

## 不同制备方法对魔芋飞粉蛋白质结构及功能特性的影响

何怀叶, 孔令辉, 裴迅, 周望庭, 吴慕慈, 张瑞, 何静仁

### Effects of Different Preparation Methods on Protein Structure and Functional Properties of Konjac Fly Powder

HE Huaiye, KONG Linghui, PEI Xun, ZHOU Wangting, WU Muci, ZHANG Rui, and HE Jingren

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024040027>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 不同提取工艺对油茶籽粕蛋白质结构及功能特性的影响

Effects of Different Extraction Processes on the Structure and Functional Properties of Camellia Seeds Protein

食品工业科技. 2023, 44(14): 102-110 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023010146>

#### 多酚的功能性质及与蛋白质、多糖相互作用研究进展

Advances in Studies on the Functional Properties of Polyphenols and Their Interactions with Proteins and Polysaccharides

食品工业科技. 2021, 42(11): 405-413 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070358>

#### 微波处理对高粱理化性质及蛋白质结构特性的影响研究

Effects of Microwave Treatment on Physicochemical Properties and Protein Structure Characteristics of Sorghum

食品工业科技. 2021, 42(23): 27-33 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010203>

#### 不同品种汉麻籽蛋白质结构与功能特性分析

Analysis of Protein Structure and Functional Properties of Hemp Seeds of Different Varieties

食品工业科技. 2023, 44(10): 47-53 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070122>

#### 单宁酸和蛋白质相互作用机制及其对蛋白质理化及功能特性影响的研究进展

Interaction Mechanism between Tannic Acid and Protein and Its Effects on Physicochemical and Functional Properties of Protein

食品工业科技. 2022, 43(14): 453-460 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021070225>

#### 低共熔溶剂提取的黄精多糖性质分析

Properties of Polysaccharides from *Polygonatum sibiricum* Extracted with Deep Eutectic Solvents

食品工业科技. 2022, 43(11): 52-57 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080114>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

何怀叶, 孔令辉, 裴迅, 等. 不同制备方法对魔芋飞粉蛋白质结构及功能特性的影响 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(7): 49–59. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040027

HE Huaiye, KONG Linghui, PEI Xun, et al. Effects of Different Preparation Methods on Protein Structure and Functional Properties of Konjac Fly Powder[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(7): 49–59. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040027

· 研究与探讨 ·

# 不同制备方法对魔芋飞粉蛋白质结构及功能特性的影响

何怀叶<sup>1</sup>, 孔令辉<sup>1</sup>, 裴迅<sup>1</sup>, 周望庭<sup>1,2</sup>, 吴慕慈<sup>1,2</sup>, 张瑞<sup>1,2,3,\*</sup>, 何静仁<sup>1,2,3,\*</sup>

(1. 武汉轻工大学硒科学与工程现代产业学院, 湖北武汉 430023;

2. 国家富硒农产品加工技术研发专业中心, 湖北省绿色富硒农产品精深加工工程技术研究中心,  
湖北武汉 430023;

3. 湖北省农产品加工与转化重点实验室, 湖北武汉 430023)

**摘要:** 魔芋飞粉是魔芋精粉加工的主要副产物, 富含丰富的蛋白质。为提高飞粉蛋白质利用率, 本研究采用碱溶酸沉、低共熔溶剂 (Deep Eutectic Solvents, DESs) -透析法和 DESs-醇沉法制备 3 种飞粉蛋白质, 并利用 SDS-PAGE 电泳、扫描电镜、紫外与红外光谱等方法探究制备方法对蛋白质结构和功能特性的影响。结果表明, 3 种方法制备的蛋白质纯度为 67.8%~85.3%, 且主要由 10~55 kDa 的低分子量亚基组成。与传统的碱溶酸沉法相比, DESs 提取的飞粉蛋白质分子量组成并未发生改变, 但二级结构相对含量发生显著变化。热重分析曲线显示 3 种飞粉蛋白质在 300 °C 左右均发生热降解, 其中 DESs-透析法的飞粉蛋白质热稳定性最佳 (316 °C)。此外, DESs 提取的蛋白质功能特性均优于碱溶酸沉法, 其中 DESs-透析的蛋白质具有更好的持水持油性和乳化性能。本研究将为拓展魔芋飞粉蛋白在食品工业生产中的应用提供数据支撑。

**关键词:** 魔芋飞粉, 蛋白质, 低共熔溶剂 (DESs), 结构特征, 功能性质

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)07-0049-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040027

本文网刊:



## Effects of Different Preparation Methods on Protein Structure and Functional Properties of Konjac Fly Powder

HE Huaiye<sup>1</sup>, KONG Linghui<sup>1</sup>, PEI Xun<sup>1</sup>, ZHOU Wangting<sup>1,2</sup>, WU Muci<sup>1,2</sup>, ZHANG Rui<sup>1,2,3,\*</sup>, HE Jingren<sup>1,2,3,\*</sup>

(1. School of Modern Industry for Selenium Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University,  
Wuhan 430023, China;

2. National R & D Center for Se-rich Agricultural Products Processing, Hubei Engineering Research Center for Deep  
Processing of Green Se-rich Agricultural Products, Wuhan 430023, China;

