

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2025.60027

胰蛋白酶法制备马铃薯蛋白纤维 及其结构性质和功能特性研究

周向军^{1,2} 李 苗¹

(1. 天水师范学院生物工程与技术学院, 甘肃 天水 741001;

2. 甘肃省农业固体废弃物资源化利用重点实验室, 甘肃 天水 741001)

摘要: [目的] 基于酶法制备马铃薯蛋白纤维 (PPF), 并分析其结构特性和功能特性。[方法] 以马铃薯分离蛋白 (PPI) 为原料, 采用胰蛋白酶 (Tyr) 法和酸热处理技术制备 PPF, 分析蛋白质量浓度、加热时间、Tyr 酶活、加热温度对 PPF 荧光强度的影响, 并利用红外光谱、荧光光谱等分析 PPF 的结构性质; 以姜黄素 (Cur) 为包埋对象, 通过包封率和装载量、热稳定性和抗氧化性探讨 PPF-Cur 的功能特性。[结果] PPF 纤维化过程中 β -折叠含量由 28.12% 增至 32.29%, α -螺旋含量由 22.53% 增至 25.87%。当蛋白质量浓度为 0.2~0.8 mg/mL 时, PPF 的 Trp 荧光峰发生红移且荧光强度高于 PPI。当 Cur 质量浓度为 20~100 $\mu\text{g/mL}$ 时, PPF-Cur 包封率由 (64.66 \pm 0.25)% 增至 (96.16 \pm 0.20)%, 增加了 48.72%; 装载量由 (3.25 \pm 0.01) $\mu\text{g/mg}$ 增至 (19.62 \pm 0.02) $\mu\text{g/mg}$, 增加了 5.04 倍。当加热至 120 min 时, 游离 Cur、PPF-Cur 保留率分别为 (74.40 \pm 0.32)%, (87.83 \pm 0.61)%。当 Cur 质量浓度为 20~40 $\mu\text{g/mL}$ 时, PPF-Cur 对 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基的清除率分别为 66.46% 和 47.87%。[结论] 采用酶法结合酸热处理技术制备的食品蛋白纤维, 能改善蛋白质的结构性质和功能特性。
关键词: 蛋白纤维; 结构性质; 功能特性; 负载; 姜黄素

Preparation of potato protein fiber by trypsin method and its structural and functional properties

ZHOU Xiangjun^{1,2} LI Miao¹

(1. School of Bioengineering and Biotechnology, Tianshui Normal University, Tianshui, Gansu 741001, China;

2. Gansu Key Laboratory of Utilization of Agricultural Solid Waste Resources, Tianshui, Gansu 741001, China)

Abstract: [Objective] To investigate the preparation of potato protein fiber (PPF) based on enzymatic method, and further analyze their structural and functional properties. [Methods] PPF is prepared from potato protein isolate (PPI) through enzymatic hydrolysis with trypsin (Tyr) and acid-heat treatment. The effects of protein mass concentration, heating time, Tyr activity, and heating temperature on the fluorescence intensity of PPF are studied. Structural properties of PPF are characterized by infrared spectroscopy, fluorescence spectroscopy, etc. With curcumin (Cur) as an encapsulated object, the encapsulation efficiency, loading capacity, thermal stability, and antioxidant activity of PPF-Cur complexes are investigated. [Results] During the fibrosis process of PPF, the β -sheet content increases from 28.12% to 32.29%, and the α -helix content increases from 22.53% to 25.87%. When the protein mass concentration ranges from 0.2 to 0.8 mg/mL, the Trp fluorescence peak of PPF exhibits a redshift, and its fluorescence intensity is higher than that of PPI. When the Cur concentration increases from 20 to 100 $\mu\text{g/mL}$, the encapsulation efficiency of PPF-Cur increases from (64.66 \pm 0.25)% to (96.16 \pm 0.20)%, representing a 48.72% increase, while the loading capacity increases from (3.25 \pm 0.01) to (19.62 \pm 0.02) $\mu\text{g/mg}$, a 5.04-fold increase. After heating for 120 min, the retention rates of free Cur and PPF-Cur are (74.40 \pm 0.32)% and (87.83 \pm 0.61)%, respectively. At Cur concentrations of 20~40 $\mu\text{g/mL}$, the

基金项目: 甘肃省高等学校创新基金项目 (编号: 2022A-112)

通信作者: 周向军 (1980—), 男, 天水师范学院副教授, 硕士。E-mail: zhouxiangjun125@126.com

收稿日期: 2025-01-15 改回日期: 2025-03-12

引用格式: 周向军, 李苗. 胰蛋白酶法制备马铃薯蛋白纤维及其结构性质和功能特性研究 [J]. 食品与机械, 2025, 41(4): 54-62.

Citation: ZHOU Xiangjun, LI Miao. Preparation of potato protein fiber by trypsin method and its structural and functional properties [J]. Food & Machinery, 2025, 41(4): 54-62.

scavenging rates of PPF-Cur against DPPH free radicals and ABTS⁺ free radicals reach 66.46% and 47.87%, respectively. [Conclusion] Food protein fibers prepared by enzymatic method combined with acid heat treatment can improve the structural and functional properties of proteins.

Keywords: protein fiber; structural property; functional property; loading; curcumin

蛋白质具有相对的环境稳定性,但在低 pH、高温或酶解等食品加工条件下,其仍可通过非共价作用自组装形成蛋白纤维^[1]。蛋白纤维的长径比高、生物相容性好^[2]、安全无毒^[3],不仅具有性能优异的成泡性、乳化性、凝胶性、成膜性和抗氧化性等特点,也可作为食品功能因子的新型递送体^[4-6]。研究发现,在适当加工条件下,几乎所有蛋白质均具有形成蛋白纤维的能力^[7],如乳清蛋白、蛋清蛋白、牛血清蛋白等动物蛋白,以及大豆蛋白、蚕豆蛋白、绿豆蛋白、燕麦蛋白等植物蛋白^[8-9]。传统的蛋白纤维制备方法主要有酸热诱导法、酸诱导剂法和静电纺丝法等^[10]。然而,单纯的酸热处理易受到溶液 pH 变化影响而不适合食品体系;静电纺丝法需要专门的仪器设备,且单一蛋白溶液由于含有大量球蛋白而无法通过静电纺丝形成蛋白纤维。基于酶法辅助酸热技术制备的蛋白纤维,不仅能适度降低传统酸热法中对酸热的高度依赖性,还具有两亲性和高负载性,目前已成为改善和拓展食品蛋白质功能特性的重要策略之一。

