅比未添加 HPMC 的 LP 溶液溶解度高 2.4% 左右,所以排除二者的疏水相互作用。电位数据显示未经超高压处理的 LP-HPMC 复合物为  $-7.1 \text{ mV}$ ,与未添加 HPMC 的 LP 溶液电位 ( $0.91 \text{ mV}$ ) 明显不同,电位的改变说明二者发生静电相互作用改变了复合物表面电荷,即 LP-HPMC 之间发生非共价相互作用。

另外,从二级结构数据(表 1)分析,超高压处理可以提高  $\alpha$ -螺旋相对含量, $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角和无规则卷曲结构也发生不同程度的改变,400 MPa 时  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠结构相对含量最高,说明 LP 的二级结构在一定程度上被破坏,柔性结构增加,分子由有序结构变得无序。高压均质处理后可能破坏了二级结

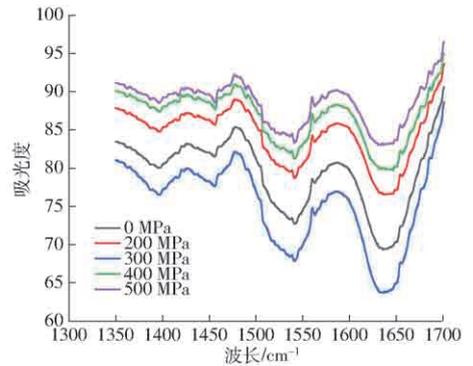


图2 不同超高压处理条件下LP-HPMC复合物红外光谱

Fig.2 IR spectrum of LP-HPMC composite under different ultra-high pressure treatment conditions

构中的氢键作用,使蛋白质分子展开、二级结构破坏、蛋白质不同程度改变和伸展,从而影响 LP 与 HPMC 的结合程度。

### 2.3 粒径和电位分析

图 3(图中不同字母表示电位差异显著)为不同超高压处理条件形成的 LP-HPMC 复合物溶液的粒径和电位。粒径越小、越均匀越有利于乳液的稳定;同样电位的绝对值越大表明乳液稳定性越好<sup>[24]</sup>。粒径图可以看出,未经超高压处理的 LP-HPMC 溶液出现明显的分峰,超高压处理后的溶液都只有一个粒径峰值,这与二者的结合程度有关,超高压可提高 LP 与 HPMC 的结合度。均质压力为 400 MPa 时,LP-HPMC 复合溶液粒径体积分数和平均粒径(218 nm)都最小,同时电位绝对值(16.4 mV)最大,说明此均质压力条件有利于 LP-HPMC 复合溶液的进一步开发利用。结合共聚焦图和电位变化

表 1 不同超高压处理条件下 LP-HPMC 复合物二级结构相对含量

Tab. 1 IR spectrum of LP-HPMC composite under different ultra-high pressure treatment conditions

均质压力/MPa	$\alpha$ -螺旋相对含量/%	$\beta$ -折叠相对含量/%	$\beta$ -转角相对含量/%	无规则卷曲相对含量/%
0	(19.19 ± 0.11) <sup>b</sup>	(33.44 ± 0.31) <sup>a</sup>	(17.26 ± 0.15) <sup>b</sup>	(30.11 ± 0.22) <sup>a,b</sup>
200	(22.46 ± 0.15) <sup>b</sup>	(40.12 ± 0.16) <sup>a</sup>	(17.29 ± 0.14) <sup>c</sup>	(20.13 ± 0.13) <sup>b</sup>
300	(36.44 ± 0.12) <sup>a</sup>	(29.33 ± 0.13) <sup>b</sup>	(22.01 ± 0.15) <sup>c</sup>	(12.21 ± 0.22) <sup>d</sup>
400	(20.11 ± 0.13) <sup>b</sup>	(41.35 ± 0.14) <sup>a</sup>	(20.76 ± 0.17) <sup>b</sup>	(17.77 ± 0.14) <sup>c</sup>
500	(21.42 ± 0.13) <sup>b</sup>	(39.43 ± 0.26) <sup>a</sup>	(17.64 ± 0.12) <sup>c</sup>	(21.51 ± 0.22) <sup>b</sup>