3. Hubei Key Laboratory for Processing and Transformation of Agricultural Products, Wuhan 430023, China)

**Abstract:** Konjac fly powder is the primary by-product of konjac refined flour processing, containing an abundance of proteins. In this study, three types of konjac fly powder proteins were prepared using alkaline extraction and acid precipitation, deep eutectic solvents (DESs)-dialysis and DESs-alcohol precipitation to enhance protein utilization. The impact of the preparation methods on the structural and functional properties of the proteins was investigated using SDS-PAGE, scanning electron microscopy, as well as UV and IR spectroscopy. The results revealed that the purity of the

收稿日期: 2024-04-03

基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究项目 (D20221601)。

作者简介: 何怀叶 (2001-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能性食品营养与功效评价, E-mail: [hehuaiye@outlook.com](mailto:hehuaiye@outlook.com)。

\* 通信作者: 张瑞 (1991-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 植物蛋白与食品物理加工技术, E-mail: [ruizhangwhpu@126.com](mailto:ruizhangwhpu@126.com)。

何静仁 (1974-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品化学与营养、农产品加工及贮藏工程, E-mail: [jingren.he@whpu.edu.cn](mailto:jingren.he@whpu.edu.cn)。

proteins prepared by the three methods ranged from 67.8% to 85.3%, mainly consisting of low molecular weight subunits in the range of 10~55 kDa. In comparison with the traditional alkaline extraction and acid precipitation, the molecular weight composition of the konjac proteins extracted by DESs remained unchanged, but there was a significant alteration in the relative content of the secondary structure. The TGA curves revealed that all three types of konjac proteins underwent thermal degradation at approximately 300 °C, with the protein extracted through DESs-dialysis exhibiting the highest thermal stability at 316 °C. Furthermore, the functional properties of proteins extracted by DESs were superior to those obtained by the alkaline extraction and acid precipitation, with the protein prepared through DESs-dialysis demonstrating better water and oil holding capacities as well as emulsifying properties. This study will provide valuable data to support the expanded application of konjac fly powder protein in the food industry.

**Key words:** konjac fly powder; proteins; deep eutectic solvents (DESs); structural features; functional properties

魔芋是我国传统的药食两用植物,为天南星科魔芋属,富含多种化学营养成分,主要包括葡甘露聚糖、蛋白质、淀粉、生物碱和微量元素等<sup>[1]</sup>。在我国魔芋通常被加工成魔芋精粉以提高其经济价值,因魔芋精粉具有低热量、高膳食纤维、高强度与高粘度等特点,在食品生产中被广泛作为增稠剂、凝胶剂和稳定剂等食品添加剂来使用<sup>[2]</sup>。魔芋飞粉是魔芋精粉加工的主要废弃副产物,成分复杂多样,除含有生物碱及单宁多酚外,还富含淀粉多糖及蛋白质,但其食用化开发利用程度极低,常作废弃处理,造成了极大的资源浪费及环境污染<sup>[3~4]</sup>。

冲增哲等<sup>[5]</sup>研究表明,魔芋飞粉含粗蛋白27.3%,游离氨基酸2.25%,全氮素中至少有84.0%的成分是蛋白质和氨基酸,是一种潜在的植物蛋白资源。与动物蛋白食品相比,植物蛋白加工的食品往往含有更高水平的纤维和生物活性物质,并具有一定的降血脂血糖和抗氧化特性,将植物蛋白作为动物蛋白的替代品或补充剂近年来已引起了专家学者们的广泛关注<sup>[6]</sup>。赵姗姗等<sup>[7]</sup>在酶解魔芋飞粉制备高F值寡肽最佳工艺条件的研究中,采用pH9.0的Tris-HCl缓冲液浸提获得了魔芋飞粉中约85.0%的蛋白质。赵志峰<sup>[8]</sup>采用超声辅助提取魔芋飞粉蛋白质,利用超声波空化作用破碎植物细胞、释放内容物,获得最佳工艺参数为:温度40 °C,提取体系pH10.0,提取时间30 min,料液比1:30,超声频率为15 kHz,超声10 min。贺楠等<sup>[9]</sup>采用碱溶酸沉法提取魔芋飞粉蛋白质,最优提取条件为提取温度40 °C、提取液pH10.0、提取时间40 min、料液比1:30,并测定过滤干燥的魔芋飞粉蛋白质的提取率为36.59%,蛋白质纯度为74.73%,且具有较好的乳化性能。周亚丽<sup>[10]</sup>采用碱溶酸沉法提取飞粉蛋白质制备魔芋ACE抑制肽,测得其等电点为pH3.8,蛋白纯度可达到54.89%。但整体来说,目前对于魔芋飞粉蛋白质的提取方法与其功能特性的研究仍开展得较少。

目前国内外有关植物蛋白提取分离工艺的研究及应用结果表明<sup>[11~12]</sup>,传统的碱溶酸沉提取工艺作为植物蛋白的经典制备方法,虽已实现工业化生产,但提取靶向性较低,产品感官及物化性能相对较差,尤其色深、味苦和溶解性差仍是其主要缺点。随着经济的快速发展,人们更加地追求高效且可持续性的绿

