

大豆亲脂蛋白糖基化改性工艺优化及功能特性研究

周向辉¹ 刘 昶² 孟高歌³ 原广遥³ 张秋会³ 张永胜⁴

(1. 商丘职业技术学院食品工程学院, 河南 商丘 476000; 2. 长垣烹饪职业技术学院, 河南 长垣 453400;
3. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南 郑州 450002; 4. 河南富莱沃生物科技有限公司, 河南 郑州 450002)

摘要: [目的] 改善大豆亲脂蛋白的乳化稳定性, 拓宽其在功能性食品领域中的应用范围。[方法] 基于糖基化反应, 以接枝度、乳化稳定性为评价指标优化葡萄糖糖基化改性的工艺条件。同时, 采用 SDS-PAGE、粒度、FTIR、发泡稳定性、表面疏水性、保油性等方法, 对糖基化蛋白的结构和功能进行表征。[结果] 糖基化最佳处理条件为 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 为 1:1, 处理时间 2 h, 处理温度 75 °C, pH 8。糖基化处理未改变大豆亲脂蛋白的一级结构, α -螺旋和 β -折叠结构有所降低, 红外吸收峰值右移, 紫外吸收峰值降低, 糖基化处理显著降低了蛋白质表面疏水性, 同时显著提升了发泡稳定性、乳化稳定性和保油性。[结论] 在适宜条件下, 大豆亲脂蛋白的糖基化改性可以显著提升其乳化稳定性。

关键词: 大豆亲脂蛋白; 糖基化改性; 乳化稳定性; 接枝度

Optimization of glycosylation modification and functional properties of soybean lipophilic proteins

Zhou Xianghui¹ Liu Chang² Meng Gaoge³ Yuan Guangyao³ Zhang Qiuhui³ Zhang Yongsheng⁴

(1. Department of Food Engineering, Shangqiu Polytechnic, Shangqiu, Henan 476000, China;
2. Changyuan Culinary Technology College, Changyuan, Henan 453400, China;
3. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China;
4. Henan Fulaiwo Biotechnology Co., Ltd., Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract: [Objective] To improve the emulsifying stability of soybean lipophilic proteins and broaden their application in the field of functional foods. [Methods] Based on the glycosylation reaction, the processing conditions for glucose-mediated glycosylation modification were optimized using grafting degree and emulsifying stability as evaluation indices. Meanwhile, the structure and functional properties of the glycosylated proteins were characterized by SDS-PAGE, particle size analysis, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), foaming stability, surface hydrophobicity, and oil-holding capacity. [Results] The optimal glycosylation conditions were a protein-to-glucose mass ratio ($m_{\text{protein}}:m_{\text{glucose}}$) of 1:1, a treatment time of 2 h, a temperature of 75 °C, and pH 8. Glycosylation did not alter the primary structure of soybean lipophilic proteins; however, the contents of α -helix and β -sheet structures decreased. The infrared absorption peaks shifted to higher wavenumbers, and the ultraviolet absorption intensity decreased. Glycosylation significantly reduced protein surface hydrophobicity, while significantly enhancing foaming stability, emulsifying stability, and oil-holding capacity. [Conclusion] Under appropriate conditions, glycosylation modification of soybean lipophilic proteins can significantly improve their emulsifying stability.

基金项目: 河南省科技攻关项目(编号:242102110122); 河南省教育厅重点研究项目(编号:23B550004); 河南农业大学科技创新基金项目(编号:202035)

通信作者: 张秋会(1978—), 女, 河南农业大学教授, 博士。E-mail: zhang-qiuhui@163.com

收稿日期: 2025-10-15 **改回日期:** 2026-04-23

引用格式: 周向辉, 刘昶, 孟高歌, 等. 大豆亲脂蛋白糖基化改性工艺优化及功能特性研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(9): 180-188.

Citation: Zhou Xianghui, Liu Chang, Meng Gaoge, et al. Optimization of glycosylation modification and functional properties of soybean lipophilic proteins[J]. Food & Machinery, 2026, 42(9): 180-188.

Keywords: soybean lipophilic proteins; glycosylation modification; emulsifying stability; grafting degree

大豆亲脂蛋白(soybean lipophilic protein, SLP)是大豆分离蛋白的组成之一,是大豆球蛋白(11S)和伴大豆球蛋白(7S)在蛋白分离或加工过程中发生蛋白和磷脂结合形成的亲脂蛋白复合物^[1-2],其主要成分为油体蛋白和磷脂。大豆亲脂蛋白对油具有强亲和力,是一种优良的食品乳化剂^[3],但由于包含更多的磷脂成分,呈现出良好的界面特性^[4],同时也因较强的表面疏水性,导致大豆亲脂蛋白形成的乳液在长期贮存中不稳定,限制其在功能性食品中的应用。

张涛等^[5-6]研究表明,改性可以提升蛋白质的功能特性。关于蛋白的改性方式^[7]中,物理改性^[8]的相关影响条件仅在小规模甚至实验室中使用,投入工业生产中仍需要大量数据研究支撑;生物改性同时伴随着不可忽视的副反应^[9-11];化学改性过程中常用的酸有盐酸、硫酸、醋酸、柠檬酸等^[12],在实际工业化生产中会对环境造成极大的破坏^[13]。其中,糖基化改性所需要的糖和蛋白质为食品中的重要组成部分,使用葡萄糖与蛋白质发生糖基化^[14]改性能够改变蛋白质的结构、静电荷和疏水性,改善蛋白质的乳化性和乳化稳定性^[15]。

