

# 酰基转移现象对大豆蛋白-磷脂酶解物相互作用及乳化特性的影响

李秋慧, 隋晓楠, 王中江, 齐宝坤, 江连洲, 张苑坤, 李 杨\*

(东北农业大学食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 通过联合采用核磁共振氢谱与三维荧光光谱技术, 针对酶解过程中酰基转移现象对复合体系中大豆分离蛋白-磷脂酶解物相互作用及乳状液乳化稳定性、储存稳定性的影响机理进行探究。结果显示: 在大豆分离蛋白乳液、大豆分离蛋白-磷脂复合乳液、大豆分离蛋白-磷脂4 h酶解物复合乳液、大豆分离蛋白-磷脂8 h酶解物复合乳液4种样品中, 大豆分离蛋白-磷脂4 h酶解物复合乳液具有最佳的乳化稳定性、储存稳定性。而磷脂经8 h酶解由于酰基转移现象的发生, 溶血磷脂会部分转变成甘油磷脂酰胆碱, 导致其与大豆蛋白之间相互作用减弱, 稳定性有所下降。因此, 适度酶解时间磷脂酶解产物的添加会促进其与大豆分离蛋白相互作用, 在水油界面上形成较稳定的界面膜, 从而提高乳液的乳化特性。

**关键词:** 大豆分离蛋白; 磷脂酶解物; 酰基转移现象; 相互作用; 乳化特性

## Effect of Acyl Transfer on the Interaction between Soybean Protein Isolate and Phospholipid Hydrolysate and Emulsifying Properties

LI Qiuhui, SUI Xiaonan, WANG Zhongjiang, QI Baokun, JIANG Lianzhou, ZHANG Wankun, LI Yang\*

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

**Abstract:** The aim of this study was to explore the mechanism of the effect of acyl transfer taking place during the enzymatic hydrolysis of phospholipid on the interaction between soybean protein isolate (SPI) and phospholipid hydrolysates as well as emulsion stability and storage stability by the combined use of nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy and three-dimensional fluorescence spectroscopy. The results showed that among four samples, i.e., SPI alone and its complexes with lecithin (Lec) and lecithin hydrolysates at 4 and 8 h of hydrolysis, which were designated as SPI, SPI-Lec, SPI-Lec4h and SPI-Lec8h, respectively, the SPI-Lec4h sample had the best emulsion stability and storage stability. However, the SPI-Lec8h sample was not as good, due to the occurrence of acyl transfer that resulted in the transformation of lysophospholipids to glyceryl-phosphorylcholine to weaken the interaction between SPI and phospholipid hydrolysate. Therefore, the addition of suitable enzymatic hydrolysates of phospholipid to SPI emulsions will improve the emulsifying properties through the formation of a stable interfacial film, promoted by the interaction between them.

**Key words:** soybean protein isolate (SPI); phospholipase hydrolysate; acyl transfer; interaction; emulsifying properties

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201701001

中图分类号: TS214.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 01-0001-06

引文格式:

李秋慧, 隋晓楠, 王中江, 等. 酰基转移现象对大豆蛋白-磷脂酶解物相互作用及乳化特性的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(1): 1-6. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201701001. <http://www.spkx.net.cn>

LI Qiuhui, SUI Xiaonan, WANG Zhongjiang, et al. Effect of acyl transfer on the interaction between soybean protein isolate and phospholipid hydrolysate and emulsifying properties[J]. Food Science, 2017, 38(1): 1-6. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201701001. <http://www.spkx.net.cn>

大豆分离蛋白 (soybean protein isolate, SPI) 因其具有多种功能特性而在食品加工中得以广泛应用, 其中

较为重要的功能特性就是乳化性<sup>[1]</sup>, 食品加工过程中常常通过添加大豆分离蛋白提高产品乳化稳定性、延长货

收稿日期: 2016-02-29

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目 (2014BAD22B01); 国家高技术研究发展计划 (863计划) 项目 (2013AA102104); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31301501); 国家自然科学基金面上项目 (31571876)

作者简介: 李秋慧 (1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程。E-mail: cherish\_lqh620@163.com

\*通信作者: 李杨 (1981—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程。E-mail: liyanghuangyu@163.com