注:同一列不同字母表示有显著性差异( $P < 0.05$ )。

可知 400 MPa 处理的 LP 与 HPMC 形成复合物的乳液形状规则稳定,表面净电荷较多,这主要是由于在不同压力下蛋白质的空间构象发生变化,同时 HPMC 可以改变乳液表面电荷以及增加界面层厚度,增强乳滴间的空间排斥力和亲水性,改善复合物溶液的稳定性<sup>[25]</sup>。

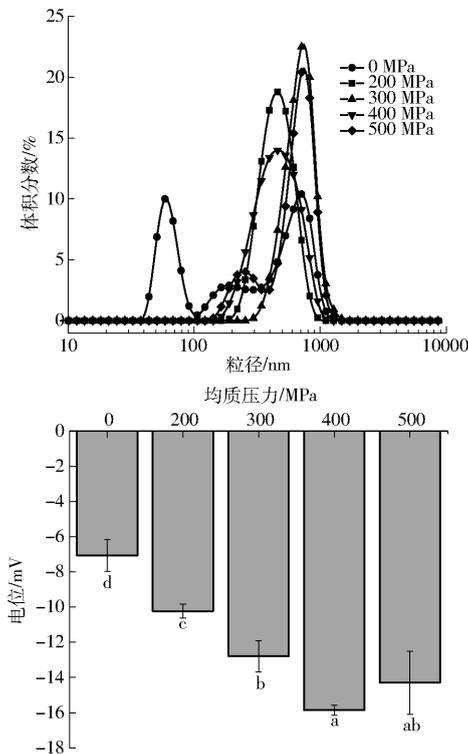


图 3 不同超高压处理条件下 LP-HPMC 复合物粒径和电位

Fig. 3 Particle size and potential of LP-HPMC complex under different ultra-high pressure treatment conditions

## 2.4 溶解性和表面疏水性分析

溶解性是蛋白质的重要指标,可直接影响蛋白质的功能性质<sup>[26]</sup>,而 LP 由于含大量磷脂,其溶解性较差,HPMC 添加可轻微改善 LP 溶解性,但效果不明显,辅以超高压处理可显著提高 LP 溶解度,400 MPa 时溶解度达到最大值 41.1%。在超高压处理过程中发生的均质化效应会产生强大的均质力,这会增加 LP-HPMC 疏水区域的局部温度和压力,导致蛋白质的去折叠,进而使其内部亲水性氨基酸

残基暴露,并且由于超高压处理期间促使 LP 中的不溶性沉淀物与 HPMC 相互作用形成可溶性聚集体,因此溶解度得到显著提升。表面疏水值表示蛋白质分子表面上存在的疏水基团数量,蛋白质的疏水值越大溶解度越小。图 4(图中不同字母表示溶解度差异显著)可以看出,随着压力的增大,表面疏水值呈现先减小后增大的趋势,与溶解度结果一致,即在 400 MPa 表面疏水值最小,为 57 832,此时溶解度最大。

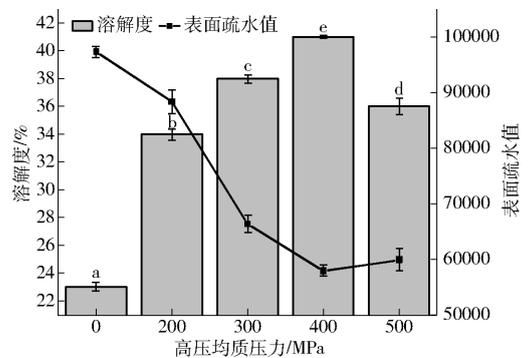


图 4 不同超高压处理条件下 LP-HPMC 复合物溶解度和表面疏水值

Fig. 4 Solubility and surface hydrophobicity of LP-HPMC complex under different ultra-high pressure treatment conditions

## 2.5 乳化活性和乳化稳定性分析

EAI 表示的是 LP-HPMC 复合物形成油-水界面的能力,HPMC 结合了 LP 后在水相中的溶解能力以及 HPMC 能够强烈吸附在油-水界面形成乳化层的能力;ESI 是指乳状液形成小液滴的稳定能力<sup>[27]</sup>。因此,EAI 及 ESI 是表征 LP-HPMC 复合物功能性质最有力的指标之一。由图 5(图中不同字母表示 EAI 差异显著)可知,随着均质压力的增大,EAI 与 ESI 都呈现先增大后减小的趋势,在 400 MPa 均质压力的情况下,LP-HPMC 乳液 EAI 都表现出最大值,超高压为 400 MPa 时对于乳液体系最有利,与前文得出的结论一致。而在 500 MPa 时,EAI 与 ESI 都呈现出最小值,这可能是由于均质压力过高会使 LP 内部疏水基团暴露,影响其溶解度,从而减少 LP-HPMC 复合物的形成量,进而使乳液 EAI