试验拟对大豆亲脂蛋白进行糖基化改性^[16-17],利用葡萄糖小分子^[18-19]改变大豆亲脂蛋白表面基团的结构,以糖基化接枝度和改性蛋白乳化活性为指标^[20],考察糖基化程度对改善蛋白表面疏水性、乳化稳定性及功能特性的影响,为大豆亲脂蛋白成为稳定乳化剂提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器设备

大豆:北大荒农垦集团有限公司;

十二烷基磺酸钠(SDS):分析纯,北京博奥拓达科技有限公司;

透析袋:8 000~14 000 kDa,北京索莱宝科技有限公司;

葡萄糖、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

电磁搅拌器:78-1型,江苏正基仪器有限公司;

便携式手持 pH 计:PHB-4 型,上海仪电科技股份有限公司;

离心机:Allegra 64R 型,贝克曼库尔特有限公司;

精密鼓风干燥箱:BPG-9156A 型,上海一恒科学仪器有限公司;

循环水式真空泵:SHB-III 型,天津市心雨仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-2600 型,岛津分析仪器有

限责任公司;

冷场发射扫描电子显微镜:S4800 型,日立(中国)有限公司;

冷冻干燥机:LGI-18S 型,北京松源华兴科技发展有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 大豆亲脂蛋白提取 参照李杨等^[2]的方法并修改。取 400 g 大豆磨粉,过 70 目筛,加入 800 mL 正己烷,电动搅拌 1 h 后静置,待大豆粉完全沉降,过滤,70 ℃干燥 2 h,沉淀物即为脱脂大豆粉。

将 20 g 大豆粉与水混合,用 NaOH 调 pH 至 8,搅拌,取 50 mL 混合液,4 ℃、4 000×g 离心 15 min。取上清液加入 10 mmol/L Na₂SO₃,调 pH 至 5.8,4 ℃、4 000×g 离心 15 min。取上清液用稀硫酸调 pH 至 5.0,加入 50 mmol/L NaCl,55 ℃水浴 15 min。用 NaOH 调 pH 至 5.5,4 ℃、4 000×g 离心 15 min,沉淀即为大豆亲脂蛋白,冷冻干燥备用。

1.2.2 单因素试验 固定 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 为 1:1,处理温度 70 ℃,处理时间 2 h,pH 为 7。分别考察 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ (4:1,2:1,1:1,1:2,1:4)、处理温度(40,50,60,70,80,90 ℃),处理时间(0,1,2,3,4,5,6 h),pH 值(6,7,8,9,10)对蛋白质乳化活性和接枝度的影响。

1.2.3 正交试验 在单因素试验基础上,以蛋白质乳化活性和接枝度为指标,以 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 、处理温度、处理时间和 pH 值为因素进行四因素三水平正交试验设计,优化大豆亲脂蛋白糖基化反应条件。

1.2.4 接枝度测定 参照 Liu 等^[21]的方法,按式(1)计算接枝度。

$$DG = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

DG——接枝度,%;

A_c ——添加蛋白样液吸光度;

A_s ——空白样液吸光度。

1.2.5 乳化活性测定 参照 Mu 等^[22]的方法并修改。取 3 mL 蛋白溶液(20 mg/mL),加入 1 mL 葵花籽油,8 000 r/min 高速分散,从底部取 50 μL 加入 5 mL 0.1% SDS 溶液中,振荡混匀,测定 500 nm 处吸光度。按式(2)计算乳化活性。

$$E_{\text{AI}} = \frac{2 \times 2.303 \times N \times A}{c \times \alpha \times 1000}, \quad (2)$$

式中:

E_{AI} ——乳化活性,m²/g;

N ——稀释倍数；

α ——油相体积分数，%；

c ——蛋白质质量浓度，mg/mL；

A ——吸光度。

1.2.6 蛋白相对分子质量测定 (SDS-PAGE) 参照 Laemmli^[23]的方法并修改。分别配制 12% 的分离胶和 5% 的浓缩胶，将 5% 的 2-巯基乙醇 (2-ME) 加至样品缓冲液 (0.025 mol/L Tris-HCl, 0.192 mol/L 甘氨酸和 0.1% SDS) 中，混匀，沸水浴 5 min，上样量为 10 μ L，采用 0.1% 考马斯亮蓝 (R-250) 染色液 (含 45% 甲醇和 10% 冰乙酸) 染色 30 min，并用脱色溶液洗涤脱色后分析糖基化前后蛋白质的一级结构。

1.2.7 蛋白质红外光谱特性测定 参照 Yang 等^[24]的方法并修改。取 1.5 mg 样品，与 200 mg 溴化钾研磨混匀后压片进行红外光谱测定。波数范围 4 000~400 cm^{-1} ，扫描次数 64 次，分辨率 4 cm^{-1} ，采用 Peakfitting 软件和高斯曲线拟合分析两种提取工艺下大豆亲脂蛋白的二级结构。

1.2.8 蛋白质表面疏水性测定 参照兰秋雨等^[25]的方法并修改。将溴酚蓝 (1 mg/mL) 添加到蛋白溶液 (1 mg/mL) 中，室温下充分混匀，离心，上清液稀释 10 倍，测定 595 nm 处吸光度。对照组用 pH 为 7.0 的磷酸盐缓冲液 (10 mmol/L) 代替蛋白溶液。按式 (3) 计算蛋白表面疏水性。

$$\text{BPB} = \frac{200 \mu\text{g} \times (A_0 - A_x)}{A_0}, \quad (3)$$

式中：

BPB——溴酚蓝结合量， μg ；

A_0 ——对照组吸光度；

A_x ——样品吸光度。

1.2.9 蛋白质微观结构测定 采用扫描电镜 (SEM) 法，将少量干燥粉末样品均匀铺在导电胶上，喷金 60 s 后，4 000 倍下观察样品的表观形貌。

1.2.10 蛋白质紫外光谱特性测定 取质量浓度为 0.1 mg/mL 的样品，设定分辨率为 0.2 nm，扫描速率为 600 nm/min，通过紫外光谱仪获取 185~400 nm 蛋白紫外光谱。