色提取技术,低共熔溶剂(Deep Eutectic Solvents, DESs)因其具有溶解性高、提取率较高、成本低和可持续性等优点<sup>[13~14]</sup>,被作为一种新型环保型溶剂逐渐在植物组分提取中广泛应用。Cao等<sup>[15]</sup>将4种不同低共熔溶剂体系提取的芝麻蛋白与传统碱溶酸沉法提取的蛋白质相比,发现氯化胆碱-乙二醇体系提取的蛋白质纯度(93.3%)比碱溶酸沉(77.1%)高,其中氯化胆碱-草酸体系提取的蛋白质在溶解性、乳化性、起泡性和热稳定性方面表现良好。Karimi等<sup>[16]</sup>比较了4种DESs配方和两种碱性(pH12.0和pH9.0)处理剂从冷榨菜籽粕中提取蛋白的能力,结果表明4种DESs的提取效率均低于pH12.0(68.34%),但高于pH9.0(39.14%),DESs蛋白具有更好的发泡性能,并且与两种碱性处理相比,DESs可以更好地保留天然蛋白质结构。然而,目前关于使用DESs提取魔芋飞粉蛋白鲜有报道。

因此,本实验拟采用传统碱溶酸沉法、DESs-透析法和DESs-醇沉法3种不同方法制备魔芋飞粉蛋白,进而对比3种魔芋飞粉蛋白的结构及功能特性的差异,以期为魔芋飞粉蛋白及其资源开发利用提供理论基础与数据支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

魔芋飞粉(含粗蛋白13.9%±0.3%,多糖40.4%±0.7%,水分8.0%±0.2%) 湖北一致魔芋生物科技有限公司提供;蛋白预制胶 常州天地人和生物科技有限公司;5×蛋白上样缓冲液 北京库来博科技有限公司;氯化胆碱 分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;牛血清蛋白 优级纯,赛国生物科技有限责任公司;其它化学试剂 均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

A580型双光束紫外可见分光光度计 翱艺仪器(上海)有限公司;DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器 平凡仪器责任有限公司;TGL-16A医用离心机 平凡科技有限公司;SB-5200DTD超声波清洗机 宁波新艺生物科技股份有限公司;JK9870A全自动凯氏定氮仪 济南精锐分析仪器有限公司;DYCZ-40D蛋白电泳仪 北京六一生物科技有限公司;TESCAN MIRA LMS场发射扫描电镜 捷克泰

思肯(中国)有限公司; Nicolet 6700 傅里叶红外光谱美国赛默飞公司; TGA-1000C 热重分析仪 上海盈诺精密仪器有限公司; QFN-DGJ-N 冷冻干燥机 上海乔枫实业有限公司。

## 1.2 实验方法

1.2.1 魔芋飞粉蛋白质的制备 称取一定量的魔芋飞粉, 分别采用碱溶酸沉法、DESSs-透析法和 DESSs-醇沉法, 得到 3 种不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质。

1.2.1.1 碱溶酸沉法 参考毛跟年等<sup>[17]</sup>的实验方法, 将魔芋飞粉置于烧杯中, 加入液料比为 40:1(mL/g)的蒸馏水并搅拌均匀, 用 1.0 mol/L NaOH 溶液调节至 pH10.0, 放入 40 ℃ 恒温水浴锅中提取 40 min, 离心(4000 r/min, 15 min)后再用 1.0 mol/L HCl 溶液将上清液 pH 调至等电点(pH3.8), 静置 30 min, 再次离心后收集沉淀, 用蒸馏水清洗沉淀 3 次后, 合并沉淀, 冷冻干燥后获得碱溶酸沉的魔芋飞粉蛋白质。

1.2.1.2 DESSs-透析法 将魔芋飞粉置于烧杯中, 加入体系含水量为 20% 的 DESSs 氯化胆碱-尿素(1:1) (pH 偏碱性), 液料比为 40:1(mL/g), 在 60 ℃ 下提取 30 min, 离心后取上清液<sup>[18]</sup>, 通过 3500 Da 透析袋透析 2 d, 期间间隔换水, 将所得透析液进行冷冻干燥后获得 DESSs-透析法的魔芋飞粉蛋白质。

1.2.1.3 DESSs-醇沉法 将液料比为 40:1(mL/g)的体系含水量为 20% 的 DESSs 氯化胆碱-尿素(1:1)与魔芋飞粉混合(pH 偏碱性), 在 60 ℃ 下提取 30 min, 离心后取上清液与其 4 倍体积的无水乙醇混合, 以 400 r/min 搅拌 5 min 后, 静置 15 min 后离心获得沉淀物, 再加入蒸馏水洗涤后, 将沉淀物合并后冷冻干燥, 获得 DESSs-醇沉法的魔芋飞粉蛋白质。

