

# 不同干燥方式对南极磷虾分离蛋白结构 及功能特性的影响

洪林欣<sup>1</sup>, 尹开平<sup>1</sup>, 孙乐常<sup>1,2,3</sup>, 林端权<sup>1,2,3</sup>, 何文雄<sup>4</sup>,  
翁凌<sup>1,2,3</sup>, 曹敏杰<sup>1,2,3</sup>, 张凌晶<sup>1,2,3</sup>

- (1. 集美大学海洋食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021;  
2. 水产品深加工技术国家地方联合工程研究中心, 福建 厦门 361021;  
3. 海洋食品精深加工关键技术协同创新中心, 辽宁 大连 116034;  
4. 厦门爱逸零食研究所有限公司, 福建 厦门 361021)

**[摘要]** 采用碱溶酸沉的方法提取南极磷虾分离蛋白(krill protein isolate, KPI), 通过喷雾干燥和冷冻干燥的方式制备南极磷虾分离蛋白粉, 并对这两种分离蛋白粉的结构及功能特性进行比较分析。结果表明: 与冷冻干燥南极磷虾分离蛋白(freeze-dried krill protein isolate, FKPI)相比, 喷雾干燥南极磷虾分离蛋白(spray-dried krill protein isolate, SKPI)明度大, 色泽较好; 扫描电子显微镜结果显示, SKPI呈现出向内凹陷的不规则球状结构, 而FKPI为薄层片状结构, SKPI的堆积密度高于FKPI; 圆二色谱进一步表明, 与KPI相比, SKPI和FKPI均呈现 $\alpha$ -螺旋含量下降、 $\beta$ -转角含量增加的趋势, 其中, SKPI的 $\alpha$ -螺旋含量下降27.9%,  $\beta$ -转角含量增加12.2%, 表明喷雾干燥后蛋白质的二级结构均从有规则的结构向无规则的结构转化; SKPI持水力、持油力、乳化稳定性和起泡性等均高于FKPI, 而SKPI的溶解性、乳化性却比FKPI的差。可见, 不同的干燥方式会改变南极磷虾分离蛋白的结构特性, 并进一步影响其功能特性。

**[关键词]** 南极磷虾分离蛋白; 碱溶酸沉; 喷雾干燥; 冷冻干燥; 理化特性; 功能特性

**[中图分类号]** TS 210.1

## Effects of Different Drying Methods on the Structure and Functional Characteristics of Isolated Proteins from *Euphausia superba*

HONG Linxin<sup>1</sup>, YIN Kaiping<sup>1</sup>, SUN Lechang<sup>1,2,3</sup>, LIN Duanquan<sup>1,2,3</sup>, HE Wenxiong<sup>4</sup>,  
WENG Ling<sup>1,2,3</sup>, CAO Minjie<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Lingjing<sup>1,2,3</sup>

- (1. College of Ocean Food and Biological Engineering, Xiamen 361021, China;  
2. National and Local Joint Engineering Research Center for Deep Processing Technology of Aquatic Products,  
Xiamen 361021, China; 3. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian 116034, China;  
4. Xiamen al Snacks Lab Co., Ltd., Xiamen 361021, China)

**Abstract:** The krill protein isolate (KPI) was extracted by alkali solution and acid precipitation, and the KPI powder was prepared by spray drying and freeze drying. Compared with the freeze-dried krill protein iso-

**[收稿日期]** 2023-09-27

**[基金项目]** 福建省科技厅引导性(重点)项目“鲍鱼内脏多维度高值化利用关键技术与产业化示范”(2023N0014)

**[作者简介]** 通信作者: 张凌晶(1983—), 实验师, 从事食品生物技术研究, E-mail: imzlj@jmu.edu.cn

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

late (FKPI), the spray-dried krill protein isolate (SKPI) had higher brightness and better color. The results of scanning electron microscopy showed that SKPI exhibited an irregular spherical structure with inward concavity, while FKPI exhibited a thin layer sheet-like structure, and the former having a higher packing density than the latter. Circular dichroism further showed that both SKPI and FKPI showed a decreased  $\alpha$ -helix content and increased  $\beta$ -turn content compared with KPI. The  $\alpha$ -helix content of SKPI decreased by 27.9%,  $\beta$ -turn content increased by 12.2%, indicating that the secondary structure of the protein was transformed from regular structure to irregular structure after spray drying. SKPI had higher water and oil holding capacity, emulsifying stability, and foaming ability than FKPI, while the former had poorer solubility and emulsifying ability than the latter. Therefore, different drying methods will change the structural characteristics of KPI and further affect its functional characteristics.

**Keywords:** krill protein isolate; alkali solution and acid precipitation; spray drying; freeze drying; physical and chemical properties; functional characteristics

## 0 引言

南极磷虾 (*Euphausia superba*) 属于磷虾目磷虾科, 主要集中于南冰洋的南极洲水域, 是南极海域里特有的水产品。南极磷虾生物量巨大, 约为 4 ~ 15.5 亿 t, 仅以南极磷虾作为饵料就能够满足南极生态系统中鲸鱼、海豹、企鹅等的生存和繁衍需要<sup>[1]</sup>。南极磷虾含有干基 60% 以上的蛋白质, 具有 8 种人体必需氨基酸, 且含量均衡, 是一种优质的蛋白质来源。此外, 磷虾还含有丰富的矿物质、虾青素、多不饱和脂肪酸等活性物质<sup>[2]</sup>, 被誉为人类的未来理想食物。然而, 南极磷虾的氟含量极高, 高达 0.36 mg/g, 而成人每日氟的可摄入量仅为 3 ~ 5 mg, 食用未经一定处理的南极磷虾极易引发氟中毒<sup>[3]</sup>。南极磷虾中的氟主要存在于甲壳上, 但由于体内存在高活性的蛋白酶, 磷虾死后甲壳中的氟极易溶解到肌肉中, 极大限制了磷虾在食品中的开发与应用。针对这一问题, 国内外学者相继开发了一种基于蛋白质等电点沉淀的磷虾分离蛋白制备方法<sup>[4-5]</sup>, 通过调节料液 pH 值, 达到远离蛋白质等电点的极酸或极碱条件, 将蛋白质溶出, 离心去除甲壳, 而后再将 pH 值调至等电点使蛋白质沉淀, 最后得到低氟含量的沉淀蛋白, 即为分离蛋白, 这是一类脱除油脂和碳水化合物的蛋白质<sup>[6]</sup>。该分离技术最初广泛应用于大豆蛋白质的分离<sup>[7]</sup>, 近年来逐渐应用于水产蛋白质的提取<sup>[8-9]</sup>。采用碱溶酸沉法提取的分离蛋白, 不仅具有乳化性、水合性、吸油性、凝胶性、发泡性及结膜性等功能特性<sup>[10]</sup>, 而且蛋白质提取回收率高。Chen 等<sup>[11]</sup>的研究表明, 使用碱溶酸沉法从南极磷虾中回收蛋白质的得率可达 45% ~ 50%。