1.2.11 蛋白质电位及粒度测定 取 5 mg/mL 的样品，平衡温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ ，使用粒度仪测定 3 次取平均值。

1.2.12 蛋白质起泡能力和起泡稳定性测定 参照刘燕等^[26]的方法并修改。取 1 g 蛋白，加入 99 mL 超纯水，混匀，调 pH 至 7.0，10 000 r/min 均质 2 min，记录不同时刻均质后的泡沫体积。分别按式 (4)、式 (5) 计算蛋白质的起泡能力和起泡稳定性。

$$F_c = \frac{V_0}{V} \times 100\%, \quad (4)$$

$$F_s = \frac{V_0 - V_t}{V} \times 100\%, \quad (5)$$

式中：

F_c ——起泡能力，%；

F_s ——起泡稳定性，%；

V_0 ——初始泡沫体积，mL；

V_t —— t 时刻泡沫体积，mL；

V ——溶液体积，mL。

1.2.13 蛋白质保油性测定 将 0.5 g 蛋白样品分散至 5 mL 超纯水或油中，25 $^{\circ}\text{C}$ 静置 30 min，10 000 $\times g$ 离心 15 min，记录上清液体积。按式 (6) 计算蛋白质的持水性或持油性。

$$C = \frac{V_0 - V_1}{m_0} \times 100\%, \quad (6)$$

式中：

C ——蛋白质的持水性或持油性，%；

V_0 ——初始加入油或水的体积，mL；

V_1 ——油或水上清液体积，mL；

m_0 ——样品质量，g。

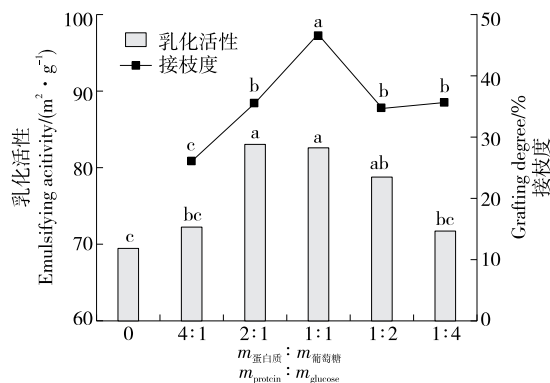
1.3 数据统计分析

使用 SPSS 23 和 Origin 2021 绘制图表，采用方差分析数据差异显著性 ($P < 0.05$)，所有试验均重复 3 次，结果表示为平均值 $\pm$ 标准偏差。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 对糖基化效果的影响 由图 1 可知，蛋白质的乳化活性和接枝度均随着 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 的增加而增加，在 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 为 2:1 时，乳化活性和接枝度均达最大，之后又呈下降趋势。



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 对蛋白接枝度及乳化活性的影响
Figure 1 Effect of protein-to-glucose mass ratio ($m_{\text{protein}}:m_{\text{glucose}}$) on protein grafting degree and emulsification activity

2.1.2 处理温度对糖基化效果的影响 由图2可知,随着处理温度的升高,蛋白乳化活性和接枝度均呈上升趋势,在处理温度为70℃时达到最高,此时未改性蛋白和改性蛋白乳化活性分别为91.05,102.31 m²/g。当处理温度为80℃时,蛋白乳化活性和接枝度均明显下跌,而在90℃时又有一定的回升。

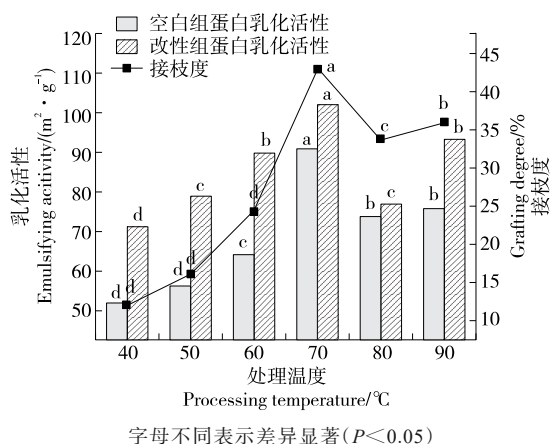


图2 处理温度对蛋白接枝度及乳化活性的影响

Figure 2 Effect of treatment temperature on protein grafting degree and emulsification activity

2.1.3 处理时间对糖基化效果的影响 由图3可知,随着处理时间的延长,蛋白乳化活性和接枝度均呈上升趋势,在处理时间为2 h时达到最高,此时未改性蛋白和改性蛋白的乳化活性分别为91.03,93.30 m²/g。当处理时间>2 h时,乳化活性和接枝度均呈下降趋势,其中未改性蛋白的乳化活性下降更明显,可能是高温改变了蛋白质结构。