架期等,然而单一的天然大豆分离蛋白由于结构的限制以及易变性等缺点使其不能很好的满足食品工业对乳化剂的多重需求<sup>[2]</sup>。大豆卵磷脂(lecithin, Lec)是一种纯天然、高营养的乳化剂<sup>[3]</sup>,李菊芳等<sup>[4]</sup>研究发现,由于Lec结构中同时具有亲水基团和亲油基团,可以将其添加到蛋白当中增强食品的乳化活性及乳化稳定性。但谷克仁等<sup>[5]</sup>研究发现由于磷脂分子结构的关系,亲水亲油平衡(hydrophile lipophile balance, HLB)值较低,仅适用作水包油型乳化剂(oil-in-water emulsion, W/O),使磷脂的作用不能充分发挥,限制了其与蛋白质的交互作用,可以采用磷脂酶解方式对其进行改性处理。杜章斌等<sup>[6]</sup>研究表明酶催化过程中,磷脂首先水解成溶血磷脂(lysophosphatide, LPC),由于酰基转移现象会再进一步生成甘油磷脂酰胆碱(glycerolphosphorylcholine, GPC)。同时,国外有研究表明磷脂经磷脂酶A1酶解后非极性基团减少,亲水性增强,与乳中蛋白的交互作用增强,表现出更好的乳化活性及稳定性,其二者形成的复合体系更有利于维持乳液的储存稳定性,延长货架期,但机理尚不明确,且在此问题上的研究仍然较少<sup>[7-8]</sup>。因此,本研究在前期研究基础上采用磷脂酶A1对磷脂进行4 h及8 h的酶解处理,通过核磁共振氢谱法对酶解产物进行分析,再将酶解产物与大豆分离蛋白进行复合共建乳化体系,通过对复合体系进行内源荧光光谱及三维荧光光谱测定,对复合乳液进行乳化活性、乳化稳定性、储存稳定性测定,探究酶解过程中酰基转移对大豆分离蛋白-磷脂酶解物相互作用及乳化特性的影响,为复合乳液工业生产应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

脱脂豆粕 哈尔滨高科技股份有限公司;大豆卵磷脂(主要成分为卵磷脂(phosphatidylcholine, PC),纯度为78%) 深圳康之源生物有限公司;磷脂酶A1(8 900 U/mL) 诺维信生物技术有限公司;十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)、Tris-HCl 美国Sigma公司;磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、盐酸、氢氧化钠等均为国产分析纯。

### 1.2 仪器与设备

磁力搅拌器 广州仪科实验仪器有限公司;T18 basic高速乳化均质机 德国IKA公司;ULTRASHIELD-500核磁共振光谱仪 德国布鲁克仪器有限公司;TU-1800紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;LS-55荧光分光光度计 美国PE公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 大豆分离蛋白的制备

参考Molina等<sup>[9]</sup>的方法,按照质量比例1:15将脱脂豆粕与水混合,加入浓度为1 mol/L NaOH溶液调节pH值至8.0,磁力搅拌1 h后在6 000×g条件下离心30 min。去除残渣,取上清液溶液加入1 mol/L的HCl溶液调节pH值至大豆分离蛋白等电点,搅拌1 h后在室温条件下静置15 min。在6 000×g条件下离心30 min,取沉淀水洗3次,最后将沉淀溶于水中加入1 mol/L NaOH溶液调节pH值至7,再次在6 000×g条件下离心30 min滤去不溶物得蛋白质溶液,再用纱布过滤,将蛋白质溶液进行冷冻干燥得大豆分离蛋白粉末,经凯式定氮仪测得蛋白含量为90.08%(氮溶解指数按6.25计算)。

#### 1.3.2 磷脂酶解产物的制备

参考杜章斌<sup>[6]</sup>、孙万成<sup>[10]</sup>等的方法并稍加修改,以Tris-HCl缓冲液为溶剂,配制磷脂溶液,添加浓度为150 mmol/L CaCl<sub>2</sub>。在45℃水浴中机械搅拌成均匀浆状,按照底物1 000 U/g的添加量加入磷脂酶A1开始水解反应,根据国内外文献可知磷脂酶A1酶解酰基转移现象易发生在3.5~5 h之间,因此本实验反应酶解时间分别定为4 h和8 h,将反应混合物加热到90℃灭酶处理30 min,再用丙酮萃取3~4次,挥干丙酮后得磷脂酶解产物。

