doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2020.08.040

超声时间对大豆-乳清混合蛋白结构及乳化性质的影响

王喜波　王　琳　周国卫　乔金文　张安琪　王玉莹
(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 通过混合动植物蛋白得到具有全新口感和对人体健康更有益的双蛋白食品越来越受到重视。采用聚丙烯酰胺凝胶电泳、傅里叶红外光谱、紫外光谱、8-苯胺-1-萘磺酸荧光探针等手段研究了超声时间对大豆-乳清混合蛋白(SPI-WPI)结构及乳化性质的影响。结果表明:超声处理不会使混合蛋白发生降解,但对其二级、三级结构影响显著;随超声时间的增加,SPI-WPI 二级结构中 α-螺旋和 β-折叠含量降低、β-转角含量增加,无规则卷曲含量也略有增加;由表面疏水性可知,超声处理后混合蛋白分子构象发生了改变,蛋白分子内部多肽链部分展开,蛋白结构变得更加舒展,疏水基团暴露,表面活性增强,乳化性增高;超声处理后,蛋白浊度显著降低,说明超声处理产生的空穴效应使蛋白粒子更加分散;混合蛋白体系乳化活性指数与乳化稳定性指数先增加、后降低,超声处理 30 min 时,混合蛋白体系乳化性最好。

关键词: 大豆分离蛋白; 乳清分离蛋白; 超声波处理; 结构特性; 乳化特性
中图分类号: TS201.2　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-1298(2020)08-0358-07　　**OSID**:

Effect of Ultrasound Time on Structure and Emulsifying Property of Soybean - Whey Mixed Protein

WANG Xibo　WANG Lin　ZHOU Guowei　QIAO Jinwen　ZHANG Anqi　WANG Yuying
(*College of Food Science*, *Northeast Agricultural University*, *Harbin* 150030, *China*)

Abstract: More and more attention has been paid to the double-protein food, which is beneficial to human health by mixing animal and plant proteins. Therefore, it is vital to understand the structure and properties of soybean - whey mixed protein, and its impact on mixed food texture and sensory quality. The effects of ultrasound treatment on the emulsifying activity and structural properties of soybean - whey (SPI - WPI) mixed protein were studied. The effect of ultrasound treated time on the structural and emulsifying property of SPI - WPI was studied by SDS - PAGE, Fourier infrared spectrum, UV absorption spectra and ANS fluorescence probe emission spectra. The results showed that ultrasound treatment had no significant influence on primary structure of SPI - WPI mixed protein. However, it had a significant effect on secondary structure and tertiary structure. The content of α-helix and β-sheet were decreased, the content of β-turn was increased, and the content of unordered was also increased slightly with the increase of ultrasound treatment. The results of surface hydrophobicity and UV-visible spectrum showed that the conformation of the mixed protein system was changed because of ultrasound, the polypeptide chains were partially expanded, hydrophobic groups were exposed, and the protein structure became more stretched. The turbidity of the treated samples was significantly lower than that of the untreated samples, indicated that the ultrasound treatment produced a cavitation effect that made the protein molecules more dispersed, and the resulting protein had a higher emulsification activity. The emulsification activity and emulsion stability of the mixed protein system were increased first and then decreased, reaching a maximum at 30 min. The results showed that the emulsification of SPI - WPI mixed system could be significantly improved by different treated time.

Key words: soy protein isolate; whey protein isolate; ultrasound treatment; structural property; emulsifying property

收稿日期: 2019-09-17　修回日期: 2019-10-17
基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0400600)
作者简介: 王喜波(1975—),男,教授,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: wangxibo@neau.edu.cn

0　引言

大豆分离蛋白(Soy protein isolate, SPI)与乳清分离蛋白(Whey protein isolate, WPI)是人类最重要的食源蛋白质[1]。近年来,通过混合蛋白得到全新口感和更有利于人体健康的食品,特别是优质植物蛋白和优质动物蛋白的混合蛋白食品越来越受到重视[2]。混合体系具有互补作用,主要体现在大豆分离蛋白与乳清蛋白间可进行互相作用并形成“关键簇”,可以促进氨基酸的高效利用[3]。大豆蛋白是目前研究最多、且容易获得的植物蛋白之一,通常用作传统动物蛋白的部分替代品。然而,未经处理的大豆蛋白部分或全部替代牛乳蛋白会对食品质地和感官特性产生负面影响。