胰蛋白酶(Tyr)是一种丝氨酸蛋白内切酶,作用于 Lys/Arg 的 COOH 所参与形成的肽键^[11]。Monge-Morera 等^[12]研究表明,Lys/Arg 残基通常不出现在原纤维易发区,因此 Tyr 水解不会对蛋白纤维产生负面影响,且 Tyr 酶解有助于加速 α -螺旋还原为 β -折叠^[13]。马铃薯分离蛋白(PPI)含量约为马铃薯的 2%^[14],且来源广泛,在 Tyr 酶解作用下也具有形成马铃薯蛋白纤维(PPF)的潜在价值。姜黄素(Cur)为姜黄根茎多酚类化合物,具有抗氧化、抗炎、抗菌等活性^[15],但其水溶性差、化学稳定性低、生物利用率不高。Yang 等^[16]将豌豆蛋白纤维与白藜芦醇复配后,可显著改善白藜芦醇的水溶性、化学稳定性、抗氧化性和抗细胞增生作用。Hu 等^[17]通过蛋白纤维制备水凝胶,显著提升了儿茶素的载药量和稳定性。目前,已有关于 pH、温度、蛋白质浓度、离子强度和搅拌速度等对蛋白纤维形成的影响报道^[18-19],但基于酶法制备的蛋白纤维,其影响因素、结构性质和功能特性等尚未见报道。

研究拟采用 Tyr 酶解辅助酸热技术制备 PPF,探讨蛋白质量浓度、Tyr 酶活、加热时间、加热温度对 PPF 荧光强度的影响,通过红外光谱、荧光光谱、表面疏水性等分析 PPF 的结构性质,并利用包封率和装载量、热稳定性和抗氧化性分析 PPF-Cur 的功能特性变化,为蛋白纤维在功能性食品领域的进一步应用提供依据。

1 试剂与方法

1.1 材料与试剂

马铃薯分离蛋白:蛋白含量(82.32±4.96)%,西安普瑞斯生物公司;

胰蛋白酶(Tyr):250 U/mg,北京索莱宝科技有限公司;

一级大豆油:中粮福临门食品有限公司;

Tris、8-苯胺基-1-萘磺酸铵盐(ANS)、SDS、K₂S₂O₈、2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐(ABTS⁺)、姜黄素等:生工生物工程上海股份有限公司;

DPPH、硫磺素 T(Th T):梯希爱化成工业发展有限公司;

其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

透射电镜:Hitachi HT-7800 型,日本日立公司;

冷冻离心机:5810R 型,德国艾本德公司;

高速均质机:T25 型,德国 IKA 公司;

荧光分光光度计:F-7000 型,日本日立公司;

紫外分光光度计:UV-2600 型,日本岛津公司;

红外光谱仪:Nicolet iS5 型,美国赛默飞公司;

酸度计:PHS-3C 型,上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 PPF 的制备条件 根据文献[20]并修改。将 PPI 分散于 50 mmol/L 的 Tris-HCl 溶液(pH 8.0)中,搅拌 2 h,9 000 r/min 离心 20 min。Tyr 酶解后调 pH 至 2.0 终止反应。固定其他条件,分别考察蛋白质量浓度(5,10,20,30,40 mg/mL)、Tyr 酶活(0,500,1 250,2 000,2 500 U/mL)、加热温度(20,30,40,50,60 °C)、加热时间(0,6,12,18,24 h)对 PPF 荧光强度的影响。

1.3.2 Th T 荧光强度测定 根据文献[21]并修改。0.8 mg/mL Th T 溶液过 0.22 μ m 滤膜后稀释 50 倍。各取 400 μ L PPI 和 PPF,分别加入 4 mL Th T 工作液,混匀,于 λ_{ex} =460 nm、 λ_{em} =490 nm 下测定荧光强度。

1.3.3 透射电镜分析 采用醋酸双氧钼负染色法和透射电镜测定。

1.3.4 表面疏水性测定 根据文献[22]并修改。分别取质量浓度为 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mg/mL 的 PPI 和 PPF 各 4 mL,加入 20 μ L 浓度为 8 mmol/L 的 ANS,混匀 15 min,于 λ_{ex} =390 nm、 λ_{em} =470 nm 处测定荧光强度。以荧光强

度为纵坐标,质量浓度为横坐标,曲线拟合斜率为表面疏水性值。

1.3.5 红外光谱分析 间隔 1 cm^{-1} 扫描 PPI 和 PPF 红外光谱,并利用 PeakFit 4.12 软件对酰胺 I 带 ($1\ 700\sim 1\ 600\text{ cm}^{-1}$) 进行基线校正、Gaussian 去卷积和二阶导数拟合,调节至 $R^2 > 0.99$,识别各峰后根据面积计算获得 PPI 和 PPF 二级结构含量。

1.3.6 荧光光谱分析 PPI 和 PPF 各 3 mL,于激发波长 280 nm,300~500 nm 范围内测定荧光光谱,分析其空间构象变化。

1.3.7 乳化性 (EAI) 和乳化稳定性 (ESI) 测定 取 20 mg/mL 的 PPI 和 PPF 各 12 mL,分别加入 3 mL 大豆油,12 000 r/min 分散 3 min,立即取 40 μL ,分别加入 0.1% SDS 溶液 5 mL,混匀,分别于静置 5,10,15,30,45,60 min 时,测定 500 nm 处吸光值。按式(1)、式(2)计算乳化性和乳化稳定性。

$$\text{EAI} = \frac{2 \times 2.303}{c \times (1 - \varphi) \times 10^4} \times A_{500\text{ nm}} \times D, \quad (1)$$

$$\text{ESI} = \frac{A_t}{A_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

EAI——乳化性, m^2/g ;

ESI——乳化稳定性, %;

$A_{500\text{ nm}}$ ——500 nm 处吸光值;

c ——蛋白质质量浓度, mg/mL ;