#### 1.3.3 核磁共振氢谱测定磷脂酶解物组成

参考Ijare等<sup>[11]</sup>的方法,取10 mg左右的样品,用0.5 mL的氘代甲醇溶解样品后转移到直径为3 mm的玻璃核磁管中,测定条件为:频率202.46 MHz,测定温度为(40±0.01)℃,采集时间3.22 s,延迟时间12.25 s,扫描光谱256次得核磁共振氢谱图。

#### 1.3.4 大豆分离蛋白-磷脂酶解物复合体系

参考李杨等<sup>[12]</sup>的方法,精确称取30 mg大豆分离蛋白和3 mg磷脂及磷脂酶解产物样品,溶解于30 mL浓度为0.1 mol/L pH 7的磷酸盐缓冲溶液中,在1 000 r/min室温条件下搅拌溶液1 h,其中样品分别为1号大豆分离蛋白(SPI)、2号大豆分离蛋白-磷脂(SPI-Lec)、3号大豆分离蛋白-4 h酶解物(SPI-Lec4h)、4号大豆分离蛋白-8 h酶解物(SPI-Lec8h)。

#### 1.3.5 荧光滴定测定复合体系

参考Li Jufang等<sup>[13]</sup>的方法,将配制好的20 mg/mL大豆分离蛋白用pH 7.2、0.02 mol/L Tris-HCl溶液稀释50倍,取稀释后的蛋白溶液3.0 mL置于1 cm石英比色皿中,以10 μL为单位逐次加入配制好的磷脂、4 h磷脂酶解物、8 h磷脂酶解物溶液,二者充分混匀。以λ<sub>ex</sub>=280 nm为激发波长,记录300~500 nm波长范围的荧光光谱,利用LS-55荧光分光光度计扫描荧光光谱。

#### 1.3.6 三维荧光光谱测定复合体系

参考尹燕霞等<sup>[14]</sup>的方法,将制备好的大豆分离蛋白溶液稀释50倍后,取一份稀释液3 mL置于1 cm的石

英比色皿中进行三维荧光光谱扫描,再另取3份稀释液3 mL置于1 cm石英比色皿中后,再加入30  $\mu$ L 20 mg/mL的磷脂溶液、4 h磷脂酶解物和8 h磷脂酶解物,充分混匀后扫描三维荧光图谱。扫描条件为:记录发射波长200~500 nm,起始激发波长设置为200 nm,增长间隔为10 nm,共扫描16条曲线,绘制出三维荧光光谱。

### 1.3.7 大豆分离蛋白-磷脂酶解物乳状液的制备

取9 mL搅拌均匀的大豆分离蛋白-磷脂酶解物复合体系与3 mL葵花籽油混合搅拌,预乳化后倒入25 mL烧杯中,用高速乳化均质机在20 000 r/min条件下乳化1 min,制备乳液及空白对照样品,样品编号同1.3.4节。

### 1.3.8 乳液活性及乳化稳定性的测定

乳化性的测定参考Comas等<sup>[15]</sup>的方法。将均质的乳状液用0.1%的SDS溶液稀释到确定倍数,在500 nm波长处用紫外分光光度计测定吸光度,计算乳化活性指数(emulsifying activity index, EAI)。静置30 min后测定吸光度,计算乳化稳定性指数(emulsion stability index, ESI),EAI、ESI计算见公式(1)、(2):

$$EAI/(m^2/g) = 2 \times 2.303 \times \frac{A_0 \times N}{C \times \varphi \times 10\,000} \quad (1)$$

$$ESI/min = \frac{A_0}{A_0 - A_{30}} \times 30 \quad (2)$$

式(1)、(2)中: $N$ 为稀释倍数(250); $C$ 为乳液形成前蛋白质水溶液中蛋白质质量浓度/(g/mL); $\varphi$ 为乳液中油相体积分数; $A_0$ 为0 min时的吸光度; $A_{30}$ 为30 min时的吸光度。