超声波技术被认为是提高蛋白质溶解性等功能特性的最佳方法[4],超声波的空化作用与空穴效应能够破坏蛋白质的四级结构,使蛋白分子结构发生改变,小分子亚基或肽更多地暴露出来,进而改变蛋白质的功能特性。乳化性是混合蛋白加工过程中重要的功能指标,是决定混合蛋白在生产实践中应用的重要体现,也是影响混合蛋白产品品质稳定性的关键因素。提高乳化性有利于改进食品组织结构、口感和外观,可提高食品保存性[5]。研究发现,采用高强度超声处理可提高卵清蛋白[6]和小麦面筋蛋白[7]的乳化活性及乳化稳定性。CHEN 等[8]研究发现,高强度超声波处理 SPI,在 400 W 时会明显提升其乳化活性与乳化稳定性。ARZENI 等[6]采用高强度超声处理卵清蛋白,乳液稳定性增加,热聚合变快。ZHANG 等[9]采用超声技术对花生蛋白进行改性,结果显示,乳化活性与溶解性明显增大,分子结构发生改变。超声功率与超声时间处理都会影响蛋白的乳化特性,在一定范围内,由于超声功率的增大,乳化活性与乳化稳定性均会提高[10]。目前,关于超声处理对蛋白乳化特性及结构的影响已有部分研究,但超声处理对 SPI-WPI 混合蛋白体系结构及乳化特性的研究还鲜有报道。本课题组前期已研究了超声功率对 SPI-WPI 混合蛋白结构及理化性质的影响[11],本文在此基础上进一步研究超声时间对混合蛋白结构及乳化特性的影响,分析混合蛋白乳化特性改善的机理,以期为研究新型高乳化性的双蛋白食品提供理论支持。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

乳清分离蛋白,美国 HILMAR 公司,蛋白质量分数 93.09%;十二烷基磺酸钠(SDS),Sigma 公司;大豆分离蛋白,实验室自制,蛋白质量分数 90.96%;低分子量蛋白质 Marker,索莱宝生物科技有限公司;5×蛋白上样缓冲液,索莱宝生物科技有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.2　仪器与设备

UV-3600Plus 型紫外可见分光光度计,日本岛津公司;ULTRA-TURRAX T18 Basic 型高速分散机,德国 IKA 公司;FD5-series 型冷冻干燥机,美国西盟国际集团;JY92-ⅡN 型超声波细胞破碎仪,宁波新芝生物科技股份有限公司;FTIR-8400S 型傅里叶变换红外光谱仪,日本岛津公司;F-4500 型荧光分光光度计,日本日立公司。

1.3　试验方法

1.3.1　SPI-WPI 混合蛋白制备

制备方法参照 QIN 等[12]的方法,分别将 SPI 和 WPI 溶于去离子水中,质量浓度为 100 mg/mL,磁力搅拌器于室温(20℃)下搅拌 2 h,然后将两种蛋白按体积比 1∶1 进行混合并继续用磁力搅拌器搅拌 2 h,使其充分溶解。对照组:分别将 SPI 和 WPI 溶于去离子水中,使蛋白质量浓度为 100 mg/mL,在室温下搅拌 4 h,使其充分溶解。4℃静置 12 h。

1.3.2　超声处理

参照 HU 等[13]的方法,将已制备好的 SPI-WPI 混合蛋白溶液、SPI 与 WPI 溶液放置于 50 mL 离心管中。在超声处理前将盛有蛋白液的离心管放置于装满冰的烧杯中,在超声期间进行冰浴处理,使样品温度控制在 25~35℃之间防止样品过热。将超声处理器的钛探头(直径 0.636 cm)深入溶液 1~2 cm,设置超声功率为 300 W,超声时间分别为 0、15、30、45 min,得到超声后的样品。

1.3.3　聚丙烯酰胺凝胶电泳

参考 LAEMMLI[14]的方法并加以改进,配置 5%的上层胶和 13%的下层胶备用。将蛋白样品稀释为 5 mg/mL,并与 5×SDS 上样缓冲液以体积比 4∶1 进行混合,沸水处理 5 min。将冷却后的蛋白溶液吸取 7 μL 注入样孔。初始电压设定为 90 V,进入下层胶时设定电压为 120 V。电泳结束后将凝胶条用考马斯亮蓝染色液(R250)染色后静置 12 h,之后用脱色液脱色 3~4 次,采用凝胶成像系统分析电泳条带。

1.3.4　傅里叶红外光谱(FTIR)测定

将冷冻干燥后的蛋白样品与溴化钾按质量比为 1∶100 混合,用研钵磨成细小粉末,然后将混合后的粉末制成薄片[15],再用傅里叶变换红外光谱仪在 400~4 000 cm^{-1}处作全波段扫描,分辨率为 4 cm^{-1}。扫描次数为 32。

1.3.5 紫外扫描

参照 MORALES 等[16]的方法,将蛋白样品用 pH 值 7.0 的磷酸盐缓冲溶液(PBS, 0.01 mol/L)进行稀释,使其质量浓度为 2 mg/mL,用紫外可见分光光度计进行紫外扫描,设置波长范围 220 ~ 400 nm,扫描速率为 100 nm/min。试验值取 3 次扫描的平均值。