2.1.4 pH值对糖基化效果的影响 由图4可知,随着pH

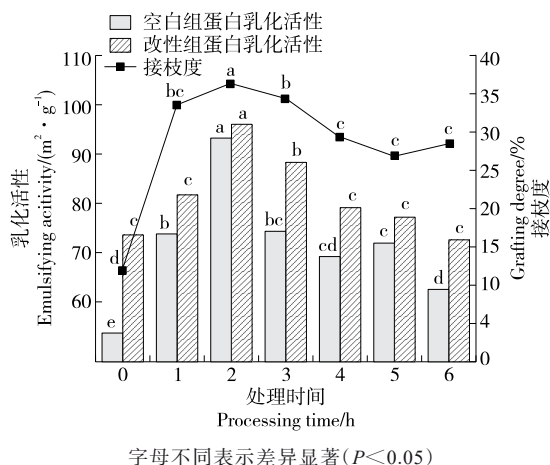
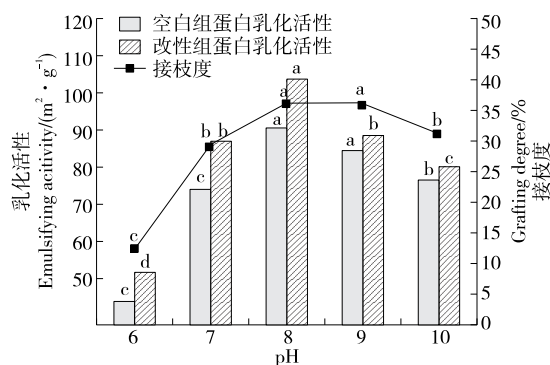


图3 处理时间对蛋白接枝度及乳化活性的影响

Figure 3 Effect of treatment time on protein grafting degree and emulsification activity



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图4 pH值对乳化活性的影响

Figure 4 Effect of pH on emulsifying activity

值的增加,蛋白乳化活性和接枝度均呈上升趋势,在pH 8时达到最高,此时未改性蛋白和改性蛋白的乳化活性分别为90.79,103.96 m²/g。当pH>8时,乳化活性和接枝度呈下降趋势。

2.2 正交试验

在单因素试验基础上,以 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 、处理温度、处理时间和pH值为因素,以蛋白质乳化活性和接枝度为响应值,进行四因素三水平正交试验优化蛋白改性工艺条件。正交试验因素水平见表1,正交试验设计及结果见表2。

表1 正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal test factor and level design table

水平	A $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$	B 处理温度/°C	C 处理时间/h	D pH
1	1:2	60	1	7
2	1:1	70	2	8
3	2:1	80	3	9

由表2可知,各因素对糖蛋白乳化活性影响作用大小依次为处理温度> $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ >处理时间>pH值,最佳处理条件为 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 为1:1、处理时间2 h、处理温度70℃、pH值为8,此时蛋白质接枝度为(59.00±1.36)%;各因素对接枝度影响作用大小依次为处理温度> $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ >处理时间>pH值。最佳处理条件为 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 为1:1、处理时间2 h、处理温度80℃、pH值为8,此时蛋白质乳化活性为(215.79±14.69) m²/g。

由表3可知,各因素对蛋白质糖基化接枝度和蛋白乳化活性均具有极显著影响($P < 0.01$)。结合正交试验结果发现,蛋白的接枝度与乳化活性呈正相关性。因此,后期试验选择A₂B₂C₂D₂样品组为Y1, B₂C₂D₂样品组为Y2, A₁B₁C₁D₁为Z1, A₂B₃C₁D₂为Z6,考察接枝度对蛋白结构以

表 2 正交试验设计及结果
Table 2 Orthogonal test design and results

试验号		A	B	C	D	乳化活性/(m ² ·g ⁻¹)	接枝度/%
1		1	1	1	1	70.089	17.064
2		1	2	2	2	164.204	34.862
3		1	3	3	3	102.944	32.293
4		2	1	2	3	181.707	41.651
5		2	2	3	1	192.070	31.376
6		2	3	1	2	176.640	44.771
7		3	1	3	2	131.041	48.807
8		3	2	1	3	108.011	31.376
9		3	3	2	1	107.772	36.881
乳化活性	<i>k</i> ₁	112.413	127.612	118.247	116.644		
	<i>k</i> ₂	176.806	148.095	151.227	157.295		
	<i>k</i> ₃	115.608	129.119	135.352	130.887		
	<i>R</i>	64.393	20.483	32.981	40.651		
接枝度	<i>k</i> ₁	28.073	35.841	31.070	28.440		
	<i>k</i> ₂	39.266	32.538	37.798	42.813		
	<i>k</i> ₃	39.021	37.982	37.492	35.107		
	<i>R</i>	11.193	5.443	6.728	14.373		

表 3 方差分析
Table 3 Results of variance analysis

来源	离差平方和		自由度	均方		<i>F</i> 值		<i>P</i> 值	
	乳化活性	接枝度		乳化活性	接枝度	乳化活性	接枝度	乳化活性	接枝度
A	8 893.978	592.701	2	4 446.989	296.350	149.853	218.197	0.001	0.001
B	11 622.795	1 045.756	2	5 811.398	522.878	195.830	384.984	0.001	0.001
C	3 588.047	215.327	2	1 794.023	107.664	60.454	79.270	0.001	0.001
D	721.710	205.728	2	360.855	102.864	12.160	75.736	0.001	0.001
误差	534.163	24.447	18	29.676	1.358				
总计	24 4305.075	95 115.992	27						

及功能特性的影响。

2.3 糖基化大豆亲脂蛋白的表征

2.3.1 相对分子质量 由图 5 可知,改性前后大豆蛋白亚基结构均较为完整,显示出相同的电泳模式,表明糖基化修饰未改变谱带分布^[27]。其中 α' 、 α 和 β 是大豆 β 球蛋白(7S)的 3 个亚基,剩下两个条带分别为大豆球蛋白(11S)的酸性多肽链(34 kDa)和碱性多肽链(17~18 kDa)^[28]。与未改性蛋白相比,糖基化所得 α' 条带浓度有所降低,颜色较浅,可能是改性过程中蛋白质发生了聚集和交联。