和 ESI 呈现最小值。这与三维荧光和溶解度数据结果一致,再次证明超高压为 400 MPa 时不但有利于 LP 与 HPMC 充分结合,此条件形成的乳液乳化活性与乳化稳定性也最佳。

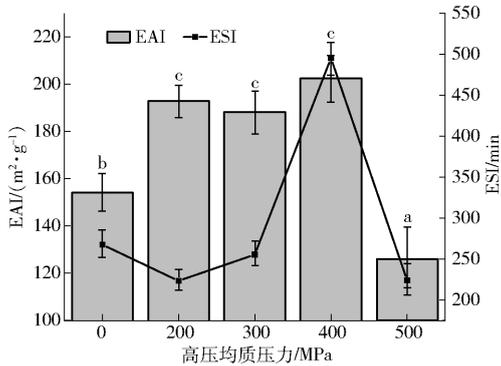


图5 不同超高压处理条件下 LP-HPMC 复合物乳液 EAI 和 ESI

Fig. 5 EAI and ESI of LP-HPMC composite emulsion under different ultra-high pressure treatment conditions

## 2.6 微观结构分析

光学显微镜经常用于分析液体微观结构,能够直观地反映出溶液颗粒大小、分散状况及产生的不稳定现象。图 6 是不同复合物所形成溶液的微观结

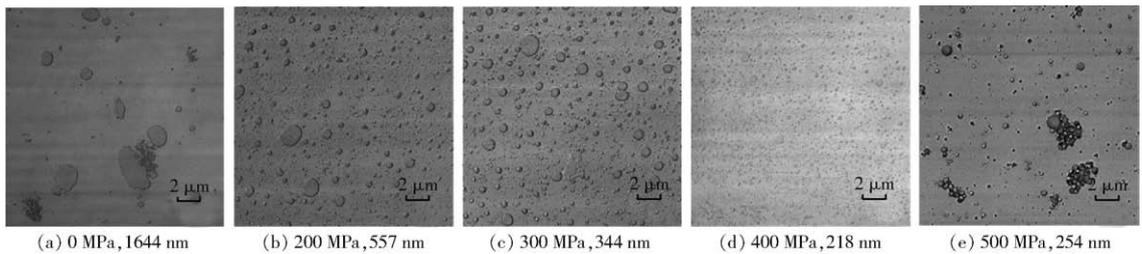


图6 不同超高压处理条件下 LP-HPMC 光学显微结果

Fig. 6 LP-HPMC optical microscope under different ultra-high pressure treatment conditions

## 3 结束语

采用超高压处理探究均质压力对 LP-HPMC 相互作用及复合物功能性质的影响,结果表明:适宜的超高压处理可以显著提高 LP 与 HPMC 的复合程度,同时提升功能性质,如溶解性、表面疏水性、乳化活性及乳化稳定性;400 MPa 改性的柔性大豆 LP 与 HPMC 复合物表现出较好的粒径分布,相对于未经

构图及平均粒径数据,随着超高压处理压力的增大,溶液粒径呈现先减小后增大的趋势。由图 6a 可知,未经超高压处理的 LP-HPMC 溶液液滴粒径较大(1644 nm)且分布不均匀,出现了液滴聚集,这主要是由于此时 LP 的溶解性较差,LP 和 HPMC 发生分离,没有较好地复合。LP 与 HPMC 相互作用形成的界面膜不够稳定,易发生絮凝或聚集现象。图 6b~6d 可以观察到较为均匀的蛋白液滴分布,同时也存在较小的液滴,这主要是由于不同超高压处理的 LP 与 HPMC 复合物稳定的液体粒径相对较小且经均质力作用呈球形分布。并且复合物随压力的增加液滴变小、分布均匀。这可能是由于复合物在空气-水界面形成更加致密的膜结构<sup>[25-26]</sup>,LP-HPMC 复合物经超高压处理后柔韧性和乳化性较好,形成液滴结构更加均匀,改善了液滴凝聚和絮凝现象,说明超高压处理得到的 LP-HPMC 复合物能更好地稳定乳液。然而,压力过大依旧不利于稳定复合物的形成,图 6e 显示 500 MPa 压力处理下的液滴团聚效应强于 200~400 MPa,说明压力过高时反而使蛋白质发生聚集无法伸展,不利于稳定乳液的形成。