1.3.6 表面疏水性测定

参照 HASKARD 等[17]的方法略作修改。用 pH 值 7.0 的 PBS(0.01 mol/L)对样品溶液进行稀释,使其样品质量浓度为 4、1、0.25、0.062 5 mg/mL。加入 20 μL 的 ANS(8-苯胺-1-萘磺酸,8 mmol/L,pH 值 7.0)荧光探针,混合后在室温下避光处理 15 min。测定样品的荧光强度,其中设定发射波长为 470 nm,激发波长为 390 nm,狭缝宽度 5 nm。将测得的荧光强度与蛋白溶液质量浓度制图并分析,其斜率作为蛋白质表面疏水性指数。

1.3.7 浊度测定

参考 MARTINI 等[18]的方法,用 pH 值 7.0 的 PBS(0.01 mol/L)将样品稀释为 5 mg/mL,将待测样品用分光光度计测定吸光度用以表征样品浊度,波长为 600 nm。每个样本测定 3 次并取平均值。

1.3.8 乳化活性及乳化稳定性测定

参照 PEARCE 等[19]的方法。用 pH 值 7.0 的 PBS(0.2 mol/L)将蛋白样品稀释至 2 mg/mL,取 6 mL 蛋白样品溶液加入 2 mL 大豆油,用高速分散均质器于 11 000 r/min 搅打 1 min 后,立即于烧杯底部取样 50 μL,加入到 5 mL 0.1% 的 SDS 溶液中,混匀后用分光光度计测定吸光度,波长为 500 nm,以 SDS 溶液作为空白。样品室温放置 10 min 后再次取样测定吸光度。其乳化活性指数和乳化稳定性指数计算公式为

$$E_{AI}=2T\frac{A_0N}{10\,000\varphi LC} \tag{1}$$

$$E_{SI}=\frac{10A_0}{A_0-A_{10}} \tag{2}$$

式中 E_{AI}——乳化活性指数,m^2/g

E_{SI}——乳化稳定性指数,min

T——常数,取 2.303

N——稀释倍数,取 100

φ——油相体积分数,取 25%

L——比色池光径,cm

C——乳化液形成前蛋白溶液的浓度,mol/L

A_0——乳状液在 0 min 的吸光度

A_{10}——乳状液在 10 min 的吸光度

1.4 数据统计分析

每个试验重复 3 次,利用 SPSS Statistics 20 软件对数据进行统计分析,采用 Origin 9.0 软件对数据进行图谱处理。

2 结果与讨论

2.1 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)图谱

图 1 为经不同超声时间处理的 SPI、WPI 和 SPI-WPI 的凝胶电泳图。图中,泳道 M 表示标准分子量;泳道 1、2、3、4 分别为 SPI 样品 0、15、30、45 min 超声处理;泳道 5、6、7、8 分别为 WPI 样品 0、15、30、45 min 超声处理;泳道 9、10、11、12 分别为 SPI-WPI 样品 0、15、30、45 min 超声处理。由图可知,与未处理的蛋白相比,超声处理后蛋白条带没有发生明显变化,说明没有新的蛋白质降解片段或蛋白质聚集产物出现,超声处理不会引起蛋白质分子量的改变[20]。SPI-WPI 混合体系与对照 SPI 和对照 WPI 相比在 66.2 ku 以上有新条带出现,可能是因为混合蛋白在超声处理时产生的热效应促使 SPI 与 WPI 之间进行相互作用,形成新的蛋白聚集体。

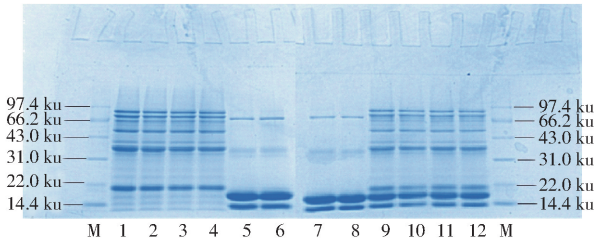

图 1 不同超声时间处理下 SPI、WPI、SPI-WPI 的 SDS-PAGE

Fig. 1 SDS-PAGE of SPI, WPI and SPI-WPI under different ultrasonic time

2.2 傅里叶红外光谱分析

图 2 为不同超声时间处理后 SPI、WPI、SPI-WPI 的傅里叶红外光谱图。蛋白质二级结构主要包括 α-螺旋、β-折叠、β-转角和无规则卷曲,氢键是稳定蛋白质二级结构的主要作用力。

ZHANG 等[9]报道了傅里叶红外光谱上的酰胺Ⅰ区域(1 600 ~ 1 700 cm^{-1}),其主要表示酰胺基团的 C═O 弯曲振荡(与拉伸面内弯曲相关联 C—N 键和 N—H 键)。每个子峰与二级结构之间的对应关系如下:α-螺旋波段为 1 648 ~ 1 664 cm^{-1},β-折叠波段为 1 615 ~ 1 637 cm^{-1} 和 1 682 ~ 1 700 cm^{-1},β-转角波段为 1 664 ~ 1 681 cm^{-1},无规则卷曲波段为 1 637 ~ 1 648 cm^{-1}[21]。