由于海上运输的不便, 以及南极磷虾中含有的丰富内源酶, 南极磷虾通常会被干燥成粉末或冻结成南极磷虾砖以便运输和储存。食品加工中处理液态物料常见的干燥方式包括真空冷冻干燥和喷雾干燥<sup>[12]</sup>。一般而言, 真空冷冻干燥前后食品品质不会发生较大改变, 但能耗高, 干燥时间长, 因此成本也比较高<sup>[13]</sup>。喷雾干燥成本则相对较低, 可以快速得到粉末产品, 减少了预冻、粉碎等工序, 但干燥温度高, 产品中的营养物质易流失, 表面易发生褐变, 影响产品品质<sup>[14]</sup>。因此, 本研究选取南极磷虾为原料, 采用碱溶酸沉的方法制备南极磷虾分离蛋白 (krill protein isolate, KPI), 分别采用真空冷冻干燥和喷雾干燥 2 种方式对蛋白质进行干燥, 通过测定乳化性、起泡性、微观结构、溶解度、电位粒径、内源荧光、二级结构等指标, 比较 2 种干燥方式对 KPI 结构和功能特性的影响, 为南极磷虾在食品领域的应用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

南极磷虾购于福建正冠渔业开发有限公司。

8-苯胺-1-萘磺酸(8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid, ANS)购于美国Sigma公司;溴化钾(KBr)为光谱纯;盐酸、氢氧化钠、十二烷基硫酸钠(SDS)、磷酸氢二钠及磷酸二氢钠等均为国产分析纯。

PT-2500 E型组织捣碎机(瑞士Kinematica公司);NR 60 CP型色差仪(中国深圳三恩时科技有限公司);Nano ZS90 Zeta型电位仪(美国Mallvern公司);Avanti J-26型大型高速冷冻离心机(美国Beckman公司);Centrifuge 5417R型台式高速离心机(德国Eppendorf公司);3100/F型酸度计(美国奥豪斯公司);Alpha 1-4 LDplus型冷冻干燥机(德国Christ公司);FP-8200型荧光分光光度计(日本Jasco公司);Chirascan型圆二色光谱仪(英国Photophysics Ltd公司);Phenom Pro型扫描电子显微镜(荷兰Phenom-World公司)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 KPI的制备

称取一定量的南极磷虾,加入4倍体积的蒸馏水进行组织捣碎,缓慢调节匀浆液pH值至11.5,在4℃下搅拌30 min,8 000g离心10 min,收集上清液,调节pH值至4.5,8 000g离心10 min,收集沉淀,即为KPI。加水复溶后将pH值调节至7.0,置于4℃环境下匀浆过夜后贮存备用。

### 1.2.2 KPI的干燥

KPI分别采用冷冻干燥及喷雾干燥处理,得到冷冻干燥南极磷虾分离蛋白(freeze-dried krill protein isolate, FKPI)及喷雾干燥南极磷虾分离蛋白(spray-dried krill protein isolate, SKPI)。喷雾干燥工艺参数:进风温度为180℃,出风温度为95℃,蠕动速度为8 r/min,风机设定为40。真空冷冻干燥工艺参数:-70℃预冻过夜;温度为-45℃,真空度为0.63 MPa。

### 1.2.3 蛋白质含量的测定

采用凯氏定氮法(GB 5009.5—2016)测定分离蛋白中的蛋白质含量。

### 1.2.4 色差的测定

色差通常用白度来表示,白度的测定参考王瑜<sup>[15]</sup>的方法。将色差仪置于室温下校准完成后,铺平适量的蛋白粉样品,使被测样品和色差仪的测试口紧密贴合,同时保持稳定并且不漏光,按下测试键,测定亮度( $L^*$ )、红度( $a^*$ )和黄度( $b^*$ )3个色度值,每个样品平行测定3次。白度的计算公式为: $W = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$ 。

### 1.2.5 扫描电子显微镜(SEM)

微观结构的测定参考付露莹等<sup>[16]</sup>的方法。将蛋白质粉固定在粘贴导电胶的进样台上,喷金后在5 kV的加速电压下拍照。

### 1.2.6 堆积密度的测定

堆积密度的测定参考刘岩龙等<sup>[17]</sup>的方法,并做适当修改。取容量为2 mL的离心管记录其初始质量为 $m_1$ ,取适量蛋白质粉使其体积读数在1 mL刻度线处,再次测定其总质量为 $m_2$ 。堆积密度的计算公式为:堆积密度/(g·mL<sup>-1</sup>) = ( $m_2 - m_1$ )/V。

### 1.2.7 KPI溶液的配制

将FKPI和SKPI样品分别用20 mmol/L PBS(pH=7.5)溶解,配制成0.1 g/L和质量分数为1%的蛋白质溶液。

### 1.2.8 溶解度的测定

溶解度的测定参考Latorres等<sup>[18]</sup>的方法,并做适当修改。将0.1 g/L的KPI溶液调整到不同pH值,在4℃下充分溶解,8 000g离心10 min后取上清液。全蛋白含量用可溶化液(20 mmol/L PBS,质量分数2% SDS,8 mol/L尿素,pH=7.5)充分溶解后的样品中所含蛋白质含量表示,采用Lorry法测定蛋白质含量。溶解度的计算公式为:溶解度/% = (上清液中蛋白质含量/全蛋白含量) × 100。

### 1.2.9 粒径与电位的测定

粒径和电位的测定参考 Toshiyuki 等<sup>[19]</sup>的方法, 并做适当修改。吸取 1 mL 0.1 g/L 的 KPI 样品于可抛式比色皿中, 控制环境温度为 25 ℃, 检测角为 90°, 采用 Nano ZS90 Zeta 电位仪进行测定。

### 1.2.10 圆二色谱的测定

圆二色谱的测定参考 Chen 等<sup>[20]</sup>的方法, 并做适当修改。采用圆二色谱法对 0.1 g/L KPI 进行静态扫描分析, 操作参数: 波长范围为 190 ~ 280 nm, 扫描速度为 10 nm/min, 带宽为 1 nm, 扫描时间为 0.5 s, 以 PBS 作为空白对照。