### 1.3.9 储存稳定性的测定

参考王欢等<sup>[16]</sup>的方法,取新鲜乳液至10 mL玻璃试管中,封口密闭,置于室温、避光条件储存10 d后观察,并每隔1 d记录数据,上层为乳析层,下层为清液层。下层清液高度( $H_s$ )比整个乳液的高度( $H_t$ )。计算乳层析指数(cream index, CI),见公式(3):

$$CI/\% = \frac{H_s}{H_t} \times 100 \quad (3)$$

式中: $H_s$ 为下层清液高度/cm; $H_t$ 为整个乳液的高度/cm。

## 1.4 数据统计与分析

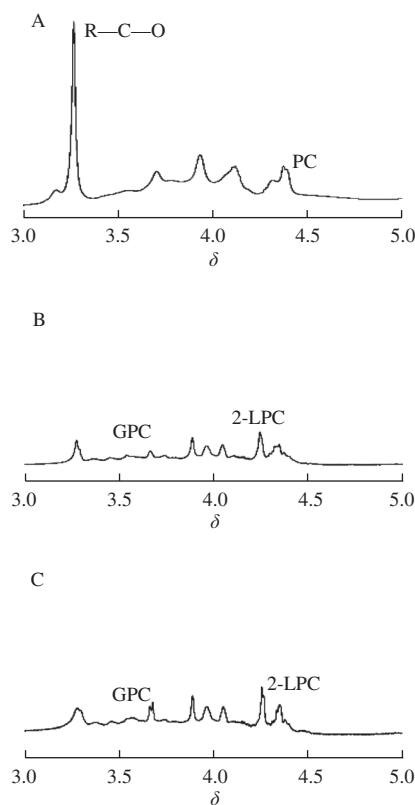
每个实验均重复至少3次,采用ANOVA进行误差分析,并用Origin 8.5统计分析数据并作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 核磁共振氢谱图确定磷脂酶解物组成

核磁共振氢谱是利用核磁共振仪记录下原子在共振下的有关信号绘制出的图谱。在核磁共振氢谱图中,特征峰的出现可以反映不同磷脂分子中各键位氢原子所处

环境的种类,利用PC、LPC、GPC的特征性质子峰判断样品中是否存在目标物质,特征性质子峰的面积与该质子的数量相对应,可推算出PC、LPC、GPC的相对含量从而判断物质的主要组成成分<sup>[17]</sup>。Adlercreutz等<sup>[18]</sup>研究发现:酶催化过程中,PC首先水解成LPC,再进一步生成GPC。图1为不同酶解时间条件下磷脂酶解物核磁共振氢谱。由图1A可知,1号原样Lec中出现PC特征峰 $\delta$  4.4~4.5,因此1号样品中主要成分为PC。图1B显示卵磷脂经磷脂酶A1催化水解4 h后样品中PC特征峰明显变小,这说明PC的Sn-1位基团被酶解掉导致含量明显减少并且产生乳化性较好的2-LPC特征峰 $\delta$  4.15~4.3,酶解4 h后的样品中PC不断被酶解变为LPC,并且开始出现GPC( $\delta$  3.7~3.8)<sup>[6]</sup>,但含量较少。图1C显示当酶解8 h后PC峰几乎消失,且产生2-LPC的同时有大量的GPC生产。这与张康逸等<sup>[19]</sup>的报道趋势相一致。产生这种现象的原因可能是磷脂酶酶解0~4 h过程中,PC结构中的Sn-1位被大量酶解,4 h后会发生重要的酰基转移现象,未被酶解的Sn-2位基团会被转移至Sn-1位继续被磷脂酶A1酶解,导致磷脂的疏水尾部全部被水解掉,部分LPC被酶解成GPC,且随着酶解时间的延长,LPC不断发生酰基转移现象,GPC含量不断增多,这与Poisson等<sup>[20]</sup>采用的核磁共振碳谱所得结论相一致。



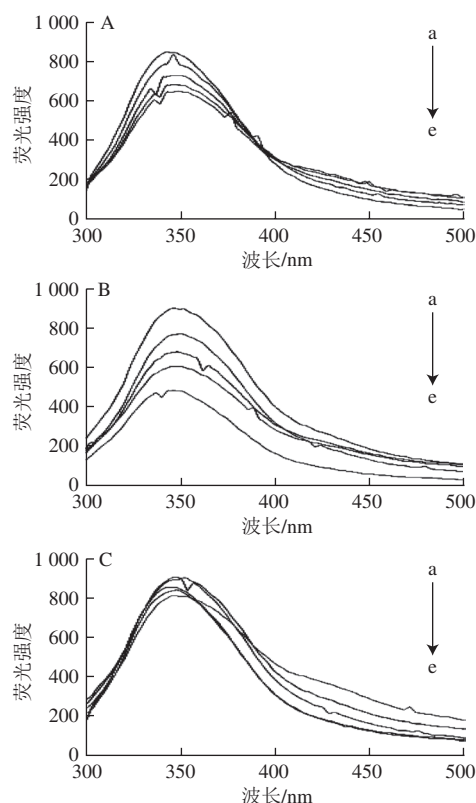
A. Lec; B. Lec酶解4 h; C. Lec酶解8 h。

图1 不同酶解时间磷脂酶解物核磁共振氢谱

Fig. 1  $^1\text{H}$  NMR spectra of lecithin hydrolysates at different hydrolysis times