1.2.2 蛋白质等电点的确定 称取 5 g 魔芋飞粉蛋白质于烧杯中, 加入 50 mL 蒸馏水进行搅拌, 用 1.0 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 至 7.0, 静置 20 min, 离心(4000 r/min, 15 min)后取上清液, 然后用 1.0 mol/L 的盐酸溶液将上清液 pH 分别调至 3.0、3.2、3.4、3.6、3.8、4.0、4.2 和 4.4, 离心后在 595 nm 处测定上清液中蛋白质含量, 吸光度最低时所对应的 pH 即为魔芋飞粉蛋白质的等电点<sup>[17]</sup>。

1.2.3 蛋白质纯度测定 取 3 种不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质各 0.1 g, 采用凯氏定氮法测定样品中蛋白质的含量, 测定方法参考 GB 5009.5-2010。按式(1)计算蛋白质纯度。

$$\text{蛋白质纯度}(\%) = \frac{\text{样品中蛋白质含量}}{\text{样品质量}} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

## 1.2.4 魔芋飞粉蛋白质结构表征

1.2.4.1 聚丙烯酰胺凝胶( SDS-PAGE)电泳 参考 Zhang 等<sup>[19]</sup>的方法并按实际情况进行一定的改进。配制 0.1 mg/mL 魔芋飞粉蛋白质水溶液, 离心后取清蛋白 12 μL, 加入 3 μL 的 5×蛋白上样缓冲液(经改良后的以溴酚蓝为染料, 5 倍浓缩的蛋白上样缓冲

液)混合, 沸水浴 10 min 破坏蛋白质三级结构, 使用浓度为 12% 的分离胶和浓度为 5% 的浓缩胶进行 SDS-PAGE 电泳, 上样量为 5 μL, 其电压为 120 V, 电泳时间为 50 min。电泳结束后使用考马斯亮蓝色法染色 1 h, 脱色液脱色数次至条带清晰后, 使用凝胶成像仪扫描成像。

1.2.4.2 扫描电镜(SEM)分析 取少量不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质粉末均匀地涂抹在粘有导电胶的云母片上, 固定在金属载台, 并在样品表面喷一层黄金粉, 在真空下将加速电压调至 5 kV, 进行 SEM 扫描。放大倍数为 1000 倍, 观察魔芋飞粉蛋白质的微观结构<sup>[20]</sup>。

1.2.4.3 紫外-可见光光谱 参照张鑫<sup>[21]</sup>的测定方法, 取 1 mg/mL 的魔芋飞粉蛋白质溶液稀释 25 倍后, 于紫外可见光谱仪进行全波长扫描。

1.2.4.4 傅里叶红外光谱 取魔芋飞粉蛋白质粉末 2 mg 与溴化钾粉末混合压片, 在 4000~400 cm<sup>-1</sup> 波数范围内进行透过率的扫描, 使用 OMNIC 9.2 分析光谱数据, PeakFit v4.12 对酰胺 I 带进行蛋白质二级结构相对含量计算<sup>[22]</sup>。

## 1.2.5 魔芋飞粉蛋白质功能特性

1.2.5.1 热稳定性 称取魔芋飞粉蛋白质样品 10 mg 于坩埚内, 按下列测试条件进行测定: 起始温度 50 ℃, 终止温度 700 ℃, 升温速率为 10 ℃/min, 整个实验进程充斥氮气。以氧化铝坩埚为参比, 得到热重(TG)图谱, 对其进行求导得到其微商热重分析(DTG)曲线<sup>[23]</sup>。

1.2.5.2 持水持油性 持水性测定参照宁伟伟<sup>[24]</sup>的测定方法并稍作修改, 称取魔芋飞粉蛋白质样品 0.5 g 置于离心管中, 再称量魔芋飞粉蛋白质与离心管的质量, 于不同 pH(pH2.0~10.0)条件下逐步加入不同浓度的氯化钠溶液(0~1.0 mol/L), 搅拌样品至浆状不再析水, 在不同温度条件(30~70 ℃)下静置, 以 6000 r/min 的速度离心 10 min, 除去上清液, 称量沉淀与离心管的质量。

持油性参照宋炜昱等<sup>[25]</sup>的测定方法并稍作修改, 称取 0.5 g 魔芋飞粉蛋白质样品置于离心管中, 加入 3 mL 食用调和油, 搅拌后在不同温度(30~70 ℃)下静置, 以 6000 r/min 的速度离心 10 min, 倒除残油, 称量沉淀的质量, 利用式(2)和(3)分别计算持水性(WA)和持油性(FA)。

$$\text{WA}(\%) = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

$$\text{FA}(\%) = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

式中: m 为魔芋飞粉蛋白质样品质量(g); m<sub>1</sub> 为离心管和蛋白样品的质量(g); m<sub>2</sub> 为离心管和沉淀物的质量(g)。

1.2.5.3 乳化及乳化稳定性 参考 Zhang 等<sup>[26]</sup>和贺楠<sup>[27]</sup>的方法进行测定并稍作修改。称取 0.3 g 魔芋