表 1 为拟合后 SPI、WPI、SPI-WPI 二级结构含量。由表可知,未处理蛋白二级结构中 β-折叠含量最高,其次为 β-转角、无规则卷曲和 α-螺旋。随超

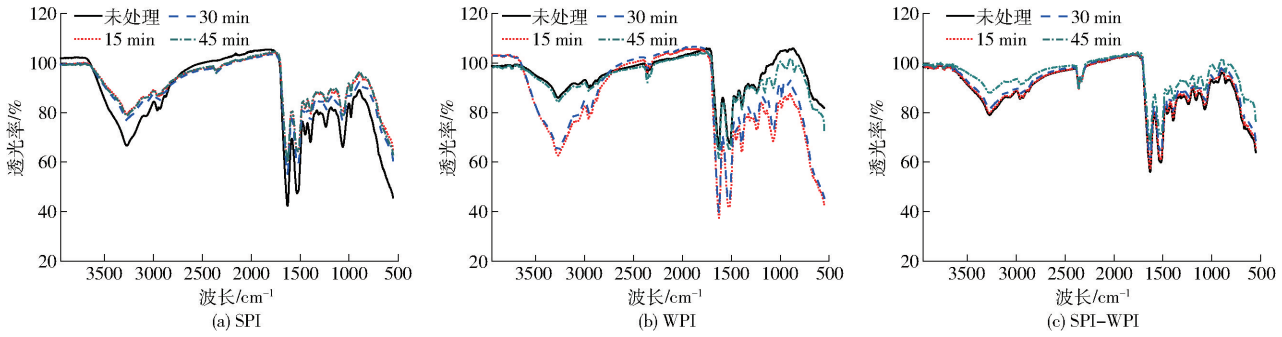

图 2　不同超声时间处理对傅里叶红外光谱的影响

Fig. 2　Effects of different ultrasonic time processing on FTIR spectra

表 1　不同超声时间处理下 SPI－WPI、SPI 和 WPI 二级结构相对含量

Tab. 1　Effect of different ultrasonic time processing on the secondary structure analysis of SPI－WPI, SPI and WPI

%

样品	超声时间/min	α-螺旋	β-折叠	β-转角	无规则卷曲
SPI－WPI	0	(16.04±0.31)^{D}	(44.67±0.56)^{D}	(20.22±0.17)^{A}	(19.07±0.20)^{A}
	15	(15.03±0.29)^{C}	(43.62±0.61)^{C}	(21.74±0.19)^{B}	(19.60±0.13)^{B}
	30	(14.47±0.28)^{B}	(42.62±0.19)^{B}	(23.00±0.26)^{C}	(19.91±0.17)^{BC}
	45	(13.87±0.23)^{A}	(41.68±0.23)^{A}	(24.23±0.25)^{D}	(20.22±0.24)^{C}
SPI	0	(13.69±0.27)^{a}	(47.59±0.48)^{c}	(20.38±0.31)^{a}	(18.34±0.15)^{a}
	15	(14.94±0.29)^{b}	(44.04±0.35)^{b}	(22.16±0.27)^{b}	(18.87±0.24)^{b}
	30	(16.00±0.24)^{c}	(42.17±0.25)^{a}	(22.51±0.21)^{bc}	(19.32±0.23)^{c}
	45	(16.30±0.23)^{c}	(41.55±0.30)^{a}	(22.87±0.16)^{c}	(19.29±0.23)^{c}
WPI	0	(15.63±0.24)$^{a'}$	(45.30±0.17)$^{c'}$	(19.53±0.39)$^{a'}$	(19.54±0.26)$^{a'}$
	15	(16.57±0.18)$^{b'}$	(42.25±0.56)$^{b'}$	(21.04±0.21)$^{b'}$	(20.14±0.43)$^{b'c'}$
	30	(17.28±0.21)$^{c'}$	(40.22±0.76)$^{a'}$	(22.11±0.17)$^{c'}$	(20.39±0.39)$^{c'}$
	45	(17.11±0.20)$^{c'}$	(39.41±0.60)$^{a'}$	(22.83±0.15)$^{d'}$	(20.66±0.26)$^{c'}$