## 2.2 磷脂不同酶解时间对大豆蛋白内源荧光猝灭作用的影响



A. SPI-Lec; B. SPI-Lec4h; C. SPI-Lec8h。a~e. 磷脂及磷脂酶解物质量浓度0~0.02 mg/mL。

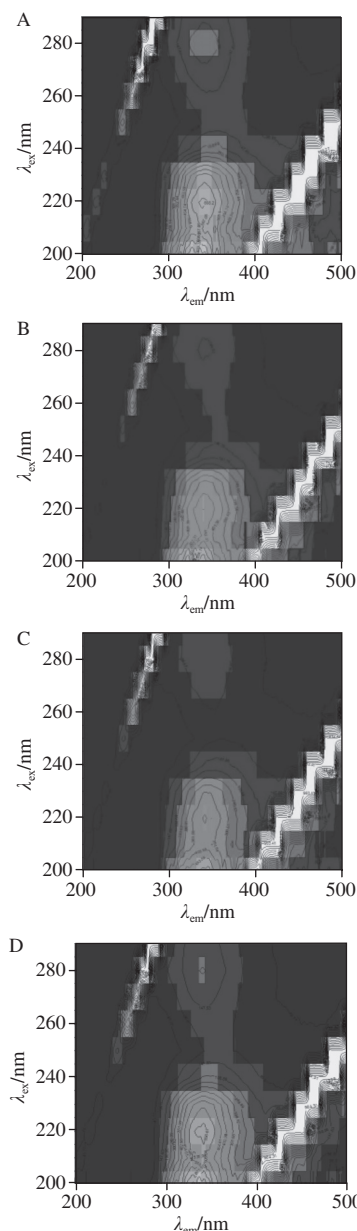
图2 磷脂及磷脂酶解物对大豆分离蛋白荧光猝灭作用

Fig. 2 Fluorescence quenching of SPI by lecithin and its hydrolysates

图2表示Lec(图2A)、Lec4h(图2B)及Lec8h(图2C)对大豆分离蛋白的猝灭作用。蛋白质的内源荧光主要依赖于色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)在固定激发波长处发射的荧光<sup>[21]</sup>。图2A~C中曲线a表示为固定激发波长为280 nm时,扫描300~500 nm范围时,未复合磷脂及磷脂酶解物的大豆分离蛋白的荧光发生光谱;曲线b~e表示按照一定梯度加入磷脂及磷脂酶解物后的大豆分离蛋白的荧光光谱。由图2A~C可知,当磷脂及磷脂酶解物加入到大豆分离蛋白中,均会出现荧光猝灭现象,且随着磷脂及磷脂酶解物质量浓度的增大,蛋白的荧光强度逐渐降低,这表明磷脂及磷脂酶解物均与大豆分离蛋白产生了一定的相互作用。图2A中,将未酶解磷脂加入到大豆分离蛋白当中,350 nm处荧光强度随磷脂酶解物质量浓度的变化由863.16降低至665.24;图2B中,大豆分离蛋白在350 nm处荧光强度降低程度最大,加入磷脂4 h酶解物后降低至450.74;图2C中,加入磷脂8 h酶解物后蛋白荧光强度虽有所降低但程度最小。因此,磷脂4 h酶解物对大豆分离蛋白产生强烈的猝灭作用且要高于其他两种猝灭作用,这说明SPI-Lec4h相互作用最强,

SPI-Lec8h相互作用最弱,这与酶解过程中酰基转移现象所产生的GPC有一定联系。

## 2.3 酶解时间对大豆分离蛋白-磷脂相互作用的影响



A. SPI; B. SPI-Lec; C. SPI-Lec4h; D. SPI-Lec8h。

图3 不同酶解时间大豆分离蛋白-磷脂酶解物荧光光谱

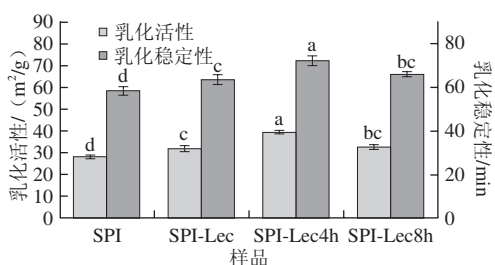
Fig. 3 3D-fluorescence spectroscopy of soybean protein isolate-lecithin hydrolysate obtained by different hydrolysis time