### 1.2.11 表面疏水性的测定

表面疏水性的测定参照 Chen 等<sup>[20]</sup>的方法, 并做适当修改。用 20 mmol/L PBS (pH = 7.5) 将 KPI 调整至不同的质量浓度 (0.002 5 ~ 0.010 0 g/L), 向溶液中分别加入 ANS, 振荡混匀, 避光反应 30 min。参数设置: 激发波长为 390 nm, 发射波长为 470 nm, 狭缝宽度为 10 nm, 以 PBS 作为空白对照。

### 1.2.12 内源荧光的测定

内源荧光的测定参考 Wang 等<sup>[21]</sup>的方法, 并做适当修改。使用 0.1 g/L 的 KPI 进行测定, 参数设置: 激发波长为 295 nm, 发射波长为 300 ~ 500 nm, 狭缝宽度为 5 nm, 扫描间隔为 0.5 nm, 扫描速率为 100 nm/min。

### 1.2.13 接触角的测定

接触角的测定参照 Li 等<sup>[22]</sup>的方法。将质量分数为 1% KPI 溶液滴在特制的硅化玻璃表面, 室温下自然干燥 24 h 后, 用接触角仪进行测量。参数设置: 5 μL 水滴体积和介质滴定速率, 记录 0 ~ 60 s 的接触角, 每个样品的测量至少重复 3 次。

### 1.2.14 持水力和持油力的测定

持水力和持油力的测定参考李明娟等<sup>[23]</sup>的方法, 并做适当修改。在离心管中称取 0.1 g 的蛋白质粉, 总质量记为  $m_1$ 。加入 1 mL 的蒸馏水 (或食用油), 混匀后室温静置 1 h, 8000g 离心 30 min 后去除水 (或油) 层, 称量离心管总质量记为  $m_2$ 。持水 (或油) 力的计算公式为: 持水 (或油) 力 / ( $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) =  $(m_2 - m_1) / m_1$ 。

### 1.2.15 乳化性的测定

乳化性指数 (emulsifying ability index, EAI) 和乳化稳定性指数 (emulsifying stability index, ESI) 的测定参照 Latorres 等<sup>[18]</sup>的方法, 并做适当修改。在 15 mL 质量分数为 1% KPI 溶液中加入 5 mL 大豆油并混匀, 20 000 r/min 均质 1 min。分别在 0、15 min 时从底部吸取 50 μL 溶液, 加入 4.95 mL 质量分数为 0.1% SDS 溶液, 振荡均匀, 测定其在 500 nm 波长处的吸光度值。EAI、ESI 的计算公式为:  $\text{EAI} / (\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}) = (2 \times 2.303 \times A_0 \times \text{DF}) / (\rho \times \varphi \times 10\,000)$ ,  $\text{ESI} / \text{min} = (A_0 \times \Delta t) / (A_0 - A_{15})$ 。其中:  $A_0$  和  $A_{15}$  分别表示均质 0、15 min 的吸光度值; DF 表示稀释倍数 (100);  $\rho$  表示蛋白质质量浓度 (g/mL);  $\varphi$  表示乳液中油的体积分数 (0.25);  $\Delta t$  表示取样间隔时间 (15 min)。

### 1.2.16 起泡性的测定

起泡性 (foaming capacity, FC) 和起泡稳定性 (foaming stability, FS) 的测定参照 Latorres 等<sup>[18]</sup>的方法, 并做适当修改。将 15 mL 质量分数为 1% KPI 溶液在 10 000 r/min 条件下均质 1 min, 分别记录均质前、均质 1 min 及均质静置 15 min 的溶液和泡沫总高度。FC、FS 的计算公式为:  $\text{FC} / \% = [(H_2 - H_1) / H_1] \times 100$ ,  $\text{FS} / \% = [(H_3 - H_1) / (H_2 - H_1)] \times 100$ 。其中:  $H_1$ 、 $H_2$  和  $H_3$  分别为均质前、中、后溶液泡沫总高度。

## 1.3 数据统计与分析

每组数据均进行 3 次平行测量。采用 Microsoft Office Excel 2019 和 SPSS19.0 对数据进行计算及统计分析, 采用 Duncan 多重检验法对各指标的显著性进行分析。



## 2 结果与分析

### 2.1 蛋白质含量

2 种不同干燥方式制备的南极磷虾分离蛋白的蛋白质含量中, FKPI 和 SKPI 的蛋白质质量分数分别为  $(77.51 \pm 2.54)\%$  和  $(81.98 \pm 1.23)\%$ , SKPI 的蛋白质含量高于 FKPI。Lin 等<sup>[24]</sup>采用碱溶解-电沉淀法提取南极磷虾蛋白质, 并经过磷酸化处理和干燥后得到蛋白质粉, 测得喷雾干燥样品中蛋白质质量分数为 78.81%, 冷冻干燥样品中蛋白质质量分数为 78.47%, 与本实验结果相近。孙乐常等<sup>[9]</sup>采用碱溶酸沉法提取蓝圆鲈分离蛋白, 测定其蛋白质质量分数为 87.1%。陈晓婷等<sup>[25]</sup>测定蓝圆鲈肌肉中蛋白质质量分数为 79.52%。对比发现, KPI 中的蛋白质含量与鱼肉中蛋白质含量接近, 具有较高的研究利用价值。

### 2.2 色差

干燥方式不同, 获得的 KPI 外观也明显不同。如图 1 所示, FKPI 呈松散的红色片状, 而 SKPI 为细腻的亮黄色粉末。表 1 给出了不同干燥方式的 KPI 色差结果, 由表 1 可见, 与 FKPI 相比, SKPI 具有较高的  $L^*$  值 ( $42.97 \pm 0.33$ )、 $b^*$  值 ( $11.18 \pm 0.19$ ) 和  $W$  值 ( $41.81 \pm 0.37$ ), 表明其亮度较高, 色泽较好; 而 FKPI 偏红, 与南极磷虾自身的颜色相近。这可能是因为冷冻干燥过程中, 较低的温度极大降低了氧化褐变和非酶褐变反应, 色泽损失小<sup>[26]</sup>。而利用喷雾干燥法生产蛋白质粉, 干燥速度快, 蛋白质受热时间短, 制备的 SKPI 粉末更亮、更白。