φ ——大豆油体积分数, 1/5;

D ——稀释倍数;

A_0, A_t ——0, t min 时吸光值。

1.3.8 起泡性和泡沫稳定性测定 利用 0.01 mol/L、pH 7.0 的 PBS,将蛋白质质量浓度稀释至 10 mg/mL,15 000 r/min 均质 3 min,分别静置 0,10,20,30,60,90,120 min 时测定样液体积,并按式(3)、式(4)计算起泡性和泡沫稳定性。

$$F_c = \frac{V_0}{V_t} \times 100\%, \quad (3)$$

$$F_s = \frac{V_t}{V_0} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

F_c ——起泡性, %。

F_s ——泡沫稳定性, %。

V_0, V_t ——0, t min 时泡沫体积, mL;

V_t ——最初体积, mL。

1.3.9 包封率 (EE) 和装载量 (LA) 测定 根据文献[23]并修改。蛋白质质量浓度 5 mg/mL,乙醇体积分数 2%,Cur 质量浓度分别为 20,40,60,80,100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。PPF-Cur 于 120 r/min 暗处振荡 6 h,10 000 r/min 离心 30 min,除沉淀

和未包埋 Cur 后,按式(5)计算包封率。取 1 mL PPF-Cur 复合物,加入 4 mL 乙醇,混匀,3 000 r/min 离心,于 305 nm 测定上清液吸光值,按式(6)计算装载量。

$$\text{EE} = \frac{A - B}{A} \times 100\%, \quad (5)$$

$$\text{LA} = \frac{C}{D}, \quad (6)$$

式中:

EE——包封率, %;

LA——装载量, $\mu\text{g}/\text{mL}$;

A ——总 Cur 质量浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$;

B ——游离 Cur 质量浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$;

C ——Cur 装载量, μg ;

D ——PPF 总质量, mg。

1.3.10 热稳定性分析 将 Cur、PPF-Cur 分别于 80 $^{\circ}\text{C}$ 处理 0,10,30,60,90,120 min,测定 305 nm 处吸光值,分析 Cur 保留率随时间的变化。

1.3.11 抗氧化性测定

(1) DPPH 自由基清除率:根据文献[24]并修改。向 PPF-Cur 中加入 0.1 mmol/L DPPH 溶液 2 mL,使 Cur 终质量浓度分别为 20,40,60,80,100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。以等体积的 DPPH 和乙醇为对照,测定 517 nm 处吸光值,按式(7)计算 DPPH 自由基清除率。

$$R = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%, \quad (7)$$

式中:

R ——自由基清除率, %;

A_c ——对照组吸光度;

A_s ——样品组吸光度。

(2) ABTS⁺ 自由基清除率:将 7.0 mmol/L ABTS⁺ 与 4.9 mmol/L K₂S₂O₈ 等体积混合,避光反应 12 h。利用 0.01 mol/L、pH 7.0 PBS 将溶液稀释至 $\text{OD}_{734\text{ nm}} \approx (0.70 \pm 0.02)$ 。将 PPF-Cur 与 3 mL ABTS⁺ 溶液混匀,使 Cur 终质量浓度分别为 20,40,60,80,100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,反应 6 min,测定 734 nm 处吸光值,并按式(7)计算 ABTS⁺ 自由基清除率。

1.4 数据分析

采用 Origin 2022 软件作图,结果以平均值 \pm 标准差表示,利用 SPSS 27 软件中 Tukey 模块进行差异分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与讨论

2.1 PPF 的制备条件

2.1.1 蛋白质质量浓度和加热时间对 PPF 荧光强度的影响 由图 1 可知,当蛋白质质量浓度为 5~10 mg/mL 时,PPF 荧光强度较低,且在 0~24 h 内逐渐增加。当蛋白质质量浓度为 20~40 mg/mL 时,初始 12 h 内 PPF 荧光强度显著增加 ($P < 0.05$),表明 PPF 纤维化过程需要其蛋白质质量浓度达

到纤维化临界浓度以上。12 h后,PPF荧光强度呈先降低后增加趋势,可能是长时间加热导致部分PPF被破坏^[25]。初始加热时,PPF荧光强度增加不明显,为缓慢成核的迟滞期,随后荧光强度明显增加,PPF快速转化为小肽段寡聚体而进入成核期,最后达到平衡状态而进入成熟期^[26]。加热时间对PPF荧光强度的影响呈波动趋势,与Ferrone等^[27]的研究结果一致。随着蛋白质质量浓度和加热时间的增加,PPF荧光强度整体呈增加趋势,此时肽链单体间相互作用得以增强,有利于晶核形成及单体与晶核间的碰撞,与Liu等^[28]的结论一致。

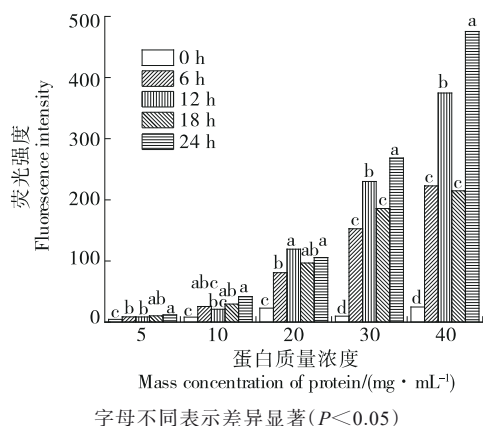
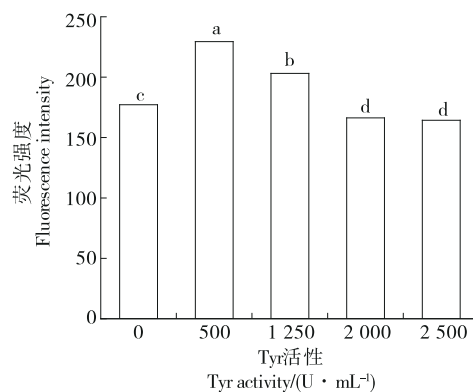


图1 蛋白质质量浓度和加热时间对PPF荧光强度的影响
Figure 1 Effects of protein concentration and heating time on fluorescence intensity of PPF