飞粉蛋白质样品于离心管中,加入30 mL已知浓度的氯化钠溶液(0~1.0 mol/L),配制成浓度为10 mg/mL蛋白溶液,调节pH(pH2.0~10.0),加入10 mL的食用调和油,在不同恒温(30~70 °C)水浴锅中放置30 min后,高速均质2 min,将乳化液以6000 r/min的速度离心5 min,乳化性(EC)的计算如式(4)。继续将乳化样品于恒温水浴锅中水浴30 min,再冷却至室温,记录此时的乳化层高度,并计算其乳化稳定性(ES),如式(5)。

$$EC(\%) = \frac{\text{被乳化层高度(cm)}}{\text{离心管中液体的高度(cm)}} \times 100 \quad \text{式 (4)}$$

$$ES(\%) = \frac{\text{保持乳化层状态的高度(cm)}}{\text{原乳化层高度(cm)}} \times 100 \quad \text{式 (5)}$$

1.2.5.4 起泡及起泡稳定性 参照岐婉等<sup>[28]</sup>的方法并稍作修改,分别取0.1 g不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质样品,加入已知浓度的NaCl溶液(0~1.0 mol/L),配制得到浓度为10 mg/mL的魔芋飞粉蛋白质溶液,将溶液放于50 mL离心管中,调节pH(pH2.0~10.0),在不同恒温(30~70 °C)水浴锅中放置15 min后匀浆3 min,测定此时泡沫体积,按照式(6)计算其起泡性(FC)。静置30 min后观察此时泡沫体积,按照式(7)计算其泡沫稳定性(FS)。

$$FC(\%) = \frac{V_0}{V} \times 100 \quad \text{式 (6)}$$

$$FS(\%) = \frac{V_{30}}{V_0} \times 100 \quad \text{式 (7)}$$

式中:V为初始溶液体积(mL);V<sub>0</sub>为匀浆后0 min的泡沫体积(mL);V<sub>30</sub>为静置30 min后的泡沫体积(mL)。

### 1.3 数据处理

所有实验重复至少三次,结果以平均值±标准差表示,采用IBM SPSS Statistics 26软件进行数据分析,P<0.05为显著性差异。图表使用OriginPro 2021软件及Excel进行绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 魔芋飞粉蛋白质等电点确定

由图1可知,碱溶酸沉法制备的魔芋飞粉蛋白质的吸光度随pH的增加先下降后上升,在pH3.8时吸光度显著降低(P<0.05)。由于蛋白质的溶解性在等电点处最小,因此选择pH3.8为魔芋飞粉蛋白质的最佳等电点,此结果与毛跟年等<sup>[17]</sup>的实验结果一致。

### 2.2 不同制备方法对魔芋飞粉蛋白质纯度的影响

考察了不同制备方法对魔芋飞粉蛋白质纯度的影响。由图2所示,3种方法制备的蛋白质纯度大小依次为:DESs-醇沉法>DESs-透析法>碱溶酸沉法。其中,DESs-醇沉法制备的蛋白质纯度显著高于其他2种方法(P<0.05),为85.3%±0.8%。

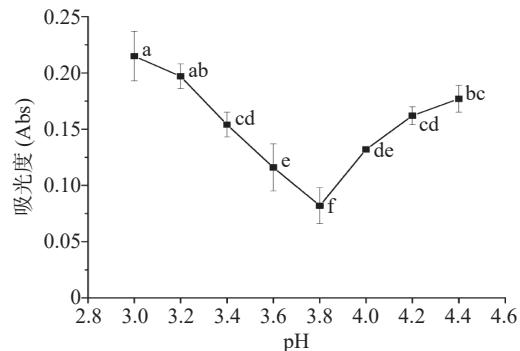


图1 魔芋飞粉蛋白质的等电点

Fig.1 Isoelectric point of konjac fly powder protein

注:不同小写字母表示差异显著(P<0.05),图2同。

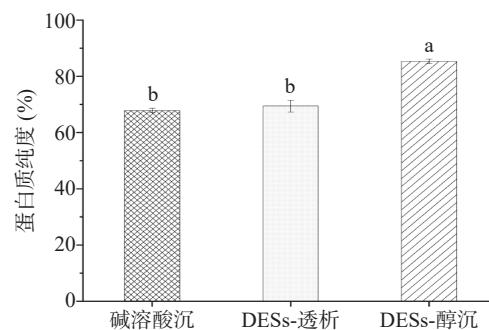


图2 不同制备方法对魔芋飞粉蛋白质纯度的影响

Fig.2 Effects of different preparation methods on protein purity of konjac fly powder

### 2.3 不同制备方法对魔芋飞粉蛋白质结构的影响

2.3.1 SDS-PAGE和SEM分析 SDS-PAGE通常用于蛋白质分子量和亚基组成分析。不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质的SDS-PAGE结果如图3a所示,主要由低分子量亚基组成,分布在三个区域:10~17 kDa, 17~26 kDa和43~55 kDa,与贺楠<sup>[27]</sup>的测定结果基本一致。此外,不同方法制备的蛋白质分子量组成并没有出现明显的差异。