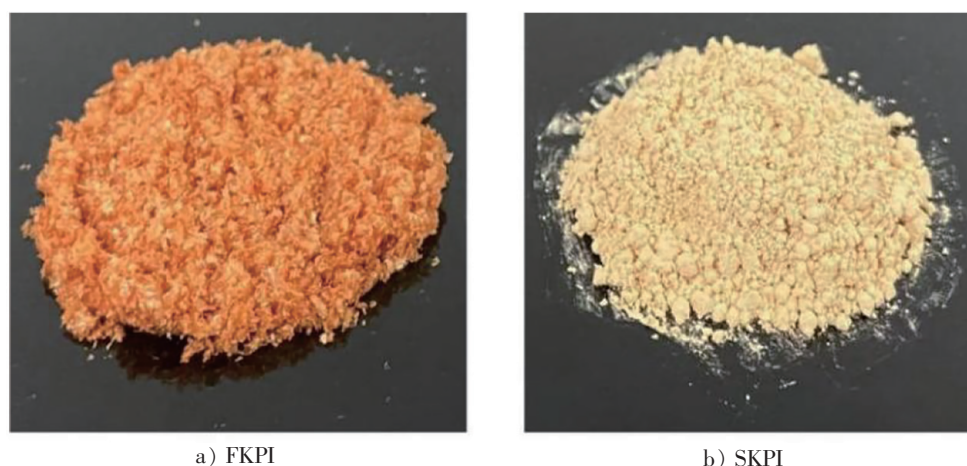


图 1 不同干燥方式干燥 KPI 样品

Fig.1 KPI samples with different drying methods

表 1 不同干燥方式 KPI 的色差比较

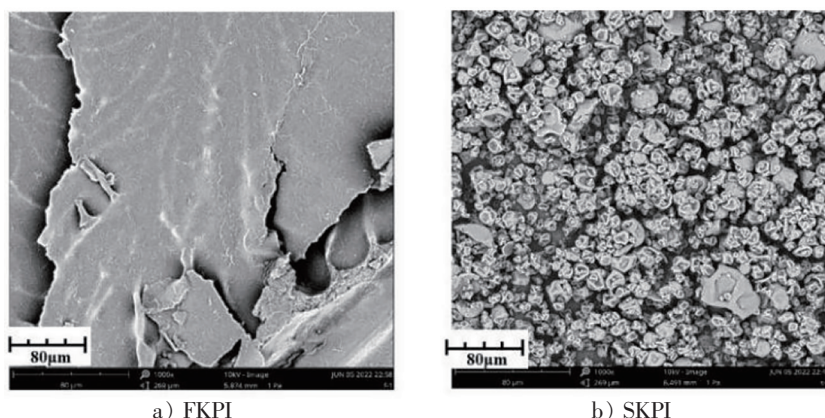
Tab.1 Comparison of color differences of KPI prepared with different drying methods

蛋白质类型	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$W$
FKPI	$32.80 \pm 0.54^b$	$7.23 \pm 0.33^a$	$7.74 \pm 0.23^b$	$31.97 \pm 0.53^b$
SKPI	$42.97 \pm 0.33^a$	$2.91 \pm 0.36^b$	$11.18 \pm 0.19^a$	$41.87 \pm 0.37^b$

说明: 不同字母上标表示色差差异显著 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 SEM

图 2 为不同干燥方式 KPI 蛋白粉在 1 000 倍的条件下观察到的微观结构。结果显示, 图 2b 的 SKPI 呈现出表面光滑、大小不一、向内凹陷的球状结构, 而图 2a 的 FKPI 形成表面较为光滑的大片状结构。这可能是因为喷雾干燥过程中, 样品通过进样器与高温空气接触, 水分快速蒸发, 液滴收缩, 形成表面光滑的球状结构; 而冷冻干燥过程中的低温及水分升华促使溶质聚集成片状结构<sup>[27]</sup>。



a) FKPI

b) SKPI

图 2 不同干燥方式 KPI 的 SEM  
Fig.2 SEM of KPI with different drying methods

## 2.4 堆积密度

由图 3 可知, SKPI 的堆积密度显著高于 FKPI。研究表明, 粒径越大、结构越疏松的物质堆积密度越小<sup>[28]</sup>, 因此, 堆积密度较小的 FKPI 结构更为疏松。对同一种物料而言, 堆积密度的大小和干燥过程中物料骨架中空气占比呈反比, 空气占比越大, 堆积密度越小<sup>[29]</sup>。在冷冻干燥过程中, 冰晶升华, 水分挥发, 体积仅发生小面积收缩<sup>[30]</sup>, 物料呈多孔状结构, 堆积时会产生空隙, 故堆积密度小; 而喷雾干燥利用瞬时高温, 将雾化后的蛋白质液滴通过热交换的方式蒸发掉水分, 物料部分塌陷, 体积明显收缩, 呈现更为干燥的小粒径粉状, 堆积密度相对较高。

## 2.5 溶解度、粒径与电位

如图 4a 所示, 分离蛋白在不同 pH 值条件下的溶解度不同, 其中, FKPI 的溶解度比 SKPI 的高, 但 2 种干燥方式下获得的 KPI 溶解度变化趋势是一致的, 二者都在 pH = 4.0 时溶解度最小; 随着 pH 值的增加, 溶解度也逐渐增加。KPI 的等电点接近 4.0, 此时, 分散体系的净电荷最小, 溶液中静电斥力降低, 蛋白质容易发生聚集沉淀导致溶解度降低; 远离等电点时, 净电荷和静电斥力增加, 溶解度升高<sup>[31-32]</sup>。与 SKPI 相比, FKPI 溶解度更高, 这可能是由于喷雾干燥过程中, 蛋白质的处理温度较高, 最初被埋藏在分子内部的带电残基暴露出来, 蛋白质变性展开, 且喷雾干燥促使蛋白质表面形成一层高抗湿薄膜<sup>[33]</sup>, 水分子难以进入蛋白质分子内部, 造成 SKPI 的溶解性较差。此外, 有学者认为, 在冷冻干燥条件下, 蛋白质中的水分由冻结状态升华为水汽, 使蛋白质能够维持原来的结构, 蛋白质损失程度较低, 能够更好地和水形成氢键作用, 增加溶解度<sup>[34]</sup>。

不同干燥方式的 KPI 的粒径结果如图 4b 所示, 可见, FKPI 和 SKPI 的粒径均呈现双峰的分布, 且 SKPI 表现出更低的粒径。分散系数 (polymer dispersity index, PDI) 表示颗粒在溶液中的均匀程度, PDI 越小, 溶液越均匀。SKPI 的 PDI 显著低于 FKPI, 表明 SKPI 在溶液中的均匀程度更高。这可能是因为在冻干过程中, 蛋白质冻结成大小不一的固体骨架, 水分升华后, 蛋白质固体骨架保持原有的形态, 因此颗粒粒径分布相对不均匀。