2.3.2 红外光谱特性 由图 6 可知,5 种蛋白结构相似,但改性蛋白的波峰较空白组发生偏移,同时峰值也呈现一定的差距。天然大豆亲脂蛋白二级结构的 α -螺旋主吸收

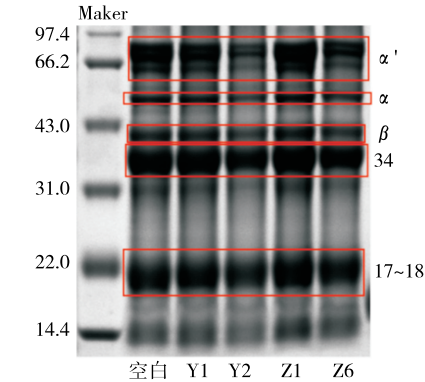


图 5 不同接枝度蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Figure 5 SDS-PAGE of proteins with different grafting degrees

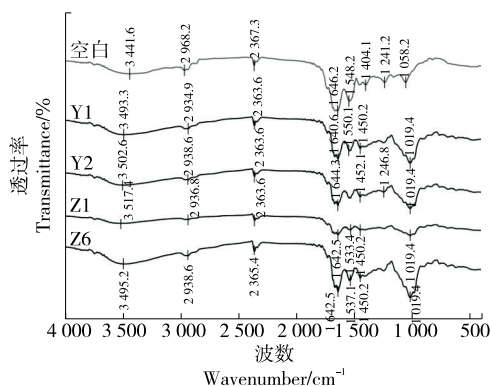


图6 蛋白红外光谱图

Figure 6 Infrared spectra of proteins

振动峰位于 $1\ 653\text{ cm}^{-1}$, 相较于空白组, 改性蛋白的 α -螺旋吸收峰均有一定程度的下降, 说明蛋白结构中 α -螺旋被展开; β -折叠特征峰位于 $1\ 600\sim 1\ 640\text{ cm}^{-1}$, 相较于空白组, 改性蛋白的 β -折叠吸收峰均有一定程度的下降, β -折叠含量减少伴随着疏水暴露区域减少^[29], 与表面疏水性结果一致。

3 300~3 500 cm^{-1} 处吸收峰位于 O—H 与 N—H 基团吸收带,对应—OH 与—NH₂基团发生改变^[30],相较于空

白组,糖基化组产物波峰在此段发生红移,可能是糖基化引入羟基,导致 O—H 吸收带伸缩振动增强,与刘郁琪等^[31]的研究结果具有一致性;项雷文等^[32]研究表明,葡萄糖在 2 361, 1 034 cm^{-1} 处具有伸缩振动的典型特征峰,空白组在此处无吸收峰,但改性蛋白组在 2 361 cm^{-1} 处有较强吸收峰;空白组在 1 063 cm^{-1} 处具有吸收峰,而改性组蛋白在此处无特征峰,但在 1 021 cm^{-1} 左右具有较强吸收峰,可能是蛋白质与葡萄糖参与反应,蛋白质结构改变^[33]。

2.3.3 微观结构 由图7可知,空白组蛋白的表面粗糙且充满空洞,而经过糖基化处理的蛋白表面平整且光滑,与Tan等^[34]的结果一致,可能是葡萄糖分子暴露出更多的氨基酸和疏水基团改变了氨基酸的微环境,从而改善了偶联物之间的疏水相互作用。此外,葡萄糖分子填充凝胶的网络结构使表面更加紧凑^[35]。改性蛋白表面有较多数量的冰晶结构物质,可能是糖基化改性提升了蛋白的亲水性,表面的水分以结晶的形式存在。经过糖基化修饰的大豆分离蛋白表面更致密、更均匀的结构,可以有效阻断气体和水分的渗透途径,提高薄膜的阻隔性能。此外,平整光滑的结构会进一步增强机械性能,同时也提高了薄膜的美观性和触感。

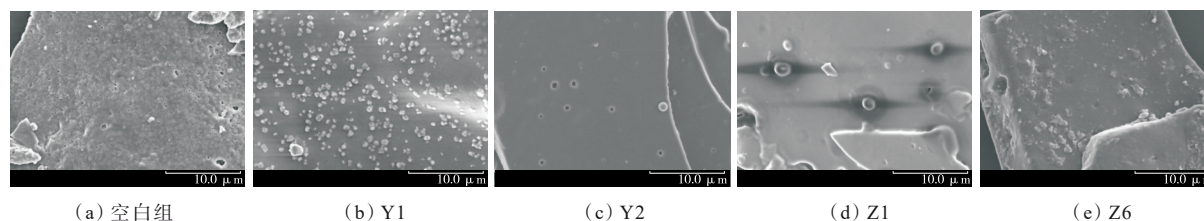


图7 不同接枝度蛋白微观结构

Figure 7 Microstructures of proteins with different grafting degrees

2.3.4 紫外吸收特性 由图8可知,紫外吸收可见光谱在200~210 nm呈现吸收峰,与空白组相比,改性蛋白最大吸收光强度降低,吸收波长发生红移,长波处出现末端吸收,表明蛋白内部肽键结构发生改变,可能是糖基化反应影响大豆亲脂蛋白表面疏水基团,改变蛋白溶解度从而影响该区域内吸收光强度,同时基团内部生色基团折叠导致吸收光强度降低^[27],与糖基化使大豆亲脂蛋白结构更加紧密的结果一致。