注：同列不同大、小写字母表示具有显著性差异($p<0.05$)。

声时间增加，SPI 和 WPI 二级结构中，β-折叠含量逐渐降低，β-转角含量显著增加，α-螺旋和无规则卷曲含量略有增加。SPI－WPI 中 α-螺旋和 β-折叠含量降低，β-转角含量增加，无规则卷曲含量略有增加。β-折叠含量降低可能是由于超声引起的空穴效应促进蛋白质的机械运动，使分子相互撞击，促使蛋白质发生聚集反应。STATHOPULOS 等[22]也指出蛋白质发生聚集会导致 β-折叠含量减少。β-折叠含量还与蛋白质的疏水相互作用有关，其含量降低表明蛋白质疏水基团的暴露，疏水性增强[23]。而同作为 β 结构，β-折叠更易转变为 β-转角，在超声处理下 β-转角含量增加，也可以说明超声波处理使蛋白质结构更加舒展[24]。此外，经超声处理后 SPI－WPI 中无规则卷曲含量增加伴随着 α-螺旋含量的降低，说明超声处理可以改变 WPI 和 SPI 的内部结构，并且会促进混合蛋白质之间的相互作用[25]。

2.3　紫外光谱分析

超声处理 SPI－WPI、SPI 与 WPI 发出不同紫外吸收峰的原因是两种蛋白质侧链含有不同的酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸残基[26]。样品的紫外吸收光谱不同，可推断蛋白质分子三级构象发生改变[27]，进而分析氨基酸残基的改变[28]。

不同超声时间处理蛋白体系紫外光谱图如图 3 所示。由图可知，不同时间超声处理后 SPI－WPI 混合蛋白体系的紫外光谱强度大于 SPI 和 WPI，说明超声处理对混合蛋白作用效果更明显，混合体系在 30、45 min 处理后紫外强度显著增加，且最大吸收强度略微红移，表明氨基酸环境向更加疏水的环境转移，这可能是因为混合蛋白体系构象发生了改变，超声使蛋白结构变得更加舒展。SPI 与 WPI 在超声处理后，紫外强度略微增加，说明超声处理使 SPI 与 WPI 蛋白内部结构部分展开，发色基团与芳杂环疏水基团更加暴露。SPI 紫外强度变化较小的原因可能是其蛋白颗粒较大，超声处理后体系易发生聚集体，会影响发色基团的暴露。混合体系紫外强度的变化说明不同超声时间处理有利于混合蛋白体系构象发生变化，引起蛋白质微观结构的改变。

2.4　表面疏水性

不同超声时间处理对蛋白质表面疏水性的影响如图 4 所示。实验结果以平均值±标准偏差表示，

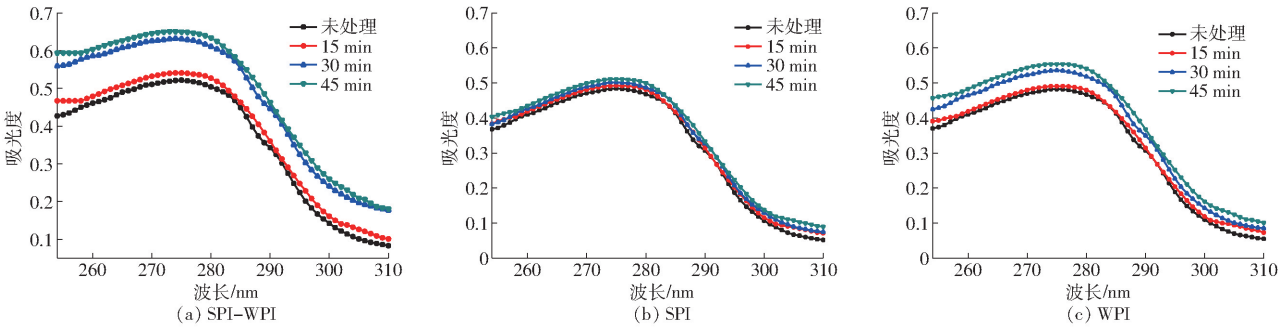

图 3 紫外光谱图

Fig. 3 Ultraviolet spectrum

图中不同大、小写字母表示具有显著性差异($p < 0.05$),下同。由图可知,未处理的 SPI - WPI 混合体系、SPI 与 WPI 样品表面疏水性最低。经处理后的混合体系和 SPI 表面疏水性呈先增大后下降的趋势,SPI - WPI 混合体系增加最为显著,在超声 30 min 时达到最高,WPI 表面疏水性随着超声时间的延长持续增大。这可能是因为未经超声处理的蛋白中疏水基团被包裹在蛋白分子内部,导致其与荧光探针的接触受到抑制[29]。超声处理产生的空穴效应使蛋白氢键和分子间作用力裂解,蛋白质分子结构发生变化,聚集的球状蛋白质逐渐解缔,蛋白质分子进一步展开[30],隐藏在 SPI - WPI 混合蛋白与 SPI 蛋白体系内部疏水基团与发色基团在长时间超声处理后更多地暴露出来,蛋白结构变得更加舒展。在较长时间(45 min)超声处理后,蛋白体系表面疏水性又降低,可能是因为长时间超声处理产生了热效应,在后期冷却过程中疏水互相作用会造成蛋白质疏水聚集,从而表面疏水性指数减小。