采用三维荧光光谱法分析了磷脂及磷脂酶解物与大豆分离蛋白结合对大豆蛋白构象及微环境的影响。其中 $\lambda_{ex}=\lambda_{em}=280$  nm处峰表示拉曼散射;  $2\lambda_{ex}=\lambda_{em}=500$  nm处峰表示瑞利散射。

$\lambda_{ex}=280$  nm、 $\lambda_{em}=340$  nm处峰表示色氨酸与酪氨酸的特征峰;  $\lambda_{ex}=230$  nm、 $\lambda_{em}=350$  nm表示多肽链结构产生的特征峰<sup>[22]</sup>。Zhang Huaxin等<sup>[23]</sup>研究表明当猝灭剂

加入到蛋白中会产生猝灭现象,且这种猝灭作用会影响蛋白质的大豆蛋白构象的变化。Xiang Yanling等<sup>[24]</sup>的研究发现酪氨酸和色氨酸残基的荧光强度与蛋白质微环境极性的变化有密切关系。由图3可知,与图3A相比磷脂(图3B)和磷脂4h酶解物(图3C)的加入使氨基酸残基的荧光强度有明显降低,这表明氨基酸残基所处微环境的极性降低,非极性基团减少。且比较图3B和图3C, SPI-Lec4h样品荧光强度降低最多,这可能是由于SPI-Lec4h样品中大豆分离蛋白与磷脂4h酶解物之间相互作用最强,促使更多的氨基酸残基包埋进入疏水区域中,从而改变了蛋白的构象和环境的极性。与图3A相比,磷脂8h酶解物(图3D)的加入同样降低了蛋白的荧光强度,但并不明显,这可能是由于较多GPC的产生, GPC由于疏水尾部的失去很难与大豆分离蛋白通过疏水作用相结合,导致相互作用减弱。另外,在多肽链结构特征峰处可明显观察到SPI-Lec、SPI-Lec4h、SPI-Lec8h样品的荧光强度均有所改变,表明磷脂及磷脂酶解物的复合均使得蛋白质多肽链的骨架伸展、蛋白结构发生变化。

#### 2.4 酶解时间对乳化活性及乳化稳定性的影响



同指标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图4 不同酶解时间对复合体系乳化活性及乳化稳定性的影响

Fig. 4 Effect of different hydrolysis times on the emulsion activity and stability of complex emulsion systems

以上分析表明,大豆分离蛋白与磷脂及磷脂酶解产物以不同程度相结合,进而导致氨基酸残基的微环境发生变化,从而导致整个蛋白质构象的变化,这种结构的变化进而改变蛋白的乳化特性。乳化活性及乳化稳定性是表征乳状液乳化特性及稳定状态的重要指标。图4为不同样品的乳化活性及乳化稳定性的结果,由图4可知, SPI-Lec4h乳化体系具有最好乳化活性值及乳化稳定性值,分别为 $38.7 m^2/g$ 和 $72.5 min$ ,与SPI乳化体系相比分别提高 $36.1\%$ 和 $22.0\%$ 。SPI-Lec及SPI-Lec8h样品的乳化活性及稳定性略微有所提高。由此可知,磷脂酶解时间的不同对乳状液的乳化特性及乳化稳定性有一定的影响。这是由于SPI-Lec4h样品中磷脂经磷脂酶A1酶解后产生LPC, LPC由于疏水基团的减少,亲水性增强,且其与大豆分离蛋白的相互作用较强(图3),通过疏水作用形成SPI-Lec4h复合体系,构成双亲性结构,使疏水性蛋白区域更好地包裹油滴,亲水性的磷脂头部更好地伸入

水相当中,降低水油间的界面张力,使其乳化特性有所提高。当酶解8h后GPC含量积累较多使得乳状液乳化活性及稳定性反而有所下降,这是由于GPC几乎失去全部疏水性结构,与大豆分离蛋白之间相互作用力减弱,且无法形成较好的双亲结构,导致界面膜无法完全包裹油滴,从而稳定性下降。