2.1.2 Tyr酶活对PPF荧光强度的影响 由图2可知,当Tyr酶活为0~500 U/mL时,PPF荧光强度显著增加($P < 0.05$);当Tyr酶活为500~2 000 U/mL时,PPF荧光强度先降低后趋于稳定。这可能是Tyr酶解先促使多肽链聚集形成不规则纤维状,随后疏水基团暴露在蛋白纤维外部,因而荧光强度不断增加。当Tyr酶活进一步增加时,部分不稳定的蛋白纤维单体将卷曲形成大小不一的聚集体,疏水基团重新被包裹在PPF内部,因而荧光强度降低^[29]。综上,随着Tyr酶活的增加,PPF荧光强度呈先增加后降低趋势。

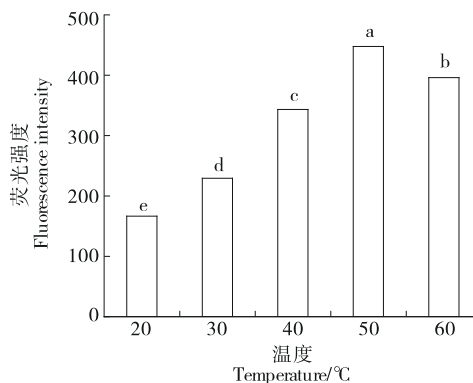
2.1.3 加热温度对PPF荧光强度的影响 由图3可知,当加热温度为20~50 °C时,随着加热温度的增加,PPF荧光强度显著增加($P < 0.05$),原因是随着加热温度的升高,维持PPF结构的疏水相互作用、离子键、氢键等作用力逐渐被破坏,同时PPF水合作用不断增强,因而加速了蛋白纤维聚集体的形成进程。当加热温度 > 50 °C时,PPF荧光强度显著降低($P < 0.05$),表明长时间加热将破坏部分PPF甚至生成团聚体^[30]。植物蛋白纤维化自组装温度应高于其变性温度,一般在60 °C以上,但试验结果表明PPF纤维化程度约为50 °C,表明Tyr酶解有助于降低蛋白纤维化自



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)
图2 Tyr酶活对PPF荧光强度的影响

Figure 2 Effects of Tyr enzyme activity on fluorescence intensity of PPF

组装温度。故在其他条件不变情况下,需要控制加热温度和加热时间以诱导形成蛋白纤维。综上,随着加热温度的增加,PPF荧光强度呈先增加后降低趋势。



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)
图3 加热温度对PPF荧光强度的影响

Figure 3 Effect of heating temperature on fluorescence intensity of PPF

2.1.4 透射电镜分析 由图4可知,随着酸热处理时间的延长,蛋白纤维形态发生不同程度变化。未进行酸热处理时,PPF呈球形聚集体,可能与前期Tyr酶解有关;酸热处理3 h后,球形蛋白粒径减小,逐渐转变为半柔性纤维且相互卷曲缠绕;酸热处理6 h后,PPF长度增加且出现不规则聚集体或成束状,是因为PPF表面电荷密度低有利于多肽链间的相互吸引,从而加速了聚集过程。长时间酸热处理会产生大量和更长的蠕虫状纤维结构,其长度最大可达100 nm以上。因此,后续试验选择酸热处理12 h后的PPF作为研究对象。

2.2 PPF的结构性质

2.2.1 红外光谱 蛋白质的红外光谱由9个酰胺带组成,

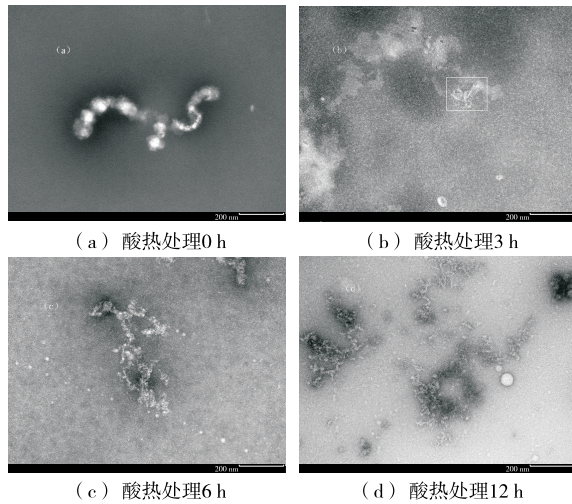


图 4 PPF 透射电镜
Figure 4 TEM of PPF

其中,酰胺 I 带($1\ 700\sim 1\ 600\text{ cm}^{-1}$)对测定蛋白质二级结构具有重要意义。酰胺 I 带归属为 C=O 伸缩振动、N—H 弯曲振动和 C=N 伸缩振动。 $1\ 650\sim 1\ 660\text{ cm}^{-1}$ 为 α -螺旋特征峰, $1\ 600\sim 1\ 640\text{ cm}^{-1}$ 为 β -折叠特征峰; $1\ 660\sim 1\ 700\text{ cm}^{-1}$ 为 β -转角特征峰, $1\ 640\sim 1\ 650\text{ cm}^{-1}$ 为无规卷曲特征峰^[31]。由图 5 可知,与 PPI 相比,PPF 的酰胺 I 带向低波长轻微移动,表明 PPF 纤维化过程伴随着二级结构单元比例的改变。由表 1 可知,PPF 中 β -折叠和 α -螺旋含量高于 PPI,分别为 32.29%,25.87%,无规卷曲含量则明显下降,表明 PPF 纤维化过程中氢键遭到不同程度破坏,二级结构单元间发生相互转化,且主要由无规卷曲转化为 β -折叠和 α -螺旋^[32]。 α -螺旋含量增加,是因为 Tyr 酶解生成的 Lys 和 Arg 均为极性氨基酸,而极性氨基酸可增加 α -螺旋含量^[33]。

2.2.2 荧光光谱 蛋白质的荧光特性主要归因于 Trp 和 Tyr 残基。一般而言,Tyr 荧光峰应在 304 nm 附近,Trp 荧光峰在 348 nm 附近。由图 6 可知,PPI 和 PPF 分别在 309,