扫描电镜可以显示蛋白质的微观结构和表面面貌。三种不同方法制备的蛋白质的SEM结果如图3b~d所示。可以看出,碱溶酸沉法下得到的蛋白质相较于DESs-透析法和DESs-醇沉法所得蛋白质结构更加紧密,表面虽较为光滑但仍存在凸起点,有明显断裂现象(图3b);经过DESs-透析法得到的蛋白质结构疏松,表面平整,有着分布较为均匀的孔洞结构(图3c);而DESs-醇沉法得到的蛋白质则表面粗糙且存在断裂现象,孔洞大小不一且分布不均匀(图3d)。这些现象表明无论在提取还是分离过程中,不同化学物质的使用对蛋白质结构的破坏作用均不同,最终导致形成不同的形态。

### 2.3.2 紫外与红外光谱分析

2.3.2.1 紫外与红外光谱图分析 不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质的紫外可见光谱图,如图4a所示。三种蛋白质均在210~250 nm左右处有强吸收峰,说明魔芋飞粉蛋白质是含有两个双键的共轭体系,可能

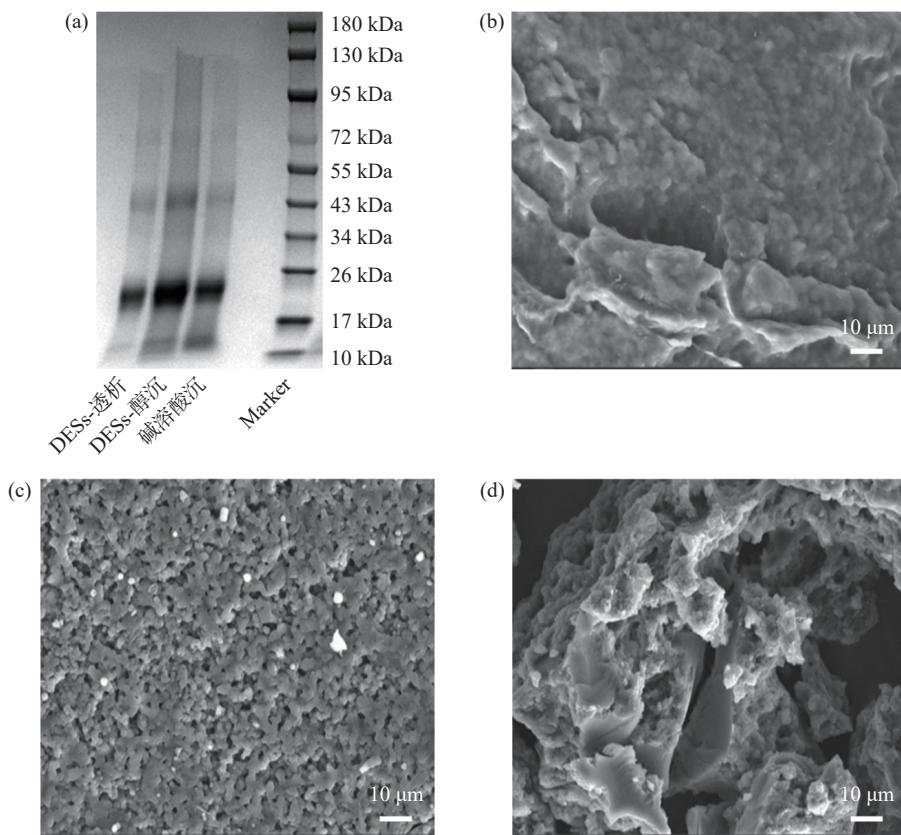


图 3 不同魔芋飞粉蛋白质的 SDS-PAGE 和 SEM 图

Fig.3 SDS-PAGE and SEM images of different konjac fly powder proteins

注: (a) SDS-PAGE 图, (b) 碱溶酸沉、(c) DESs-透析和 (d) DESs-醇沉 SEM 图。

是共轭二烯或者  $\alpha, \beta$ -不饱和羧基化合物等<sup>[29]</sup>。与碱溶酸沉法相比, DESs 提取的两种蛋白吸收峰稍向左偏移, 但峰形并未改变, 这可能是因为 DESs 的使用影响使其吸收波向短波方向移动, 但 DESs 未与魔芋飞粉蛋白质产生新的化学键<sup>[30]</sup>, 蛋白质构象不变。

不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质的红外光谱图, 如图 4b 所示。结果表明, 碱溶酸沉法、DESs-透析法和 DESs-醇沉法制得的蛋白质分别在 3304.1、3355.6、3426.5  $\text{cm}^{-1}$  附近出现强烈振动带, 说明魔芋飞粉蛋白质中存在 N-H 伸缩振动, 当其基团与 H 键相接触后, 开始向低频转移。3 种飞粉蛋白均在 2850~3000  $\text{cm}^{-1}$  处出现特征峰, 为 C-H 键的伸缩振动峰, DESs 提取的 2 种飞粉蛋白相对碱溶酸沉蛋白的特征峰发生了偏移, 这可能是因为 DESs 通过氢键和疏水键与飞粉蛋白作用, 从而发生偏移<sup>[31]</sup>。酰胺 I 带通常位于 1600~1700  $\text{cm}^{-1}$  之间, 主要由于 C=O 键的伸缩振动而产生吸收峰<sup>[32]</sup>, 反映了蛋白质主要的二级结构变化; 如图 4b 所示, 碱溶酸沉蛋白酰胺 I 带在 1647.9  $\text{cm}^{-1}$  处, 相比之下, DESs 的 2 种蛋白分别偏移至 1650.1 和 1667.3  $\text{cm}^{-1}$ 。酰胺 II 带 1480~1580  $\text{cm}^{-1}$  与 vN-H 伸缩振动及  $\delta$ N-H 弯曲振动有关, DESs 的 2 种蛋白均发生轻微偏移; 酰胺 III 带 1200~1350  $\text{cm}^{-1}$  由于 C-N 拉伸产生吸收峰<sup>[33]</sup>; 而 1027  $\text{cm}^{-1}$  附近主要是 C-O-C 伸缩振动产生振动峰。