2.3.5 蛋白的乳化性 由表4可知,改性蛋白的乳化活性与乳化稳定性显著高于空白组,其中Y1和Z6的接枝度较高,其蛋白乳化活性显著高于其他组,同时乳化稳定性也得到显著提高;而Y2和Z1组乳化稳定性较空白组无显著提升,但乳化性得到一定的改善。对比图6发现,仅含有 β -折叠与 β -转角的Y2和Z6组具有更高的乳化性,而更高

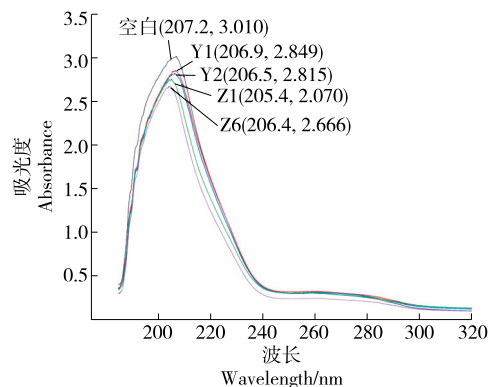


图8 改性大豆亲脂蛋白的紫外光谱图

Figure 8 UV spectra of modified soybean lipophilic proteins

含量的 β -折叠与无规卷曲的Y1蛋白具有更高的乳化稳定性。因此,对蛋白质进行糖基化可以有效提高蛋白质

表 4 改性大豆亲脂蛋白的接枝度及乳化性[†]

Table 4 Grafting degree and emulsification of modified soybean lipophilic proteins

组别	接枝度/%	乳化活性	乳化稳定性/%
空白组		134.26±11.29 ^c	5.63±0.25 ^c
Y1	59.00±1.36 ^a	203.58±17.77 ^b	15.04±0.79 ^a
Y2	27.00±0.79 ^c	215.79±14.69 ^a	8.02±0.48 ^c
Z1	8.00±0.34 ^d	157.52±10.98 ^d	7.14±0.59 ^c
Z6	33.00±1.06 ^b	186.54±20.36 ^c	10.61±0.83 ^b

[†] 字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

的乳化活性,同时较高的接枝度能够显著改善蛋白质的乳化稳定性,其中Y1和Z6组表现较为优异。

2.3.6 蛋白的发泡性 由表5可知,改性蛋白的保油性显著上升($P>0.05$),其中Y1组保油性最高,这与其接枝度最高有关。各处理组的起泡性无显著性差异,但改性组的发泡稳定性显著高于空白组,同样Y1组的发泡稳定性最强,这与其乳化稳定性显著高于其他组相对应。

表 5 改性大豆亲脂蛋白的功能特性[†]

Table 5 Functional properties of modified soybean lipophilic proteins

组别	发泡性	发泡稳定性/%	保油性/%
Y1	41.90±2.30	98.79±0.02 ^a	46.67±3.85 ^a
Y2	48.50±4.90	95.86±1.01 ^b	33.33±3.85 ^{ab}
Z1	49.30±0.10	93.91±1.00 ^{bc}	26.67±3.85 ^b
Z6	40.50±16.30	91.34±1.00 ^c	33.33±2.40 ^{ab}
空白组	50.80±1.60	61.74±0.19 ^d	21.56±3.56 ^b

[†] 字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

综合蛋白质的接枝度,以及不同接枝度蛋白质的乳化性和乳化稳定性,最终确认Y1组蛋白质为最优改性蛋白,即最优糖基化处理条件为 $m_{\text{蛋白质}}:m_{\text{葡萄糖}}$ 为1:1,处理温度70℃,处理时间2h,pH为8。

2.3.7 蛋白的Zeta电位及粒度 由表6可知,经过糖基化的蛋白电位降低,其中Y1组与空白组电位无显著性差异,而Y2组电位显著低于空白组和Y1组,但Y2组的粒径显著高于Y1组和空白组($P>0.05$),这是由于接枝度的提升,使更多的氨基接枝到蛋白质的羧基上,因此在改变分子粒径时也降低了蛋白的电位。其中,Y2和Z1组的蛋白质粒度显著高于空白组,考虑是处理时所采用的pH值不同造成的,在pH为8时,蛋白质溶解度更高,不容易发生聚集,同时支链展开,增加了蛋白的糖基化程度,使蛋白的乳化活性与乳化稳定性均得到显著性提高。改性后的蛋白粒径增加,与Li等^[27]的结果一致。与蛋白质共价

表 6 改性大豆亲脂蛋白的相关理化指标[†]

Table 6 Related physicochemical indices of modified soybean lipophilic proteins

组别	Zeta 电位/mV	粒径/nm	表面疏水性
空白组	-19.10±0.340 ^a	199.13±11.943 ^b	3 208.231±177.329 ^a
Y1	-18.83±0.193 ^a	212.40±11.301 ^b	1 152.263±50.304 ^d
Y2	-12.98±0.046 ^b	235.83±8.659 ^a	1 739.095±33.118 ^c
Z1	-13.03±0.186 ^b	245.36±9.254 ^a	1 857.140±67.342 ^c
Z6	-17.81±0.095 ^a	199.68±10.492 ^b	2 085.710±77.374 ^b

[†] 字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

结合的多糖链覆盖大豆分离蛋白的表面,从而产生屏蔽效应,蛋白质电荷远离水相,带电蛋白质与周围水分子之间的静电相互作用减少。因此,糖基化修饰促进了蛋白质的聚集,最终导致粒径增大。

糖基化后蛋白表面疏水性显著低于空白组($P>0.05$),表面疏水性越高,蛋白质溶解性越低。而大豆亲脂蛋白中含有大量磷脂蛋白分子,导致蛋白表面疏水性较高,虽然具有优异的乳化能力,但较低的溶解度限制了蛋白质的应用;接枝后的蛋白质显著降低了蛋白质表面疏水性较高的问题,为蛋白的未来应用提供了更多可能性。