#### 2.5 酶解时间对储存稳定性的影响

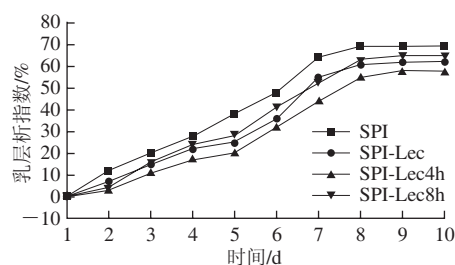


图5 不同酶解时间条件对复合体系乳层析指数的影响

Fig. 5 Effect of different hydrolysis times on creaming index of complex emulsion systems

乳层析指数是衡量乳化体系中油相和水相之间所达到的平衡稳定性的重要指标之一,可以客观地反映乳液正在储存过程中的稳定性<sup>[25]</sup>。乳层析指数间接地表示乳化体系中乳化颗粒的絮凝程度,絮凝程度越大,乳层析指数就越大,乳化稳定性越差。图5为在储存10d过程中大豆分离蛋白-磷脂酶解物复合体系的乳层析指数的变化曲线。不同磷脂酶解产物-大豆分离蛋白复合乳化体系随着乳液存放时间的延长乳层析指数逐渐增大。由图5可知,4种复合体系乳液在室温储存10d后均出现明显分层现象,其中SPI样品乳层析指数最大,乳液分层现象最为明显,其他3种复合样品乳层析指数均有所下降,且SPI-Lec4h样品与SPI样品相比分层现象有明显的改善,乳层析指数降低至 $58\%$ ,这个趋势与新鲜制备的乳液物理稳定性相一致。这表明磷脂经磷脂酶A1改性后与大豆分离蛋白共建的乳化体系可有效地抑制油滴与水相的分离,阻碍乳液的油脂上浮现象,提高乳液的储存稳定性,由此可以推断出该复合乳液的乳化特性与磷脂的酰基转移现象及蛋白-磷脂间的相互作用有密切联系。

### 3 结论

磷脂在磷脂酶A1酶解过程中,酶解4h后会发酰基转移现象, Sn-2位基团转到Sn-1位基团继续被酶解, LPC被酶解成GPC,且在酶解8h后会积累较多的GPC。

在大豆分离蛋白中加入磷脂及磷脂酶解物会发生荧光猝灭现象形成复合物。其中, SPI-Lec4h样品中相互作用较强, SPI-Lec8h样品中相互作用最弱,这与磷脂酶解过程中产生的GPC和酰基转移现象有关。

SPI-Lec4h乳液具有最好的乳化活性、稳定性及储存稳定性,但SPI-Lec8h乳液稳定性有所下降。这与大豆分离蛋白与磷脂酶解产物之间的相互作用强弱有一定关联。因此添加适度酶解时间的磷脂酶解会明显改善大豆分离蛋白乳状液的特性。