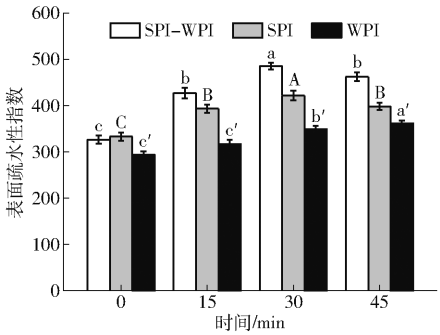

图 4 不同超声时间处理对蛋白质表面疏水性的影响

Fig. 4 Effect of different ultrasonic time processing on hydrophobicity of protein surface

2.5 浊度分析

图 5 为不同超声时间处理对蛋白质浊度的影响。随着超声时间的增加,SPI、WPI、SPI - WPI 混合体系浊度均呈下降趋势。未处理样品的浊度最高,这是由此时的复合体系蛋白分布不均衡且颗粒较大导致。SPI 和 SPI - WPI 在 0 ~ 15 min 处理下浊度变化最显著。这可能是因为此时超声处理复合体系间蛋白碰撞面大,空穴效应使大分子物质分解为小分子颗粒,样品中颗粒大小和颗粒数目发生变化,CROMWELL 等[31]也认为样品浊度与其溶液中聚集体数量和大小有关。超声 45 min 时浊度达到最小值。SPI - WPI 混合体系浊度在超声处理 30 ~ 45 min 时间内变化不明显。这可能是因为随着超声时间继续延长,体系中悬浮颗粒的粒度尺寸减小,此时体系的布朗运动快速增加,蛋白颗粒接触几率增大发生重聚集,从而使颗粒更难减小。浊度也与胶体的大小、浓度和折射率性质等高度相关[32]。WPI 浊度变化不显著,是因为乳清蛋白有很好的分散性,且粒子较小。

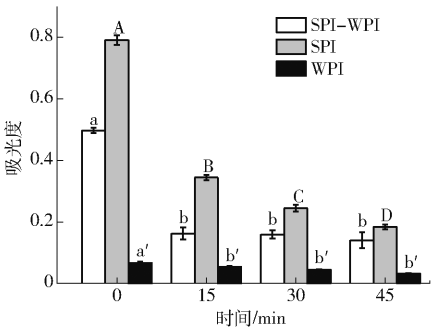

图 5 不同超声时间对浊度的影响

Fig. 5 Effect of different ultrasonic time on turbidity

2.6 乳化活性及乳化稳定性分析

图 6 为不同超声时间处理 SPI - WPI、SPI、WPI 对其乳化活性及乳化稳定性的影响。由图可知,SPI -WPI 的乳化活性与乳化稳定性随超声处理时间的增加呈现先上升后下降的趋势,在超声 30 min 时乳化活性指数达到最大值(78.39 m^2/g),乳化稳定性指数同时达到最大值(17.31 min)。SPI 与 WPI 的乳化活性也有同样的趋势,在 30 min 达到最大值,乳化活性指数分别为 66.78、77.47 m^2/g。乳化活性升高可能是因为表面疏水性增加,界面张力降低,蛋白质和油脂之间的相互作用增加[33]。超声 30 min 后SPI - WPI、SPI、WPI 的乳化活性随超声时间增加逐渐下降,这可能是因为超声处理蛋白时,颗粒的破碎与重聚集同时发生,随着超声作用时间

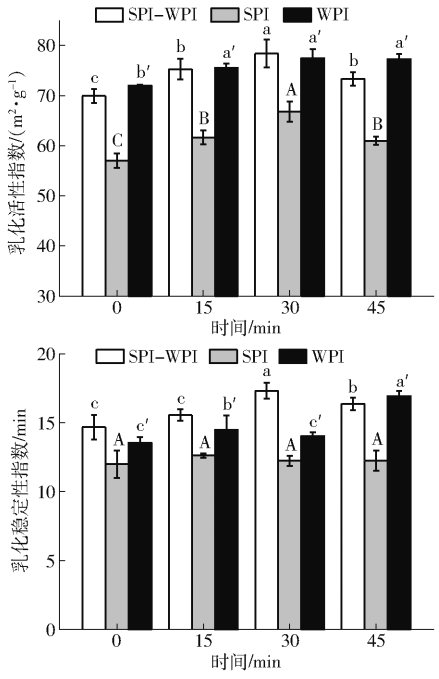

图 6　不同超声时间对乳化性的影响

Fig. 6　Effect of different ultrasonic time on emulsification

的延长，蛋白之间重聚集现象出现，影响疏水基团的暴露，从而导致乳化活性在一定程度上下降[34]。SPI 的乳化稳定性指数在 15 min 时达到最大值(12.61 min)。WPI 的乳化稳定性指数则在 45 min 达到最大值(16.92 min)。超声处理作用会带来空化效应和机械效应，这种作用力会打破蛋白质的四级结构，暴露更多的亚基。SPI－WPI 混合体系的乳化活性及乳化稳定性略高于对照组，这可能是因为超声处理后 SPI－WPI 混合体系在水中进一步伸展，内部基团暴露，整体结构舒展利于两种蛋白之间相互作用[35]，同时增强蛋白的界面性质与疏水性质，直接导致乳化活性指数与乳化稳定性指数的升高[36]。