3 结论

糖基化处理能够改变蛋白的二级结构,降低大豆亲脂蛋白的紫外吸收峰,使蛋白质微观结构更加致密平整,并显著降低蛋白的表面疏水性,提升蛋白的发泡稳定性和乳化稳定性。后续可开展其Pickering乳液的构建技术以及脂肪模拟物构建技术研究,并探讨其在肉制品加工、调味品生产、乳品开发中的应用可能性,拓宽糖基化大豆亲脂蛋白质在食品工业中的利用途径。

参考文献

[1] 曾剑华, 刘琳琳, 杨杨, 等. 大豆亲脂蛋白组分分析及体外抗氧化特性[J]. 食品科学, 2020, 41(14): 58-65.
Zeng J H, Liu L L, Yang Y, et al. Composition and *in vitro* antioxidant properties of soy lipophilic protein[J]. Food Science, 2020, 41(14): 58-65.
[2] 李杨, 方琳, 齐宝坤, 等. 不同来源豆类亲脂蛋白提取与理化性质研究[J]. 农业机械学报, 2022, 53(6): 388-395.
Li Y, Fang L, Qi B K, et al. Extraction and analysis of physicochemical properties of lipophilic protein from different sources[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2022, 53(6): 388-395.
[3] Da Silva F T, Dos Santos F N, Fonseca L M, et al. Oleogels based on germinated and non-germinated wheat starches and orange essential oil: application as a hydrogenated vegetable fat replacement in bread[J]. International Journal of Biological

- Macromolecules, 2023, 253(Pt 1): 126610.
- [4] Matsumura Y, Sirison J, Ishi T, et al. Soybean lipophilic proteins: origin and functional properties as affected by interaction with storage proteins[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2017, 28: 120-128.
- [5] 张涛, 魏安池, 刘若瑜. 大豆蛋白改性技术研究进展[J]. *粮油食品科技*, 2011, 19(5): 26-29.
- Zhang T, Wei A C, Liu R Y. Research progress on modification of soy protein[J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2011, 19(5): 26-29.
- [6] Han Z, Cai M J, Cheng J H, et al. Effects of electric fields and electromagnetic wave on food protein structure and functionality: a review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 75: 1-9.
- [7] 李振源, 刘伯业, 张静思, 等. 小麦面筋蛋白改性技术的研究进展[J]. *粮食与油脂*, 2021, 34(5): 17-20.
- Li Z Y, Liu B Y, Zhang J S, et al. Research progress of modification technology for wheat gluten[J]. *Cereals & Oils*, 2021, 34(5): 17-20.
- [8] 冯建慧, 曹爱玲, 陈小强, 等. 微波对食品蛋白凝胶性和结构影响研究进展[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(18): 317-322.
- Feng J H, Cao A L, Chen X Q, et al. Research progress of effect of microwave heating on gelation properties and structure of food protein[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(18): 317-322.
- [9] 周航, 肖彤, 解铁民. 豌豆蛋白的改性及其在食品中应用的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(6): 485-493.
- Zhou H, Xiao T, Xie T M. Research progress on modification and application of pea protein in food field[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(6): 485-493.
- [10] 刘加艳, 任宇鹏, 郭立. 花生蛋白的高静压联合酶法改性及其性质[J]. *中国油脂*, 2024, 49(6): 47-52.
- Liu J Y, Ren Y P, Guo L. Modification of peanut protein by high hydrostatic pressure combined with enzymatic method and its properties[J]. *China Oils and Fats*, 2024, 49(6): 47-52.
- [11] 李琳, 孙一熙, 秦文, 等. 限制性酶解结合糖基化改性对大豆分离蛋白乳化性质的影响[J]. *食品与机械*, 2024, 40(3): 1-11.
- Li L, Sun Y X, Qin W, et al. Effects of limited enzymolysis and glycosylation on emulsifying properties of soybean protein isolates[J]. *Food & Machinery*, 2024, 40(3): 1-11.
- [12] 臧学丽, 刘娟. 大豆分离蛋白改性技术的研究进展[J]. *吉林农业*, 2018(1): 62.
- Zang X L, Liu J. Research advance of modification of soybean protein isolate[J]. *Jilin Nongye*, 2018(1): 62.
- [13] 王慈恩, 郭庆, 崔志华, 等. 丝素蛋白化学改性及其应用的研究进展[J]. *丝绸*, 2022, 59(12): 1-7.
- Wang C E, Guo Q, Cui Z H, et al. Research progress on chemical modification of silk fibroin and its applications[J]. *Journal of Silk*, 2022, 59(12): 1-7.
- [14] 徐颖, 季文彤, 魏文松, 等. 炒制猪肉理化特性、食用品质和糖基化终产物对火候的响应分析[J]. *中国农业科学*, 2025, 58(19): 4 000-4 013.
- Xu Y, Ji W T, Wei W S, et al. Response of physicochemical properties, edible quality and advanced glycation end-products of stir-fried pork to "Huohou"[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2025, 58(19): 4 000-4 013.
- [15] Liu J H, Ru Q M, Ding Y T. Glycation a promising method for food protein modification: physicochemical properties and structure, a review[J]. *Food Research International*, 2012, 49(1): 170-183.
- [16] 邵澜媛, 周建伟, 刘东红. 食品中美拉德反应机理及动力学模型的研究进展[J]. *中国食品学报*, 2012, 12(12): 103-112.
- Shao L Y, Zhou J W, Liu D H. Research status on mechanism and kinetic modelling of Maillard reaction[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2012, 12(12): 103-112.
- [17] 苏克楠, 刘丽莉, 程伟伟, 等. 酶解—磷酸化协同改性猪血红蛋白制备工艺优化及特性分析[J]. *食品与机械*, 2024, 40(9): 36-43.
- Su K N, Liu L L, Cheng W W, et al. Optimization of preparation process and characteristics analysis of porcine hemoglobin modified by enzymatic hydrolysis-phosphorylation[J]. *Food & Machinery*, 2024, 40(9): 36-43.
- [18] Cui Q, Zhang A Q, Li R, et al. Ultrasonic treatment affects emulsifying properties and molecular flexibility of soybean protein isolate-glucose conjugates[J]. *Food Bioscience*, 2020, 38: 100747.
- [19] 张梦玥, 刘竞男, 陈鹏, 等. 大豆蛋白—葡聚糖共价物酶法凝胶的冻融稳定性研究[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(11): 105-113.
- Zhang M Y, Liu J N, Chen P, et al. Study on freeze-thaw stability of enzymatic gel of soy protein isolate-dextran conjugate[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, 23(11): 105-113.
- [20] 刘琳琳, 杨杨, 范婧, 等. 葡聚糖添加量对糖基化大豆分离蛋白结构及乳化性的影响[J]. *中国调味品*, 2023, 48(9): 63-68.
- Liu L L, Yang Y, Fan J, et al. Effect of dextran addition amount on structure and emulsification properties of glycosylated soybean protein isolate[J]. *China Condiment*, 2023, 48(9): 63-68.
- [21] Liu C, Wang Z J, Jin H, et al. Effect of enzymolysis and glycosylation on the curcumin nanoemulsions stabilized by β -conglycinin: formation, stability and in vitro digestion[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 142: 658-667.
- [22] Mu L X, Zhao M M, Yang B, et al. Effect of ultrasonic treatment on the graft reaction between soy protein isolate and gum acacia and on the physicochemical properties of conjugates[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(7): 4 494-4 499.