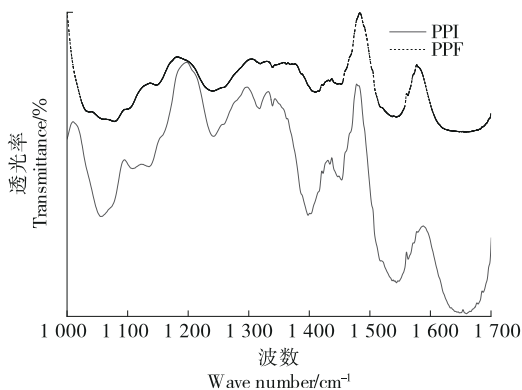


图 5 PPI 和 PPF 的红外光谱

Figure 5 Infrared spectroscopy of PPI and PPF

表 1 蛋白二级结构含量

组别	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规卷曲
PPI	22.53	28.12	25.34	24.01
PPF	25.87	32.29	26.81	15.02

310 nm 附近出现 Tyr 荧光峰,在 356,359 nm 附近出现 Trp 荧光峰,这是由于试验溶剂体系不同所致。与 PPI 相比,PPF 的 Tyr、Trp 荧光峰均发生红移,与 Yu 等^[34]的结果一致。Trp 红移更加明显,表明 PPF 纤维化过程伴随着空间构象的高度伸展,同时 Trp 残基对微环境更敏感且更亲水。PPF 荧光强度高于 PPI,与 Mohammadian 等^[35]的研究结果一致。

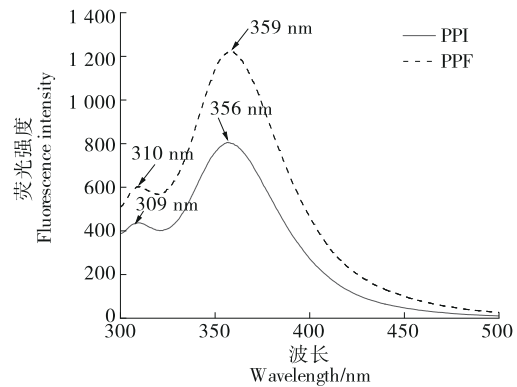
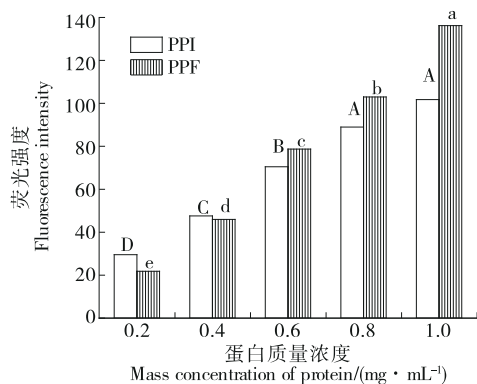


图 6 PPI 和 PPF 的荧光光谱

Figure 6 Fluorescence spectroscopy of PPI and PPF

2.2.3 表面疏水性 由图 7 可知,当蛋白质量浓度为 0.2~0.8 mg/mL 时,PPI 和 PPF 荧光强度均随蛋白质量浓度的增加而增大。当蛋白质量浓度为 0.2~0.4 mg/mL 时,PPI 的表面疏水性高于 PPF;随后 PPF 的表面疏水性高于 PPI,表明高蛋白浓度有助于诱导 Tyr 酶解产生更多的疏水基团,从而导致表面疏水性增加。Munialo 等^[36]研究表明,豌豆蛋白水解肽具有较高的表面疏水性和 β -折叠能力,在热处理条件下能够组装形成纳米纤维结构。Fan 等^[37]研究表明,乳清蛋白纳米纤维的表面疏水性显著高于乳清蛋白。综上,高蛋白浓度有助于增强 PPF 的荧光强度。

2.2.4 乳化性和乳化稳定性 经计算,PPI 和 PPF 的乳化性分别为 (8.95 ± 0.44) , $(6.98\pm 0.22)\text{ m}^2/\text{g}$,PPF 的乳化性低于 PPI ($P<0.05$),可能是 PPF 具有更高的长宽比和表面活性,以及较低的界面张力^[38]。由图 8 可知,PPI 的乳化稳定性在 0~60 min 显著降低 ($P<0.05$);PPF 的乳化稳定性在 5~10 min 显著降低 ($P<0.05$),随后逐渐降低,30 min 后显著降低 ($P<0.05$);两者的乳化稳定性变化趋势一致。5~15 min 时,PPF 的乳化稳定性低于 PPI;30~60 min 时,

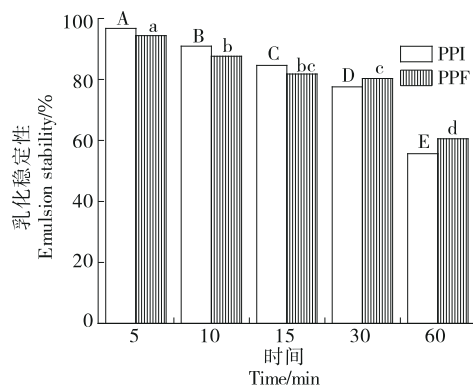


字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图7 表面疏水性

Figure 7 Surface hydrophobicity of PPI and PPF

PPF的乳化稳定性高于PPI;结合表面疏水性结果,可认为表面疏水性较高的PPF能吸附在油水界面并降低张力,形成黏弹性界面,延缓乳液的失稳分层^[39]。因此,Tyr酶解制备PPF用作乳化稳定剂时,需要控制在一定时间范围内。