3　结束语

超声处理对混合蛋白的分子量无明显影响，但对二级、三级结构影响显著。随超声处理时间的增加，SPI－WPI 混合体系中 α-螺旋和 β-折叠含量降低、β-转角含量和无规则卷曲含量增加，说明超声引起的空穴效应能促进蛋白质的机械运动，使分子相互撞击，促使蛋白质发生聚集反应，超声处理改变了 WPI 和 SPI 的内部结构，促进混合蛋白质之间的相互作用。紫外光谱结果显示，SPI－WPI 紫外最大吸收峰发生轻微红移，且紫外光谱强度发生改变，说明超声处理改变了蛋白内部结构。随着超声时间的增加，SPI－WPI 混合体系的浊度呈显著下降趋势，未处理样品的浊度最高，这是由此时的复合体系蛋白分布不均衡所导致。随着超声处理时间的增加，混合蛋白体系乳化活性指数与乳化稳定性指数呈现先增加、后下降的趋势，表面疏水性也有相同变化趋势。不同超声时间处理会改变蛋白结构，蛋白体系内部疏水基团与发色基团更多暴露，蛋白结构变得更加舒展。表面疏水性增加，增大了蛋白质和油脂之间的相互作用，有利于提高混合蛋白体系的乳化活性。

参　考　文　献

[1] 江连洲，赵谋明，陈生，等. 大豆精深加工关键技术创新与应用[J]. 中国食品学报，2012，12(6)：1－8.
JIANG Lianzhou，ZHAO Mouming，CHEN Sheng，et al. Key technology innovation and application of soybean intensive processing[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2012，12(6)：1－8.（in Chinese）

[2] 姜雪，韩越，杨瑞雪，等. 超声波处理在双蛋白饮品中的应用[J]. 食品工业，2015，36(10)：179－183.
JIANG Xue，HAN Yue，YANG Ruixue，et al. The usage of ultrasonic wave in mixed protein drinks[J]. The Food Industry，2015，36(10)：179－183.（in Chinese）

[3] 柴明艳. 大豆牛奶双蛋白乳制品及含乳饮料的稳定性研究[D]. 青岛：中国海洋大学，2012.

[4] SUN C H，GUNASEKARAN S. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum[J]. Food Hydrocolloids，2009，23(1)：165－174.

[5] 郭兴凤，阮诗丰. 影响大豆分离蛋白乳化稳定性测定的几种因素研究[J]. 食品研究与开发，2006，27(6)：59－61.

[6] ARZENI C，MARTINEZ K，ZEMA P，et al. Comparative study of high intensity ultrasound erects on food proteins functionality[J]. Journal of Food Engineering，2012，108(3)：463－472.

[7] ZHANG H，CLAVER I P，ZHU K X，et al. The effect of ultrasound on the functional properties of wheat gluten[J]. Molecules，2011，16(5)：4231－4240.

[8] CHEN L，CHEN J S，YU L，et al. Modifications of soy protein isolates using ultrasound treatment for improved emulsifying properties[J]. Advanced Materials Research，2012，554：944－948.

[9] ZHANG Q T，TU Z C，XIAO H，et al. Influence of ultrasonic treatment on the structure and emulsifying properties of peanut protein isolate[J]. Food and Bioproducts Processing，2014，92(1)：30－37.

[10] 王小英，李娜. 超声处理对大豆蛋白溶解性及蛋白组分的影响[J]. 中国油脂，2009，34(4)：31－34.
WANG Xiaoying，LI Na. Effect of ultrasonic treatment on solubility and protein component of soybean protein[J]. China Oils and Fats，2009，34(4)：31－34.（in Chinese）

[11] 王喜波，崔强，张安琪，等. 超声处理改善不同比例大豆-乳清混合蛋白理化性质[J]. 农业工程学报，2018，34(22)：299－305.
WANG Xibo，CUI Qiang，ZHANG Anqi，et al. Ultrasonic treatment improving physical and chemical properties of soybean－