Zeta 电位是表征分散体系稳定性的重要指标, Zeta 电位绝对值越高, 颗粒间的静电斥力越大, 蛋白质溶液越稳定。水相中颗粒分散稳定性的分界值在 30 mV 左右<sup>[35]</sup>。如图 4c 所示, FKPI 的 Zeta 电位绝对值显著高于 SKPI ( $P < 0.05$ ), 说明冷冻干燥后, 表面所带的负电荷增加, 更多同性电荷的排斥使蛋白质溶液的分散稳定性较高, 蛋白质聚集减少, 溶解度增大<sup>[36]</sup>。

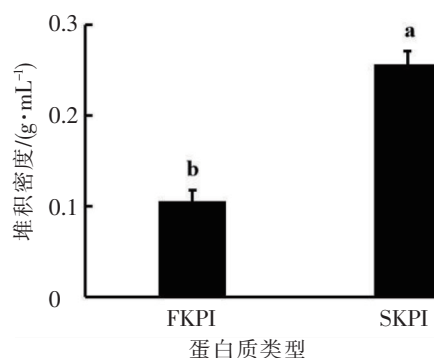


图 3 不同干燥方式 KPI 的堆积密度  
Fig.3 Packing density of KPI with different drying methods

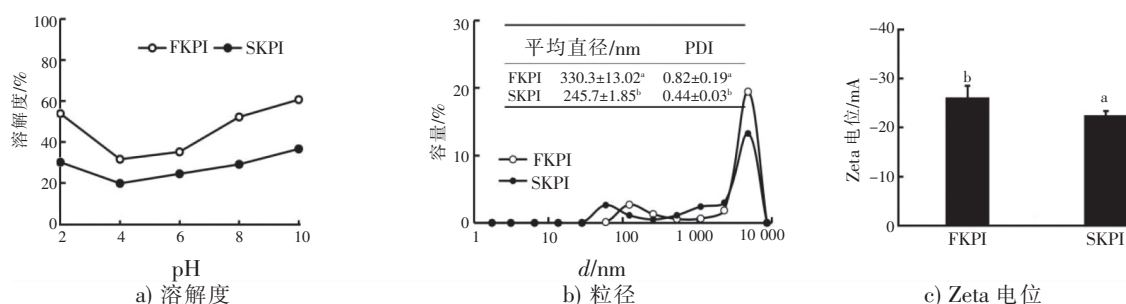


图4 不同干燥方式下KPI的溶解度、粒径和Zeta电位

Fig.4 Solubility, particle size and Zeta potential of KPI with different drying methods

## 2.6 圆二色谱

圆二色谱已被广泛应用于分析蛋白质的二级结构。图5给出了干燥前后南极磷虾分离蛋白的圆二光谱。由图5可见, FKPI、SKPI和KPI均显示出典型的 $\alpha$ -螺旋特征峰, 即在接近196 nm处有一个正峰, 在208、222 nm处有2个负峰<sup>[37]</sup>。干燥过程中的一些物理条件(喷雾干燥过程中的雾化、瞬时高温, 以及冷冻干燥过程中的冻结、升华)会改变蛋白质构象, 影响蛋白质分子的二级结构<sup>[38]</sup>。

表2显示, 相比于KPI, SKPI的 $\alpha$ -螺旋占比减少了28.8%,  $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角和无规则卷曲的占比均有所增加,  $\beta$ -折叠的占比由0增加至16.2%。 $\alpha$ -螺旋反映出蛋白质分子结构的有序性,  $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角和无规则卷曲代表分子的灵活松散性。这表明, 在喷雾干燥过程中, 较高的处理温度影响了SKPI蛋白质分子的理化及功能特性, 使其结构更加松散和无序。与KPI相比, FKPI的 $\alpha$ -螺旋占比仅下降了1.3%, 说明低温环境较好地保留了蛋白质的结构。黄艳玲等<sup>[39]</sup>对不同喷雾温度条件下生物解离浓缩蛋白粉中蛋白质二级结构含量的比较发现, 在温度为180℃时,  $\alpha$ -螺旋结构中的氨基与生物解离浓缩蛋白粉中的还原性羰基发生美拉德反应,  $\alpha$ -螺旋结构的含量最少, 无规则卷曲结构含量最多, 表明较高温度条件下生物解离浓缩蛋白颗粒所含蛋白质的结构变得更加松散, 最终使蛋白质结构发生变化。

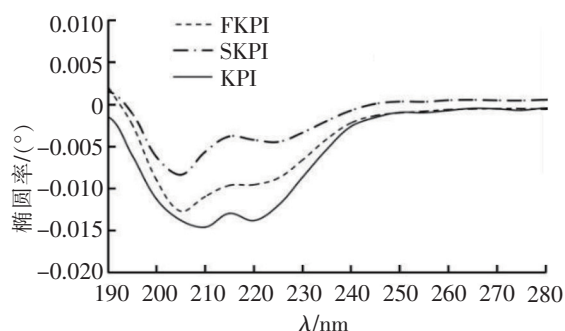


图5 不同干燥方式KPI的圆二色谱图

Fig.5 Circular dichroism chromatograms of KPI with different drying methods

表2 不同干燥方式KPI的二级结构含量  
Tab.2 Secondary structure content of KPI with different drying methods

单位: %

蛋白质类型	$\beta$ -折叠	无规则卷曲	$\alpha$ -螺旋	$\beta$ -转角
FKPI	0	0	96.4	3.6
SKPI	16.2	0.4	68.9	14.5
KPI	0	0	97.7	2.3

## 2.7 表面疏水性与内源性荧光

ANS疏水性探针与蛋白质分子暴露出的疏水区域结合, 通过荧光强度的变化来表征蛋白质分子的变形程度<sup>[40]</sup>。如图6a所示, 与FKPI相比, SKPI的表面疏水性更大。这可能是由于喷雾干燥的温度较高, 破坏了分子内部的疏水相互作用, 蛋白质间分子链展开, 内部的疏水性基团暴露, 因此表面疏水性增加<sup>[41]</sup>。

蛋白质内源性色氨酸荧光对周边环境的极性十分敏感, 因此被广泛用于检测蛋白质三级结构的变化<sup>[42]</sup>。图6b是KPI的内源荧光结果, 可以看出, 与FKPI相比, SKPI的内源荧光较低。这可能是因为在喷雾干燥过程中, 瞬时高温使得蛋白质结构遭到破坏, 蛋白质部分或完全展开, 暴露于亲水环境中, 增强了所属微环境的极性, 进而发生了荧光淬灭的现象, 导致荧光强度降低<sup>[43]</sup>; 而在冷冻干燥