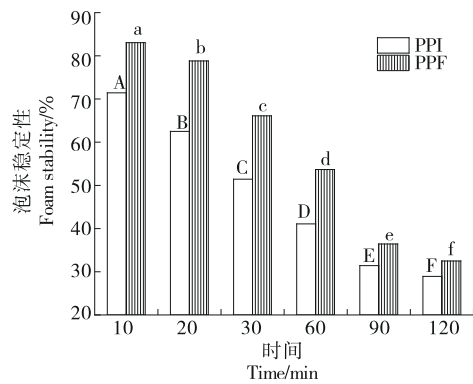


字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图8 乳化稳定性

Figure 8 Emulsion stability of PPI and PPF

2.2.5 起泡性和泡沫稳定性 经计算,PPI和PPF的起泡性分别为 $(62.22 \pm 0.38)\%$ 和 $(78.67 \pm 0.67)\%$,PPF的起泡性显著高于PPI ($P < 0.05$),表明Tyr酶解有助于促进PPF在界面快速吸附而形成高黏弹性、高稳定性界面膜,因而泡沫稳定性较好,与Herneke^[40]的研究结果一致。由图9可知,10~120 min时,PPI和PPF的泡沫稳定性均随着时间的延长显著降低 ($P < 0.05$),且PPF的泡沫稳定性高于PPI,与Foegeding等^[41]的结论一致。静置60 min时,PPF的泡沫稳定性为PPI的1.31倍,表明PPF适宜用作起泡剂和泡沫稳定剂。这可能是部分不溶性PPF粒子的吸附改善了蛋白质膜的黏性,形成了高弹性界面,因而增加了泡沫稳定性^[42],也可能与Tyr酶解产生的PPF具有更高的表面疏水性区域有关^[43]。



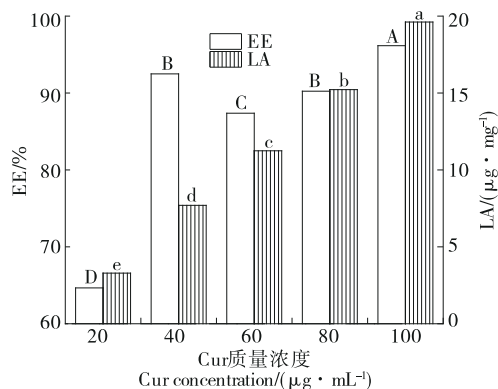
字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图9 泡沫稳定性

Figure 9 Foam stability of PPI and PPF

2.3 PPF-Cur的功能特性

2.3.1 包封率和装载量 由图10可知,PPF由于具有较高的比表面积和一定的环境耐受性,可用于包埋和递送小分子活性化合物。Cur的标准曲线方程为 $Y = 0.1985X - 0.0103$, $R^2 = 0.994$ 。当Cur质量浓度为20~60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,包封率先增加后降低 ($P < 0.05$),随后呈显著增加趋势 ($P < 0.05$),表明PPF对Cur的包埋能力受Cur质量浓度的影响。当Cur质量浓度为20~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,包封率由 $(64.66 \pm 0.25)\%$ 增至 $(96.16 \pm 0.20)\%$,装载量由 $(3.25 \pm 0.01) \mu\text{g}/\text{mg}$ 增至 $(19.62 \pm 0.02) \mu\text{g}/\text{mg}$ ($P < 0.05$)。综上,PPF-Cur的包封率和装载量几乎随Cur质量浓度的增加而增强,表明PPF适合包埋和载运Cur类疏水性活性化合物。



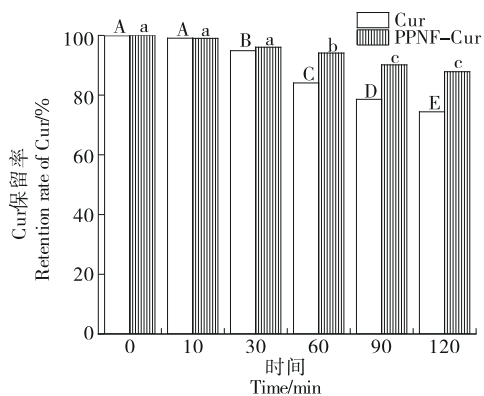
字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图10 PPF对Cur的EE和LA

Figure 10 Encapsulation rate and loading capacity of Cur by PPF

2.3.2 热稳定性 由图11可知,0~10 min,游离Cur的保留率几乎不受热影响 ($P > 0.05$)。10~120 min,游离Cur的保留率呈显著降低 ($P < 0.05$),120 min时保留率为

(74.40±0.32)%,降低了 25.52%。0~30 min, PPF-Cur 的保留率受热影响不明显; 30~90 min, 保留率显著下降 ($P<0.05$) 并趋于稳定; 120 min 时保留率为 (87.83±0.61)%, 降低了 12.17%, 表明 PPF 适合用作 Cur 类活性化合物的热稳定剂。0~120 min, PPF-Cur 的保留率均高于 Cur, 可能是 Tyr 促使部分功能基团暴露在 PPF 分子表面后与 Cur 发生相互作用, 从而保护热诱导对 Cur 的破坏作用^[44], 同时 PPF 纤维化结构也具有一定的热抵抗力。综上所述, PPF 有助于增强 Cur 的热稳定性。



字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)

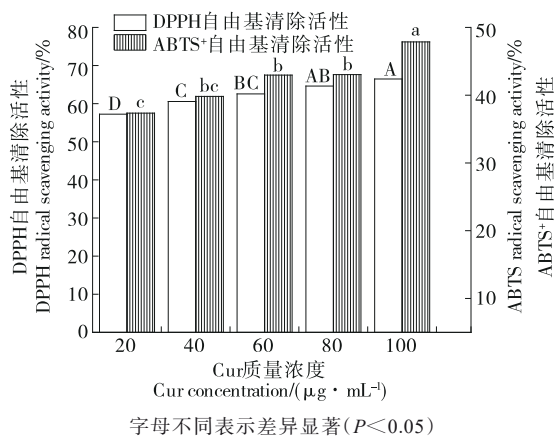
图 11 PPF-Cur 的热稳定性

Figure 11 Thermal stability of PPF-Cur

2.3.3 抗氧化性 由图 12 可知, PPF-Cur 对 DPPH 自由基清除活性在 Cur 质量浓度为 20~40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时显著增加 ($P<0.05$), 在 40~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时缓慢增加, 最大 DPPH 自由基清除率达 66.46%, 可能是 PPF 纤维化过程会暴露具有还原性的 Tyr、Phe 和 Trp 等残基^[45], 这些残基可通过 H^+ 重新激活 Cur 活性^[46]。PPF-Cur 对 ABTS^+ 自由基清除活性在 Cur 质量浓度为 20~80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时逐渐增强, 随后显著增加 ($P<0.05$), 最大的 ABTS^+ 自由基清除率为 47.87%。PPF-Cur 对 DPPH 自由基、 ABTS^+ 自由基的清除作用均随 Cur 质量浓度的增加逐渐增强, 表明 PPF 适合作为 Cur 递送体而用于食品工业领域。