超高压处理的 LP-HPMC 复合物溶液分散性更好;超高压处理改善了 LP 二级构象,随着压力的增加, $\alpha$ -螺旋相对含量先升高、后降低,无规卷曲结构相对含量先降低、再升高;400 MPa 时, $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠结构相对含量最高,LP 构象发生转变,此时 LP 有序构象的组成、柔性结构的展开影响蛋白质整体构象的柔韧性,更易与 HPMC 形成功能特性较好的复合物。

## 参 考 文 献

- [1] GAO Z M, WANG J M, WU N N, et al. Formation of complex interface and stability of oil-in-water (O/W) emulsion prepared by soy lipophilic protein nanoparticles[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2013, 61(32):7838-7847.
- [2] KATO A, OSAKO Y, MATSUDOMI N, et al. Changes in the emulsifying and foaming properties of proteins during heat denaturation[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1983, 47(1):33-37.
- [3] KNORR D, HEINZ V, BUCKOW R. High pressure application for food biopolymers[J]. BBA - Proteins and Proteomics, 2006, 1764(3):619-631.
- [4] FLOURY J, DESRUMAUX A, LEGRAND J. Effect of ultra-high-pressure homogenization on structure and on rheological properties of soy protein-stabilized emulsions[J]. Journal of Food Science, 2006, 67(9):3388-3395.
- [5] 李汴生. 超高压处理蛋白质和多糖胶体特性的变化及其机理研究[D]. 广州:华南理工大学, 1997.