过程中,水分升华,蛋白质原有的排列骨架较好地保留,样品内部结构疏松分散,暴露出的氨基酸残基在激发模式下发出荧光。

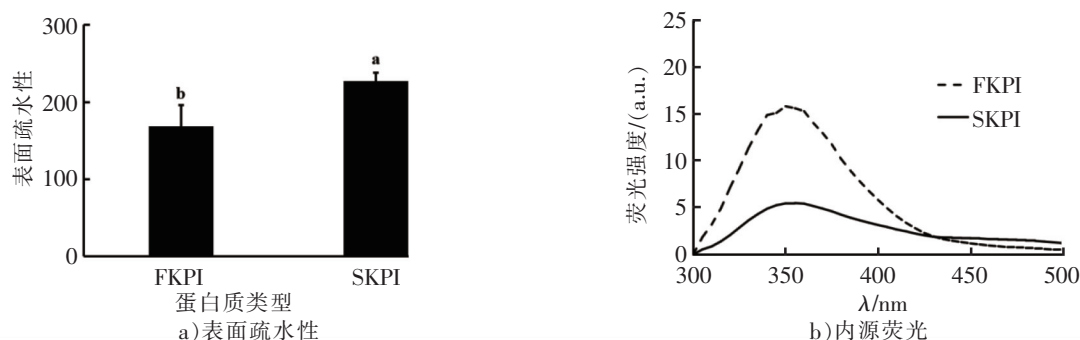


图 6 不同干燥方式 KPI 的表面疏水性和内源荧光

Fig.6 Surface hydrophobicity and endogenous fluorescence of KPI with different drying methods

## 2.8 接触角

接触角大小是评价粉体润湿性的常用指标。当样品的接触角小于  $90^\circ$  时,其亲水性较强,反之则疏水性较强。如图 7 所示,FKPI 的接触角为  $39.01^\circ$ ,SKPI 的接触角为  $50.83^\circ$ ,FKPI 的接触角值显著低于 SKPI,说明其具有较好的润湿性。这可能和干燥后样品的微观结构有关,SKPI 表面光滑,呈非对称的球形结构,且粉体直径较小,喷雾干燥后蛋白质表面形成一层高抗湿薄膜<sup>[33]</sup>,水分子通过水化作用才能渗透进蛋白质分子内部,而 FKPI 呈现出薄层片状结构,更有利于水分在其中流动。另一方面,喷雾干燥过程温度较高,蛋白质结构遭到改变甚至破坏,从而使疏水基团暴露,疏水性增强,溶解度降低,该结果与上述表面疏水性的结果一致。

## 2.9 持水力和持油力

持水力、持油力表征的是蛋白质与水、脂肪的结合能力。如图 8 所示,SKPI 的持水力在  $3.0 \text{ g/g}$  左右,显著高于 FKPI ( $P < 0.05$ )。其原因可能是,在喷雾干燥过程中,雾化后的蛋白质样品与高温空气接触,水分快速蒸发,制备的蛋白质粉水分含量较低,当其与水接触时,蛋白质-水相互作用程度更高,与水分子结合程度更大,导致 SKPI 的持水力更佳。另一方面,二者的持油力刚好相反,FKPI 的持油力显著高于 SKPI ( $P < 0.05$ ),推测可能是因为 FKPI 的结构疏松多孔,有利于油脂进入蛋白质分子内,同时油脂的烃基侧链与蛋白质的非极性侧链相结合,导致 FKPI 的持油力较高<sup>[15]</sup>。Joshi 等<sup>[44]</sup>发现冷冻干燥扁豆分离蛋白质粉疏松的内部环境,增加了与油接触时的有效面积,对蛋白质的持油力有积极作用。

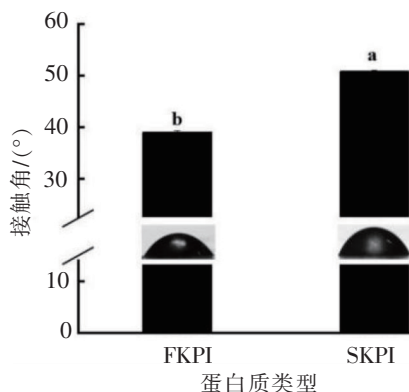


图 7 不同干燥方式 KPI 的接触角

Fig.7 Contact angle of KPI with different drying methods

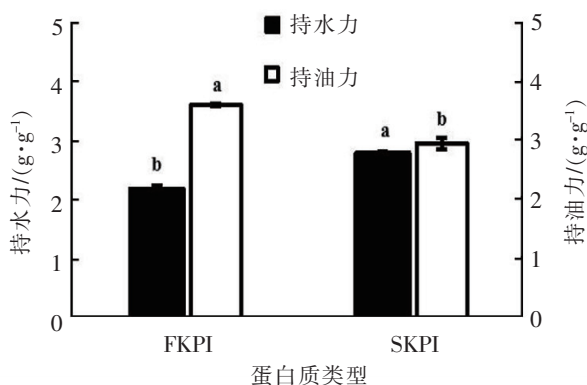


图 8 不同干燥方式 KPI 的持水力和持油力

Fig.8 Water and oil holding capacity of KPI with different drying methods



## 2.10 乳化性

乳化性是蛋白质将水和油结合在一起形成乳状液的能力, 而乳化稳定性是在一定时间内蛋白质维持油-水界面稳定, 使其不受破坏的能力<sup>[45]</sup>。如图9所示, FKPI的乳化性高于SKPI, 推测可能是因为FKPI的Zeta电位绝对值较高, 分子间排斥力的增加大大阻碍了蛋白质聚集, 使分子灵活性更高, 促进蛋白质在油-水界面的吸附<sup>[32]</sup>。蛋白质的乳化性可能还受到自身构象的影响, 喷雾干燥过程中的高温处理使蛋白质构象发生转变, 失去了部分生理活性, 导致乳化性较差。孔慧广等<sup>[46]</sup>也发现, 喷雾干燥的高温使得亚麻籽分离蛋白非极性基团增加, 改变了蛋白质表面亲水疏水基团的分布, 巯基的暴露和二硫键的形成降低了分子的柔性, 对蛋白质形成乳状液的能力产生了负面的影响。FKPI的乳化稳定性低于SKPI, 这可能与SKPI更不规则的空间结构有关, 喷雾干燥的高温处理后, 更多疏水基团的暴露对乳化液起到了稳定作用<sup>[47]</sup>, 增加其双亲性, 界面吸附膜更加稳固。