3 结论

采用胰蛋白酶酶解辅助酸热诱导技术制备马铃薯蛋白纤维, 并分析其结构性质和功能特性。结果表明, 蛋白浓度、加热时间、胰蛋白酶酶活、加热温度均可不同程度影响马铃薯蛋白纤维荧光强度。其中, 马铃薯蛋白纤维荧光强度随蛋白质质量浓度的增加而增大, 随胰蛋白酶酶活或加热温度的增加先增加后降低。通过胰蛋白酶酶解辅助酸热制备马铃薯蛋白纤维, 该过程不仅伴随着空间构象的高度伸展和疏水基团外露, 也可促进无规卷曲向 β -折叠、 α -螺旋转化, 有效改善马铃薯蛋白纤维



字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)

图 12 PPF-Cur 的抗氧化性

Figure 12 Antioxidant properties of PPF-Cur

的起泡性和泡沫稳定性, 但对乳化性和乳化稳定性的影响不显著。马铃薯蛋白纤维可通过增强表面疏水性实现对姜黄素的高效包埋和优良负载, 并增强姜黄素在递送过程中的热稳定性和抗氧化性。后续可进一步拓展食品蛋白纤维制备新技术, 探求如何改善其功能特性并深入研究其在细胞内的载运能力和最终趋势等内容。

参考文献

- [1] 操义平, 方亚鹏. 淀粉样蛋白纤维作为食品配料的研究进展与思考[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(1): 46-54.
- [2] CAO Y P, FANG Y P. Research progress on amyloid fibrils as food ingredients[J]. China Food Additives, 2023, 34(1): 46-54.
- [3] HERNEKE A, LENDEL C, KARKEHABADI S, et al. Protein nanofibrils from fava bean and its major storage proteins: formation and ability to generate and stabilise foams[J]. Foods, 2023, 12(3): 521.
- [4] XU D, ZHOU J T, SOON W L, et al. Food amyloid fibrils are safe nutrition ingredients based on in-vitro and in-vivo assessment[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 6 806.
- [5] 郑为君, 张玲莺, 陈星. 可持续蛋白纳米纤维及其功能因子递送研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(15): 320-325.
- [6] ZHENG W J, ZHANG L Y, CHEN X. Research progress on sustainable protein nanofibers and their delivery of functional nutrients[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(15): 320-325.
- [7] 单冠程, 李梦竹, 徐泽健, 等. 食源性蛋白淀粉样纤维及其在食品中的应用研究进展[J]. 未来食品科学, 2021(2): 39-52.
- [8] SHAN G C, LI M Z, XU Z J, et al. Recent progress of food amyloid fibrils applications in food[J]. Future Food Science, 2021(2): 39-52.
- [9] 张丽娜, 殷静霖, 熊舟翼, 等. 食源性蛋白质淀粉样纤维的研究进展[J]. 中国调味品, 2022, 47(11): 195-199, 220.
- [10] ZHANG L N, YIN J L, XIONG Z Y, et al. Research progress of

- foodborne protein amyloid fibrils[J]. *China Condiment*, 2022, 47(11): 195-199, 220.
- [7] RAHMAN M M, PIRES R S, HERNEKE A, et al. Food protein-derived amyloids do not accelerate amyloid β aggregation[J]. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 985.
- [8] CAO Y P, MEZZENGA R. Food protein amyloid fibrils: origin, structure, formation, characterization, applications and health implications[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2019, 269: 334-356.
- [9] MENG Y, WEI Z H, XUE C H. Protein fibrils from different food sources: a review of fibrillation conditions, properties, applications and research trends[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 121: 59-75.
- [10] 王玉翔, 郑召君, 刘元法. 植物蛋白纤维制备技术及其在食品领域的应用[J]. *食品科学*, 2023, 44(17): 286-293.
WANG Y X, ZHENG Z J, LIU Y F. Preparation of plant protein fiber and its application in the food field: a review of recent research[J]. *Food Science*, 2023, 44(17): 286-293.
- [11] 李晨, 高柳芳, 崔晓东, 等. 草鱼胰蛋白酶的亲和纯化及酶学性质[J]. *食品科学*, 2021, 42(10): 178-183.
LI C, GAO L F, CUI X D, et al. Affinity chromatographic purification and enzymatic characterization of trypsin from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Food Science*, 2021, 42(10): 178-183.
- [12] MONGE-MORERA M, LAMBRECHT M A, DELEU L J, et al. Heating wheat gluten promotes the formation of amyloid-like fibrils[J]. *ACS Omega*, 2021, 6(3): 1 823-1 833.
- [13] MONGE-MORERA M, LAMBRECHT M A, DELEU L J, et al. Processing induced changes in food proteins: amyloid formation during boiling of hen egg white[J]. *Biomacromolecules*, 2020, 21(6): 2 218-2 228.
- [14] JOSEFSSON L, YE X C, BRETT C J, et al. Potato protein nanofibrils produced from a starch industry sidestream[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2020, 8(2): 1 058-1 067.
- [15] ZHENG B J, PENG S F, ZHANG X Y, et al. Impact of delivery system type on curcumin bioaccessibility: comparison of curcumin-loaded nanoemulsions with commercial curcumin supplements[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(41): 10 816-10 826.
- [16] YANG N, LI J, ZHANG B, et al. Interfacial properties of protein nanofibrils with different morphology prepared using aqueous solvent with ethanol: Part I. preparation and characterization[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 142: 108754.
- [17] HU B, YU S J, SHI C, et al. Amyloid-polyphenol hybrid nanofilaments mitigate colitis and regulate gut microbial dysbiosis[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(3): 2 760-2 776.
- [18] MOAYEDZADEH S, MADADLOU A, KHOSROSHAHI ASL A. Formation mechanisms, handling and digestibility of food protein nanofibrils[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2015, 45(1): 50-59.
- [19] HERNEKE A, KARKEHABADI S, LU J, et al. Protein nanofibrils from mung bean: the effect of pH on morphology and the ability to form and stabilise foams[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 136: 108315.
- [20] 李璇, 单杰, 冯志彪, 等. 酶法水解乳清分离蛋白制备纳米纤维[J]. *食品科学*, 2017, 38(13): 118-124.
LI X, SHAN J, FENG Z B, et al. Preparation of nanofibrils by enzymatic hydrolysis of whey protein isolate[J]. *Food Science*, 2017, 38(13): 118-124.
- [21] FENG Z B, WU G X, LIU C H, et al. Edible coating based on whey protein isolate nanofibrils for antioxidation and inhibition of product browning[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 79: 179-188.
- [22] 程闻, 徐红华, 董世荣, 等. WPC纳米纤维聚合物体外消化性能的研究[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(15): 116-120.
CHENG W, XU H H, DONG S R, et al. Digestion properties of WPC nano-fibril aggregates in vitro[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(15): 116-120.
- [23] FAN Y T, ZENG X X, YI J, et al. Fabrication of pea protein nanoparticles with calcium-induced cross-linking for the stabilization and delivery of antioxidative resveratrol[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 152: 189-198.
- [24] YI J, LAM T I, YOKOYAMA W, et al. Beta-carotene encapsulated in food protein nanoparticles reduces peroxy radical oxidation in Caco-2 cells[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 43: 31-40.
- [25] 王欣. 核诱导乳清浓缩蛋白纤维聚合物乳化性的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019: 15-16.
WANG X. Study on the emulsifying properties of nuclei induced fibril polymer of whey protein concentrate[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019: 15-16.
- [26] 唐紫薇, 明雨, 赵欣欣, 等. 植物源蛋白质纤维化自组装研究进展[J]. *中国食品学报*, 2024, 24(6): 423-433.
TANG Z W, MING Y, ZHAO X X, et al. Research progress on fibrotic self-assembly of plant protein resource[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2024, 24(6): 423-433.
- [27] FERRONE F A, HOFRICHTER J, EATON W A. Kinetics of sickle hemoglobin polymerization I. studies using temperature-jump and laser photolysis techniques[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1985, 183(4): 591-610.
- [28] LIU J, TANG C H. Heat-induced fibril assembly of vicilin at pH 2.0: reaction kinetics, influence of ionic strength and protein concentration, and molecular mechanism[J]. *Food Research International*, 2013, 51(2): 621-632.
- [29] ROBERTSON A G. Formation and characterization of nanofibrils from peanut protein[D]. Athens: University of