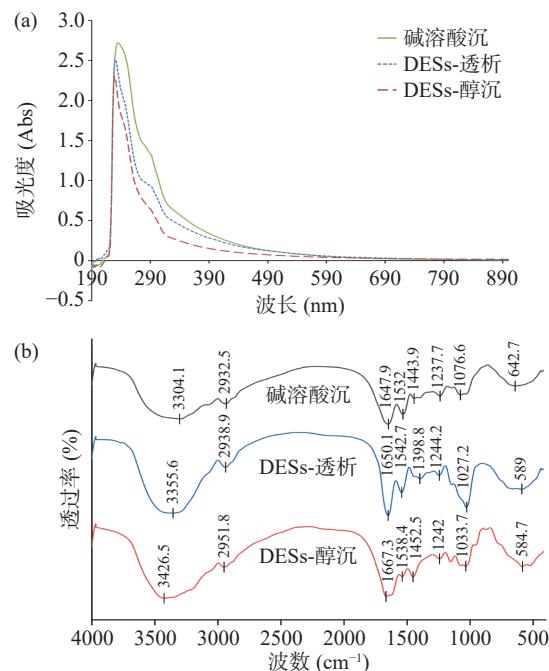


图 4 不同魔芋飞粉蛋白质的紫外与红外光谱图

Fig.4 Ultraviolet and infrared spectra of different konjac fly powder proteins

注: (a) 紫外可见光谱图, (b) 红外光谱图。

2.3.2.2 二级结构分析 在酰胺 I 带测定 3 种飞粉蛋白的二级结构  $\beta$ -折叠(1600~1640  $\text{cm}^{-1}$ ), 无规则卷曲(1640~1650  $\text{cm}^{-1}$ ),  $\alpha$ -螺旋(1650~1660  $\text{cm}^{-1}$ ),  $\beta$ -转

角( $1660\text{~}1700\text{ cm}^{-1}$ )的相对含量<sup>[22]</sup>。结果如表 1 所示, DESs-透析蛋白(10.9%)的  $\beta$ -折叠比 DESs-醇沉法(38.4%)和碱溶酸沉法(29.7%)更低; 但 DESs-透析所获的飞粉蛋白(40.0%)的无规则卷曲比碱溶酸沉法(24.5%)更高, 且 DESs-醇沉蛋白没有无规则卷曲出现; 碱溶酸沉法所获飞粉蛋白的  $\alpha$ -螺旋为 22.8%, 但 DESs 所获的 2 种蛋白均无  $\alpha$ -螺旋; 与碱溶酸沉法(23.0%)相比, DESs-透析法(49.1%)和 DESs-醇沉法(61.6%)所获飞粉蛋白的  $\beta$ -转角显著更高( $P<0.05$ )。这些结果表明, 不同的制备方法可能导致飞粉蛋白的二级结构相对含量发生变化, 这可能是由于碱溶液和 DESs 提取飞粉蛋白的溶解性以及分离方式的不同而产生的结果<sup>[34]</sup>。蛋白质的碱溶液提取主要是在静电斥力下, 通过疏水相互作用促进疏水基团的暴露和蛋白质聚集<sup>[35]</sup>; 而 DESs 提取主要是与蛋白质氨基或羧基之间形成氢键, 不同 DESs 的结合氨基酸不同。

表 1 不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质二级结构相对含量

Table 1 Relative content of protein secondary structure of konjac fly powder with different preparation methods

样品	$\beta$ -折叠(%)	无规则卷曲(%)	$\alpha$ -螺旋(%)	$\beta$ -转角(%)
碱溶酸沉	$29.7\pm0.2^b$	$24.5\pm0.2^b$	$22.8\pm0.1$	$23.0\pm0.2^c$
DESs-透析	$10.9\pm0.2^c$	$40.0\pm0.2^a$	/	$49.1\pm0.1^b$
DESs-醇沉	$38.4\pm0.2^a$	/	/	$61.6\pm0.2^a$