- LI Biansheng. Study on the changes of colloidal properties of protein and polysaccharide in ultrahigh pressure treatment and its mechanism [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 1997. (in Chinese)
- [6] DICKINSON E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers[J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(6):1473–1482.
- [7] OSCAR E P, CECILIO C S, JUAN M R P, et al. Adsorption dynamics and surface activity at equilibrium of whey proteins and hydroxypropyl-methyl-cellulose mixtures at the air-water interface[J]. *Food Hydrocolloids*, 2007, 21(5):794–803.
- [8] 刘丽娅. 酪蛋白酸钠-多糖界面相互作用及其对乳状液稳定性的影响[D]. 广州:华南理工大学, 2011.  
LIU Liya. Intercellular interaction of sodium caseinate-polysaccharide and its effect on emulsion stability[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2011. (in Chinese)
- [9] 赵谋明, 龙肇, 赵强忠, 等. 蛋白质用量和比例对淡奶油理化性质的影响[J]. *吉林大学学报(工学版)*, 2014, 44(5):1–6.  
ZHAO Mouming, LONG Zhao, ZHAO Qiangzhong, et al. Effects of protein dosage and ratio on physical and chemical properties of whipped cream[J]. *Journal of Jilin University (Engineering Science)*, 2014, 44(5):1–6. (in Chinese)
- [10] 许慧, 郑环宇, 朱秀清, 等. 大豆浓缩蛋白改性及应用前景分析[J]. *食品科学*, 2012, 33(9):331–334.  
XU Hui, ZHENG Huanyu, ZHU Xiuqing, et al. Analysis of modification and application prospect of soy protein concentrate [J]. *Food Science*, 2012, 33(9):331–334. (in Chinese)
- [11] PAWLOWSKY K, DICKINSON E. Influence of protein-polysaccharide interactions on the rheology of emulsions[J]. *Food Colloids*, 2004, 20(9):258–265.
- [12] SAMOTO M, MAEBUCHI M, MIYAZAKI C, et al. Abundant proteins associated with lecithin in soy protein isolate[J]. *Food Chemistry*, 2007, 102(1):317–322.
- [13] LI J, LI Y, GUO S. The binding mechanism of lecithin to soybean 11S and 7S globulins using fluorescence spectroscopy[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2014, 23(6):1785–1791.
- [14] MANTSCH H H. New insight into protein secondary structure from resolution-enhanced infrared spectra[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1988, 952(2):115–130.
- [15] 毕爽, 江连洲, 毛惠婷, 等. 超声波处理对大豆分离蛋白-磷脂相互作用及其复合物功能性质的影响[J]. *食品科学*, 2016, 37(17):1–6.  
BI Shuang, JIANG Lianzhou, MAO Huiting, et al. Effects of ultrasonic treatment on soy protein isolate-phospholipid interaction and functional properties of its complexes[J]. *Food Science*, 2016, 37(17):1–6. (in Chinese)
- [16] SMITH P K, KROHN R I, HERMANSON G T. Measurement of protein using bicinchoninic acid [J]. *Analytical Biochemistry*, 1985, 163(1):76–85.
- [17] KATO A, NAKAI S. Hydrophobicity determination by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins[J]. *BBA—Protein Structure*, 1980, 624(1):13–20.
- [18] LI C, HUANG X, PENG Q, et al. Physicochemical properties of peanut protein isolate-glucomannan conjugates prepared by ultrasonic treatment[J]. *Ultrasonics-Sonochemistry*, 2014, 21(5):1722–1727.
- [19] WANG P, CHEN C, GUO H, et al. Casein gel particles as novel soft pickering stabilizers: the emulsifying property and packing behaviour at the oil-water interface [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 77(6):89–98.
- [20] SCURIATTI M P, TOMAS M C, WAGNER J R. Influence of soybean protein isolates-phosphatidylcholine interaction on the stability on oil-in-water emulsions[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2003, 80(11):1093–1100.
- [21] 邓欣伦. 核桃蛋白-多糖界面相互作用及其对乳浊液性质影响的研究[D]. 广州:华南理工大学, 2016.  
DENG Xinlun. Interaction of walnut protein-polysaccharide interface and its effect on emulsion properties[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016. (in Chinese)
- [22] CHEN B, LI H, DING Y, et al. Formation and microstructural characterization of whey protein isolate/beet pectin coacervations by laccase catalyzed cross-linking[J]. *LWT – Food Science and Technology*, 2012, 47(1):1–38.
- [23] BARTH A. Infrared spectroscopy of proteins[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, 1767(9):1073–1101.
- [24] 陈浩, 张凯华, 刘世永, 等. 甜菜果胶乳化活性及稳定性[J]. *食品科学*, 2018, 39(1):65–72.  
CHEN Hao, ZHANG Kaihua, LIU Shiyong, et al. Emulsification activity and stability of sugar beet pectin[J]. *Food Science*, 2018, 39(1):65–72. (in Chinese)
- [25] CHANG Y, MCCLEMENTS D J. Interfacial deposition of an anionic polysaccharide (fucoidan) on protein-coated lipid droplets: impact on the stability of fish oil-in-water emulsions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 51:252–260.
- [26] 郭建伟. 大米蛋白-麦芽糊精接枝物制备及功能性质研究[D]. 长沙:长沙理工大学, 2010.  
GUO Jianwei. Preparation and functional properties of rice protein-maltodextrin grafts [D]. Changsha: Changsha University of Science and Technology, 2010. (in Chinese)
- [27] 毕爽, 齐宝坤, 隋晓楠, 等. 超声处理对黑豆蛋白结构和功能性质的影响[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(6):153–160.  
BI Shuang, QI Baokun, SUI Xiaonan, et al. Effects of ultrasonic treatment on the structure and functional properties of black bean protein[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2016, 16(6):153–160. (in Chinese)
- [28] 邓若璇. 纳米纤维素作为乳化、稳定剂和膳食纤维的应用研究[D]. 无锡:江南大学, 2017.  
DENG Ruoxuan. Application of nanocellulose as emulsifier, stabilizer and dietary fiber [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017. (in Chinese)
- [29] CHEPLEAU N, LAMBALLERIE-ANTON M D. Improvement of emulsifying properties of lupin proteins by high pressure induced aggregation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2003, 17(3):273–280.
- [30] BENICHO A, ASERIN A, GARTI N. Protein-polysaccharide interactions for stabilization of food emulsions[J]. *Journal of Dispersion Science & Technology*, 2002, 23(1–3):93–123.