## 2.11 起泡性

起泡性是蛋白质溶解在水中, 在气-液界面形成薄膜, 降低气-液界面的表面张力从而帮助形成气泡的能力, 而起泡稳定性是蛋白质使所产生的泡沫稳定存在的能力<sup>[48]</sup>。图10为不同干燥方式KPI的起泡性和起泡稳定性, 可见, SKPI的起泡性和起泡稳定性均显著高于FKPI。造成此种现象的原因可能是, 喷雾干燥的高温使SKPI的结构展开, 展开的蛋白质分子间彼此作用形成更加稳定的网络结构, 提高了其吸附到空气-水界面的能力, 并在起泡过程中降低表面张力, 因此SKPI的起泡性更高<sup>[47]</sup>。FKPI较高的溶解度增加了蛋白质的黏度, 促进界面处形成多层黏性蛋白, 对气泡的起泡性和气泡稳定性产生负面影响。还有一种可能是SKPI的溶解度较低, 具有较高的表面疏水性, 增加了气-液界面的表面黏度, 泡沫不易破裂和结合, 进而泡沫稳定性也更高<sup>[49]</sup>。

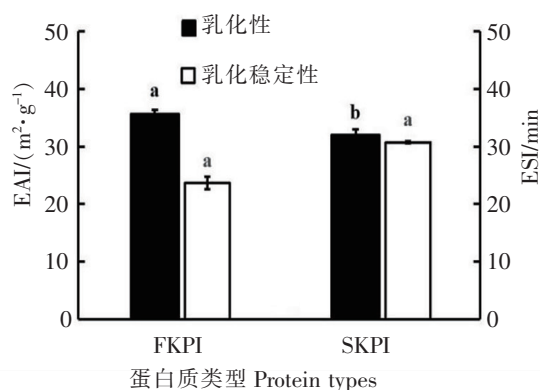


图9 不同干燥方式 KPI 的乳化性和乳化稳定性  
Fig.9 Emulsification and stability of KPI with different drying methods

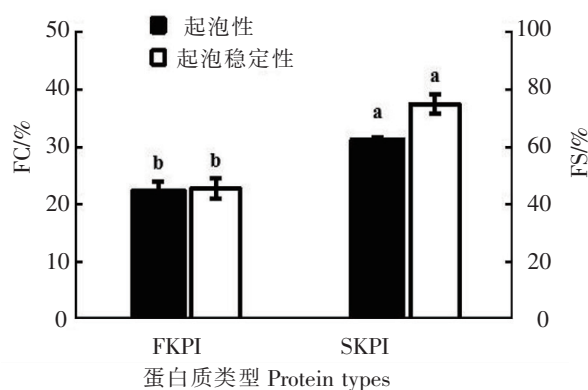


图10 不同干燥方式 KPI 的起泡性和起泡稳定性  
Fig.10 Foaming properties and foaming stability of KPI with different drying methods

## 3 结论

本文探究了喷雾干燥和真空冷冻干燥2种干燥方式对KPI的结构及功能特性的影响, 结果表明: 与FKPI相比, SKPI粉体亮度高、色泽好、粉质均匀、持水力、乳化稳定性、起泡性能较好, 整体呈向内凹陷的球状结构, 但其溶解度不如FKPI, 且高温处理破坏了SKPI的二、三级结构,  $\alpha$ -螺旋含量下降, 无规卷曲和 $\beta$ -转角含量增加, 表面疏水性与FKPI相比也更高; FKPI虽然色泽欠佳, 但具有更好的溶解度及乳化性, 呈表面较为光滑的大片状结构, 结构损伤小, 保留了KPI的理化性质。

## [ 参 考 文 献 ]

- [1] 王灵昭. 南极磷虾(*Euphausia superba*)蛋白质深加工新技术研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2013.
- [2] 廖鄂. 南极磷虾蛋白提取技术研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2014.
- [3] PAN J M, ZHANG H S, LIU X Y. Study on chemical forms of fluorine enrichment of antarctic krill[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2000, 19(4): 63-71.
- [4] CHEN Y C, JACZYNSKI J. Protein recovery from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processing byproducts via isoelectric solubilization/precipitation and its gelation properties as affected by functional additives[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2007, 55(22): 9079-9088.
- [5] QI X M, LIAO E, WANG L, et al. Extracting protein from antarctic krill (*Euphausia superba*) [J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2016, 25(4): 597-606.
- [6] 韩佳润. 基于扇贝分离蛋白-茶多酚的输送载体的构筑研究[D]. 大连:大连工业大学,2023.
- [7] 林凤岩, 黄永娜, 褚洪俊, 等. 我国大豆蛋白加工产业现状及发展趋势[J]. 中国油脂, 2023, 48(11): 33-37.
- [8] 孙乐常, 刘伟峰, 林怡晨, 等. 碱性蛋白酶限制性酶解对蓝圆鲈分离蛋白功能特性的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(2): 23-29.
- [9] 孙乐常, 林怡晨, 刘伟峰, 等. 蓝圆鲈酸/碱等电点沉淀法分离蛋白凝胶特性与消化特性[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 22-29.
- [10] 叶文雯. 离子强度对大豆分离蛋白酶促凝胶特性的影响研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2020.
- [11] CHEN Y C, TOU J C, JACZYNSKI J. Amino acid and mineral composition of protein and other components and their recovery yields from whole antarctic krill (*Euphausia superba*) using isoelectric solubilization/precipitation[J]. Journal of Food Science, 2009, 74(2): 31-39.
- [12] 于笛, 郑杰, 陈冲, 等. 干燥方式对四角蛤蜊酶解物功能特性和抗氧化活性的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(8): 1834-1840.
- [13] 乔晓玲, 闫炜炜, 张原飞, 等. 食品真空冷冻干燥技术研究进展[J]. 食品科学, 2008, 29(5): 469-474.
- [14] 杨浩, 蔡源源, 唐敏, 等. 喷雾干燥技术及其应用[J]. 河南大学学报(医学版), 2013, 32(1): 71-74.
- [15] 王瑜. 荞麦胰蛋白酶抑制剂对蓝圆鲈鱼糜凝胶特性的影响[D]. 厦门:集美大学,2022.
- [16] 付露莹, 原双进, 陈浩, 等. 喷雾干燥与真空冷冻干燥对核桃粕红枣复合粉品质的影响[J]. 食品与机械, 2019, 35(1): 204-208.
- [17] 刘岩龙, 张彩丽, 李婷婷, 等. 不同干燥方式对櫻桃果粉品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(7): 26-30.
- [18] LATORRES J M, RIOS D G, SAGGIOMO G, et al. Functional and antioxidant properties of protein hydrolysates obtained from white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 2018, 55: 721-729.
- [19] TOSHIYUKI T, SATOSHI S, TOSHIHIDE S, et al. Oral administration of polymer hyaluronic acid alleviates symptoms of knee osteoarthritis; a double-blind, placebo-controlled study over a 12-month period[J]. The Scientific World Journal, 2012, 2012: 167928.
- [20] CHEN L, CHEN J S, REN J Y, et al. Modifications of soy protein isolates using combined extrusion pre-treatment and controlled enzymatic hydrolysis for improved emulsifying properties[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25: 887-897.
- [21] WANG Y, YING Z, WANG X X, et al. Origin of high-pressure induced changes in the properties of reduced-sodium chicken myofibrillar protein gels containing  $\text{CaCl}_2$ : physicochemical and molecular modification perspectives-ScienceDirect[J]. Food Chemistry, 2020, 319: 126535.
- [22] LI P S, JIN Y G, SHENG L. Impact of microwave assisted phosphorylation on the physicochemistry and rehydration behaviour of egg white powder[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105380.
- [23] 李明娟, 张雅媛, 游向荣, 等. 不同干燥技术对核桃粕蛋白粉体特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(16): 164-170.
- [24] LIN N, LIU B, LIU Z, et al. Effects of different drying methods on the structures and functional properties of phosphorylated antarctic krill protein[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(11): 3690-3699.
- [25] 陈晓婷, 吴靖娜, 路海霞, 等. 蓝圆鲈肌肉中营养成分分析与评价[J]. 渔业现代化, 2016, 43(1): 56-61.