whey mixed protein in different proportions[J]. Transactions of the CSAE, 2018, 34(22):299 - 305. (in Chinese)
[12] QIN X S, CHEN S S, LI X J, et al. Gelation properties of transglutaminase-induced soy protein isolate and wheat gluten mixture with ultrahigh pressure pretreatment[J]. Food and Bioprocess Technology, 2017, 10(5):866 - 874.
[13] HU H, WU J, LI-CHAN E C Y, et al. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(2):647 - 655.
[14] LAEMMLI B U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. Nature, 1970, 227:680 - 685.
[15] HERRERO A M, CARMONA P, PINTADO T, et al. Infrared spectroscopic analysis of structural features and interactions in olive oil-in-water emulsions stabilized with soy protein[J]. Food Research International, 2011, 44(1):360 - 366.
[16] MORALES F J, JIMENEZ P S. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence[J]. Food Chemistry, 2001, 72(1):119 - 125.
[17] HASKARD C A, LI-CHAN E C Y. Hydrophobicity of bovine serum albumin and ovalbumin determined using uncharged (PRODAN) and anionic (ANS^-) fluorescent probes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(7):2671 - 2677.
[18] MARTINI S, POTTER R, WALSH M K. Optimizing the use of power ultrasound to decrease turbidity in whey protein suspensions[J]. Food Research International, 2010, 43(10):2444 - 2451.
[19] PEARCE K N, KINSELLA J E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1978, 26(3):716 - 723.
[20] 常海霞, 石燕, 王辉, 等. 超声波对草鱼肌肉肌原纤维蛋白溶液理化特性的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(5):56 - 60.
CHANG Haixia, SHI Yan, WANG Hui, et al. Effect of ultrasonic treatment on physico-chemical properties of myofi brillar protein from grass carp[J]. Food Science, 2015, 36(5):56 - 60. (in Chinese)
[21] ZHAO X, CHEN F, XUE W, et al. FTIR spectra studies on the secondary structures of 7S and 11S globulins from soybean proteins using AOT reverse micellar extraction[J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(4):568 - 575.
[22] STATHOPULOS P B, SCHOLZ G A, HWANG Y M, et al. Sonication ofproteins causes formation of aggregates that resemble amyloid[J]. Protein Science, 2004, 13(11):3017 - 3027.
[23] 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.
LI Yang, TIAN Tian, LIU Jun, et al. Effect of ultrasound on structure and emulsification of soy protein isolate[J]. The Food Industry, 2019, 40(1):184 - 188. (in Chinese)
[24] BARTH A. Infrared spectroscopy of proteins[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2007, 1767(9):1073 - 1101.
[25] WANG Z J, LI Y, JIANG L Z, et al. Relationship between secondary structure and surface hydrophobicity of soybean protein isolate subjected to heat treatment[J/OL]. Journal of Chemistry, 2014. http://doi.org/10.1155/2014/475389.
[26] 王喜波, 徐晔晔, 于洁, 等. 高压均质对大豆蛋白柔性和乳化性的影响及其相关性分析[J/OL]. 农业机械学报, 2018, 49(6):362 - 367.
WANG Xibo, XU Yeye, YU Jie, et al. Effect of high pressure homogenization on flexibility and emulsifying properties of soy protein isolate and correlation analysis[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(6): 362 - 367. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag=1&file_no=20180643&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2018.06.043. (in Chinese)
[27] 孙英杰. 超声波处理对大豆分离蛋白结构与功能性质的影响研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学,2014.
[28] RUSO J M, GONZÁLEZ-PÉREZ A, PRIETO G, et al. Study of the interactions between lysozyme and a fully-fluorinated surfactant in aqueous solution at different surfactant-protein ratios[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2003, 33(1):67 - 73.
[29] 毕爽, 李杨, 毛惠婷,等. 超声波处理蛋白质-磷脂复合物结构与功能性构效关系解析[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(10):61 - 67.
BI Shuang, LI Yang, MAO Huiting, et al. Effect of ultrasound on soybean protein - phospholipid structure and function[J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(10):61 - 67. (in Chinese)
[30] CHANDRAPALA J, ZISU B, PALMER M, et al. Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2010, 18(5):951 - 967.
[31] CROMWELL M E M, HILARIO E, JACOBSON F. Protein aggregation and bioprocessing[J]. AAPS Journal, 2006, 8(3): E572 - E579.
[32] YE R, HARTE F. High pressure homogenization to improve the stability of casein-hydroxypropyl cellulose aqueous systems [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 35(3):670 - 677.
[33] YIN S W, TANG C H, CAO J S, et al. Effects of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate[J]. Food Chemistry, 2008, 106(3):1004 - 1013.
[34] SUI X N. 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.
[35] MOLINA E, PAPADOPOULOU A, LEDWARA D A. Emulsifying properties of high pressure treated soy protein isolate and 7S and 11S globulins[J]. Food Hydrocolloids, 2001, 15(3):263 - 269.
[36] 袁道强, 杨丽. 超声波改性提高大豆分离蛋白酸性条件下溶解性的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2008(1):27 - 28, 47.
YUAN Daoqiang, YANG Li. Ultrasonic modification improves solubility of soy protein isolate under acidic condition[J]. Cereal and Food Industry, 2008(1):27 - 28, 47. (in Chinese)