- Georgia, 2019: 20-22.
- [30] MOHAMMADIAN M, SALAMI M, MOMEN S, et al. Enhancing the aqueous solubility of curcumin at acidic condition through the complexation with whey protein nanofibrils[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 87: 902-914.
- [31] HE S D, SHI J, WALID E, et al. Reverse micellar extraction of lectin from black turtle bean (*Phaseolus vulgaris*): optimisation of extraction conditions by response surface methodology[J]. *Food Chemistry*, 2015, 166: 93-100.
- [32] WANG Y L, YANG J J, DAI S C, et al. Formation of soybean protein isolate-hawthorn flavonoids non-covalent complexes: linking the physicochemical properties and emulsifying properties[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 84: 105961.
- [33] 吴艳妮. 酶解乳清分离蛋白自组装及电纺成纳米纤维膜应用初探[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2023: 25-29.
WU Y N. Preliminary exploration of self-assembly and electrospinning of enzymatic whey protein isolate into nanofibers film[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2023: 25-29.
- [34] YU Z C, LI N, LIU Y A, et al. Formation, structure and functional characteristics of amyloid fibrils formed based on soy protein isolates[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 254: 127956.
- [35] MOHAMMADIAN M, MADADLOU A. Technological functionality and biological properties of food protein nanofibrils formed by heating at acidic condition[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 75: 115-128.
- [36] MUNIALO C D, MARTIN A H, VAN DER L E, et al. Fibril formation from pea protein and subsequent gel formation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(11): 2418-2427.
- [37] FAN Y T, PENG G F, PANG X, et al. Physicochemical, emulsifying, and interfacial properties of different whey protein aggregates obtained by thermal treatment[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 149: 111904.
- [38] REGESTER G O, PEARCE R J, LEE V W, et al. Heat-related changes to the hydrophobicity of cheese whey correlate with levels of native beta-lactoglobulin and alpha-lactalbumin[J]. *Journal of Dairy Research*, 1992, 59(4): 527-532.
- [39] GAO Z M, HUANG Y, ZHAO J J, et al. Edible Pickering emulsion stabilized by protein fibrils: part 2. effect of dipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC) [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 71: 245-251.
- [40] HERNEKE A. Plant protein nanofibrils: characterising properties for future food[J]. *Foods*, 2022, 10(8): 1967.
- [41] FOEGEDING E A, LUCK P J, DAVIS J P. Factors determining the physical properties of protein foams[J]. *Food Hydrocolloids*, 2006, 20(2/3): 284-292.
- [42] 赵新淮, 徐红华, 姜毓君. 食品蛋白质: 结构、性质与功能[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 329-332.
ZHAO X H, XU H H, JIANG Y J. Food proteins: structure, properties, and functions[M]. Beijing: Science Press, 2009: 329-332.
- [43] PI J Z, WANG J, LV J R, et al. Modification of ovalbumin by the enzymatic method: consequences for foaming characteristics of fibrils[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 139: 108492.
- [44] YI J, HE Q Y, PENG G F, et al. Improved water solubility, chemical stability, antioxidant and anticancer activity of resveratrol *via* nanoencapsulation with pea protein nanofibrils [J]. *Food Chemistry*, 2022, 377: 131942.
- [45] 郎镇岭, 庄洁, 卢宏政, 等. 食品蛋白纤维的研究进展及功能应用[J]. *食品工业科技*, 2025, 46(2): 385-393.
LANG Z L, ZHUANG J, LU H Z, et al. Research progress and functional applications of food protein fibrils[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2025, 46(2): 385-393.
- [46] ZHANG C, FU Y Y, LI Z Y, et al. Application of whey protein isolate fibrils in encapsulation and protection of β -carotene[J]. *Food Chemistry*, 2021, 346: 128963.