- [23] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. *Nature*, 1970, 227 (5 259): 680-685.
- [24] Yang R, Zuo P, Zhang M, et al. Transglutaminase induced oligochitosan glycosylation of ferritin as a novel nanocarrier for food bioactive molecules[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 94: 500-509.
- [25] 兰秋雨, 张清, 刘琳, 等. 蛋白质糖基化改性方法和产物验证方法研究进展[J]. *食品与机械*, 2019, 35(2): 196-201.
- Lan Q Y, Zhang Q, Liu L, et al. Research progress on the preparation and identification methods of proteins glycosylation[J]. *Food & Machinery*, 2019, 35(2): 196-201.
- [26] 刘燕, 徐拥军, 郭兴凤, 等. TG 酶耦合糖基化改性花生饼蛋白功能特性及其在面包中应用研究[J]. *粮食与油脂* 2024, 37(1): 133-137.
- Liu Y, Xu Y J, Guo X F, et al. Study on functional properties of TGase-coupled glycosylation modified peanut cake protein and its application in bread[J]. *Cereals & Oils*, 2024, 37(1): 133-137.
- [27] Li L, He H, Wu D Z, et al. Rheological and textural properties of acid-induced soybean protein isolate gel in the presence of soybean protein isolate hydrolysates or their glycosylated products[J]. *Food Chemistry*, 2021, 360: 129991.
- [28] Feng J L, Schroën K, Fogliano V, et al. Antioxidant potential of non-modified and glycosylated soy proteins in the continuous phase of oil-in-water emulsions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 114: 106564.
- [29] 牛秋云. 小麦胚芽蛋白糖基化产物抗氧化特性研究[J]. *食品与机械*, 2023, 39(5): 32-37.
- Niu Q Y. Study on antioxidant properties of glycosylated products of wheat germ protein[J]. *Food & Machinery*, 2023, 39(5): 32-37.
- [30] Shi Y, Li R Y, Tu Z C, et al. Effect of γ -irradiation on the physicochemical properties and structure of fish myofibrillar proteins[J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2015, 109: 70-72.
- [31] 刘郁琪, 覃小丽, 阚建全, 等. 酪蛋白与可溶性大豆多糖的酶促糖基化产物制备及其性能分析[J]. *食品科学*, 2020, 41 (19): 74-82.
- Liu Y Q, Tan X L, Han J Q, et al. Preparation and properties of enzymatic glycosylation products of casein with soluble soybean polysaccharide[J]. *Food Science*, 2020, 41(19): 74-82.
- [32] 项雷文, 王海林, 陈文韬, 等. 精氨酸/葡萄糖的模式美拉德反应产物对丙烯酰胺状态的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(7): 29-35.
- Xiang L W, Wang H L, Chen W T, et al. Effect of Maillard reaction products derived from arginine-glucose model system on the state of acrylamide[J]. *Food Science*, 2017, 38(7): 29-35.
- [33] Wang Z J, Han F F, Sui X N, et al. Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between mung bean [*Vigna radiate* (L.)] protein isolates and glucose and on structural and physico-chemical properties of conjugates[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(5): 1 532-1 540.
- [34] Tan L M, Yin L J, Jia X, et al. Preparation of soybean protein isolate-lactose glycation conjugate gels: synergistic mechanism of cold plasma treatment and lactose glycosylation[J]. *Food Chemistry*, 2025, 493(Pt 4): 145957.
- [35] Zhu Y, Li H L, Peng C, et al. Application of protein/polysaccharide aerogels in drug delivery system: a review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 247: 125727.