#### 参考文献:

- [1] 张根生, 岳晓霞, 李继光, 等. 大豆分离蛋白乳化性影响因素的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(7): 48-50. DOI:10.3321/j.issn.1002-6630.2006.07.005.
- [2] 李玉珍, 肖怀秋, 兰立新. 大豆分离蛋白功能特性及其在食品工业中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2008, 18(1): 121-124. DOI:10.3969/j.issn.1006-2513.2008.01.027.
- [3] CABEZAS D M, MADDOERY R, DIEHL B W K, et al. Emulsifying properties of different modified sunflower lecithins[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2012, 89(2): 355-361. DOI:10.1007/s11746-011-1915-8.
- [4] 李菊芳, 吕莹, 徐婧婷, 等. 磷脂-大豆分离蛋白复合物溶液理化与流变特性[J]. 农业机械学报, 2013, 44(8): 207-212. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2013.08.035.
- [5] 谷克仁, 金华丽. 酶改性大豆磷脂乳化稳定性比较[J]. 粮油加工, 2006, 37(5): 53-55.
- [6] 杜章斌, 滕英来, 汪勇, 等. 核磁共振氢谱法测定卵磷脂、溶血磷脂和甘油磷脂酰胆碱含量[J]. 中国油脂, 2015, 40(3): 83-86.
- [7] KASINOS M, GONI M L, NGUYEN M T, et al. Effect of hydrolysed sunflower lecithin on the heat-induced coagulation of recombined concentrated milk emulsions[J]. International Dairy Journal, 2014, 38(2): 187-194. DOI:10.1016/j.idairyj.2013.12.001.
- [8] van der MEEREN P, EL-BAKRY M, NEIRYNCK N, et al. Influence of hydrolysed lecithin addition on protein adsorption and heat stability of a sterilised coffee cream simulant[J]. International Dairy Journal, 2005, 15(12): 1235-1243. DOI:10.1016/j.idairyj.2013.12.001.
- [9] MOLINA O S E, PUPPO M C, WAGNER J R. Relationship between structural changes and functional properties of soy protein isolates-carrageenan systems[J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(6): 1045-1053. DOI:10.1016/j.foodhyd.2004.04.011.
- [10] 孙万成. 磷脂酶A1水解卵磷脂的研究[J]. 中国粮油学报, 2007, 22(2): 66-67.
- [11] IJARE O B, BEZABEH T, ALBIN N, et al. Simultaneous quantification of glycine-and taurine-conjugated bile acids, total bile acids, and choline-containing phospholipids in human bile using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010, 53(3): 667-673. DOI:10.1016/j.jpba.2010.05.028.
- [12] 李杨, 李秋慧, 王海晴, 等. 大豆蛋白-磷脂酶解物共建乳化体系性质研究[J]. 中国食品学报, 2015, 15(11): 41-47. DOI:10.16429/j.1009-7848.2015.11.007.
- [13] LI J F, LI Y T, GUO S T. Exploring the binding mechanism of lecithin to soybean 11S and 7S globulin by fluorescence spectroscopy[J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(6): 1785-1791. DOI:10.1007/s10068-014-0244-8.
- [14] 尹燕霞, 向本琼, 佟丽. 荧光光谱法在蛋白质研究中的应用[J]. 实验技术与管理, 2010, 27(2): 33-35. DOI:10.3969/j.issn.1002-4956.2010.02.011.
- [15] COMAS D I, WAGNER J R, TOMAS M C. Creaming stability of oil in water (O/W) emulsions: influence of pH on soybean protein-lecithin interaction[J]. Food Hydrocolloid, 2006, 20(7): 990-996. DOI:10.1016/j.foodhyd.2005.11.006.
- [16] 王欢, 冯红霞, 张雅娜, 等. 大豆分离蛋白-磷脂复合乳化体系的制备及pH对其影响的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(24): 159-162. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2013.24.062.
- [17] 高虹. 核磁共振(NMR)技术在油脂和食品中的应用[J]. 中国油脂, 2003, 28(9): 40-43. DOI:10.3321/j.issn:1003-7969.2003.09.011.
- [18] ADLERCREUTZ D. An enzymatic method for the syn-thesis of mixed-acid phosphatidylcholine[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2004, 81(6): 553-557. DOI:10.1007/s11746-006-0940-5.
- [19] 张康逸, 张丽霞, 屈凌波, 等. 溶血磷脂酰基转移机理及有效影响因素研究[J]. 有机化学, 2014, 40(12): 2529-2536.
- [20] POISSON L, DEVOS M, GODET S, et al. Acyl migration during deacylation of phospholipids rich in docosahexaenoic acid (DHA): an enzymatic approach for evidence and study[J]. Biotechnol Lett, 2009, 31(5): 743-749. DOI:10.1007/s10529-009-9932-5.
- [21] MACMANUS S L A, TSE M L, HEBERT P C, et al. Binding of perfluorocarboxylates to serum albumin: a comparison of analytical methods[J]. Analytical Chemistry, 2009, 82(3): 974-981. DOI:10.1021/ac902238u.
- [22] 郭明, 李铭慧, 俞庆森. 喹诺酮类药物与血清蛋白相互作用的三维荧光光谱研究[J]. 分析科学学报, 2007, 23(4): 405-409.
- [23] ZHANG H X, HUANG X, MEI P, et al. Studies on the interaction of tricyclazole with  $\beta$ -cyclodextrin and human serum albumin by spectroscopy[J]. Journal of Fluorescence, 2006, 16(3): 287-294. DOI:10.1007/s10895-006-0087-7.
- [24] XIANG Y, WU F. Study of the interaction between a new Schiff-base complex and bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Bionuclear Spectroscopy, 2010, 77(2): 430-436. DOI:10.1016/j.saa.2010.06.010.
- [25] 王金梅. 大豆蛋白热聚集行为及界面、乳化性质研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012: 24-25.