- [26] 高玲,葛邦国,和法涛,等.不同干燥方式对银杏粉品质的影响[J].中国果菜,2019,39(3):21-24.
- [27] GONG K J,SHI A M,LIU H Z,et al.Emulsifying properties and structure changes of spray and freeze-dried peanut protein isolate[J].Journal of Food Engineering,2016,170:33-40.
- [28] ZHANG Z P,SONG H G,PENG Z,et al.Characterization of stipe and cap powders of mushroom(*Lentinus edodes*) prepared by different grinding methods[J].Journal of Food Engineering,2012,109(3):406-413.
- [29] KOC B,EREN I,ERTEKIN F K.Modelling bulk density,porosity and shrinkage of quince during drying;the effect of drying method[J].Journal of Food Engineering,2008,85(3):340-349.
- [30] 何玉倩,宋晓燕,刘宝林.干燥方式对火龙果果皮理化特性的影响[J].食品与发酵工业,2019,45(2):159-165.
- [31] YIN H X,PU J N,WAN Y T,et al.Rheological and functional properties of catfish skin protein hydrolysates[J].Journal of Food Science,2010,75(1):11-17.
- [32] 刘柯欣,林松毅,胡胜杰,等.南极磷虾蛋白营养与功能特性及食用安全性研究进展[J].食品科学,2022,43(7):263-272.
- [33] ADHIKARI B,HOWES T,SHRESTHA A K,et al.Development of stickiness of whey protein isolate and lactose droplets during convective drying[J].Chemical Engineering and Processing:Process Intensification,2007,46(5):420-428.
- [34] 卢亚东.不同干燥方式燕麦蛋白的性质及对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[D].太原:山西农业大学,2022.
- [35] ROLAND I.Systematic characterization of oil-in-water emulsions for formulation design[J].International Journal of Pharmaceutics,2003,263(1/2):85-94.
- [36] 杨健,富天昕,张舒,等.pH值对米糠清蛋白和球蛋白的结构、溶解性及表面疏水性的影响[J].食品科学,2020,41(18):51-57.
- [37] YANG Y F,HE S D,YE Y K,et al.Enhanced hydrophobicity of soybean protein isolate by low-pH shifting treatment for the sub-micron gel particles preparation[J].Industrial Crops and Products,2020,151:112475.
- [38] YE Q Y,WOO M W,SELOMULYA C.Modification of molecular conformation of spray-dried whey protein microparticles improving digestibility and release characteristics[J].Food Chemistry,2019,280:255-261.
- [39] 黄艳玲,任昊天.喷雾干燥温度对生物解离浓缩蛋白粉微观结构的影响[J].食品工业科技,2020,41(24):50-54.
- [40] CAO L W,SU S S,REGENSTEIN J M,et al.Ca<sup>2+</sup>-induced conformational changes of myosin from silver carp(*Hypophthalmichthys molitrix*) in gelation[J].Food Biophysics,2015,10:447-455.
- [41] 许英一,刘迪,林巍,等.热处理改性燕麦蛋白部分性质与表面疏水性关系[J].食品工业,2021,42(8):176-179.
- [42] 汪兰,吴文锦,乔宇,等.冻藏条件下魔芋葡甘聚糖降解产物对肌原纤维蛋白结构的影响[J].食品科学,2015,36(22):244-249.
- [43] 徐永霞,王瑞,尹一鸣,等.热处理对鱼肌原纤维蛋白结构及腥味物质结合能力的影响[J].中国食品学报,2020,20(9):131-138.
- [44] JOSHI M,ADHIKARI B,ALDRED P,et al.Physicochemical and functional properties of lentil protein isolates prepared by different drying methods[J].Food Chemistry,2011,129(4):1513-1522.
- [45] KARACA A C,LOW N,NICKERSON M.Emulsifying properties of chickpea,faba bean,lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction[J].Food Research International,2011,44(9):2742-2750.
- [46] 孔慧广,田少君.两种干燥方式对亚麻籽分离蛋白功能性质的影响研究[J].中国油脂,2018,43(4):20-24.
- [47] 戚亭,刘宝林,刘志东,等.磷酸化改性对南极磷虾蛋白功能特性的影响[J].食品安全质量检测学报,2018,9(8):1829-1833.
- [48] 纵伟,陈怡平.不同干燥方法对花生蛋白功能特性的影响[J].食品工程,2007(3):48-50.
- [49] MA Z,BOYE J I,SIMPSON B K,et al.Thermal processing effects on the functional properties and microstructure of lentil,chickpea,and pea flours[J].Food Research International,2011,44(8):2534-2544.

(责任编辑 马建华 英文审校 刘静雯)