注: 同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

## 2.4 不同制备方法对魔芋飞粉蛋白质功能特性的影响

**2.4.1 热稳定性分析** 三种方法所得魔芋飞粉蛋白质的 TG(黑色)和 DTG(灰色)曲线, 如图 5 所示。所有样品的 DTG 分析曲线大致可以分为两个阶段, 第一阶段(50~200 °C 左右)的起始温度  $T\approx50$  °C, 随着温度的上升样品重量缓慢减少, 碱溶酸沉法、DESs-透析法和 DESs-醇沉法所获飞粉蛋白质分别在 69、92 和 90 °C 出现峰值, 此阶段重量变化的主要原因是样品中的水分蒸发<sup>[36]</sup>, 且使蛋白质结构开始变得不稳定。第二阶段(201~550 °C 左右), 随着温度的继续上升, 样品的质量骤然下降, 在  $T\approx300$  °C 时出现第二个峰值, 蛋白质开始热降解, 蛋白质中肽键迅速脱水, C=O、C-N、C-O 键断裂<sup>[37]</sup>。此外, 当第二阶段温度  $T\approx450$  °C 时, 碱溶酸沉法制备的蛋白质(图 5a)质量变化速率显著高于 DESs 法提取的 2 种蛋白质(图 5b~c)。由 DESs 提取的蛋白质的峰值温度(316 和 312 °C)高于碱溶酸沉法的蛋白质(304 °C)可知, DESs 提取的蛋白质比传统碱溶酸沉法制备的蛋白质热稳定性更高。

**2.4.2 持水持油性** 蛋白质持水持油性是检验蛋白质与水或油结合能力强弱的重要指标<sup>[38]</sup>。不同 NaCl 浓度对不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质持水性的影响, 如图 6a 所示。在 pH7.0、温度为 40 °C 条件下, 随着 NaCl 浓度的升高三种蛋白质的持水性均呈

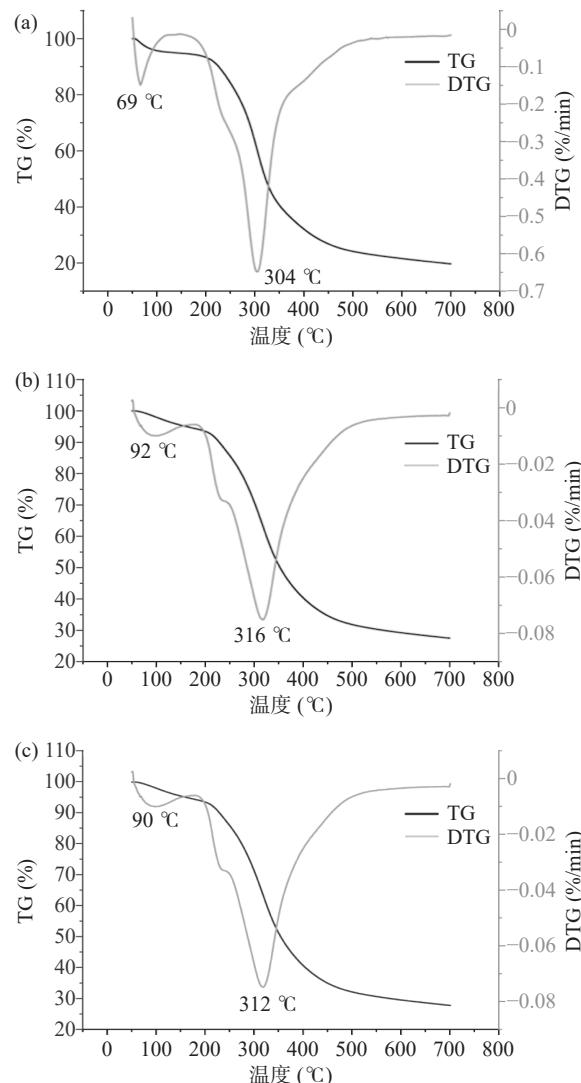


图 5 不同魔芋飞粉蛋白质的 TGA 热重分析图

Fig.5 TGA thermogravimetric analysis of different konjac fly flour proteins

注: (a) 碱溶酸沉, (b) DESs-透析, (c) DESs-醇沉。

现先增大后减小的趋势。当 NaCl 浓度达到 0.6 mol/L 时, DESs-透析法所得蛋白质的持水性最高, 而 DESs-醇沉法蛋白在 0.8 mol/L 获得最高持水性。此外, DESs 提取的蛋白质持水性显著高于碱溶酸沉法制备的蛋白质( $P<0.05$ ), 其中透析得到的蛋白质持水性最佳, 在 NaCl 浓度为 0.6 mol/L 时持水性达到最大  $289.5\pm2.9\%$ , 这可能是因为 DESs 所提取的蛋白质中清蛋白极性氨基酸残基与水分子作用较强而引起<sup>[39]</sup>。蛋白质的持水性在低盐浓度时随其浓度的增大而增大, 但盐浓度过高时, 会导致盐离子与水的结合作用力远超过水与蛋白质的结合作用力, 从而使蛋白质脱水变性, 持水性降低<sup>[40]</sup>。

不同 pH 对不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质持水性的影响, 如图 6b 所示。在温度为 40 °C 时, 不同 pH 对三种方法制备的蛋白质的 pH-持水性曲线基本符合“V”字形曲线, 最低点接近魔芋飞粉蛋白质等电点(pH3.8), 此时三种蛋白质持水性分别为:  $46.3\pm10.9\%$ (碱溶酸沉法)、 $68.6\pm10.8\%$ (DESs-

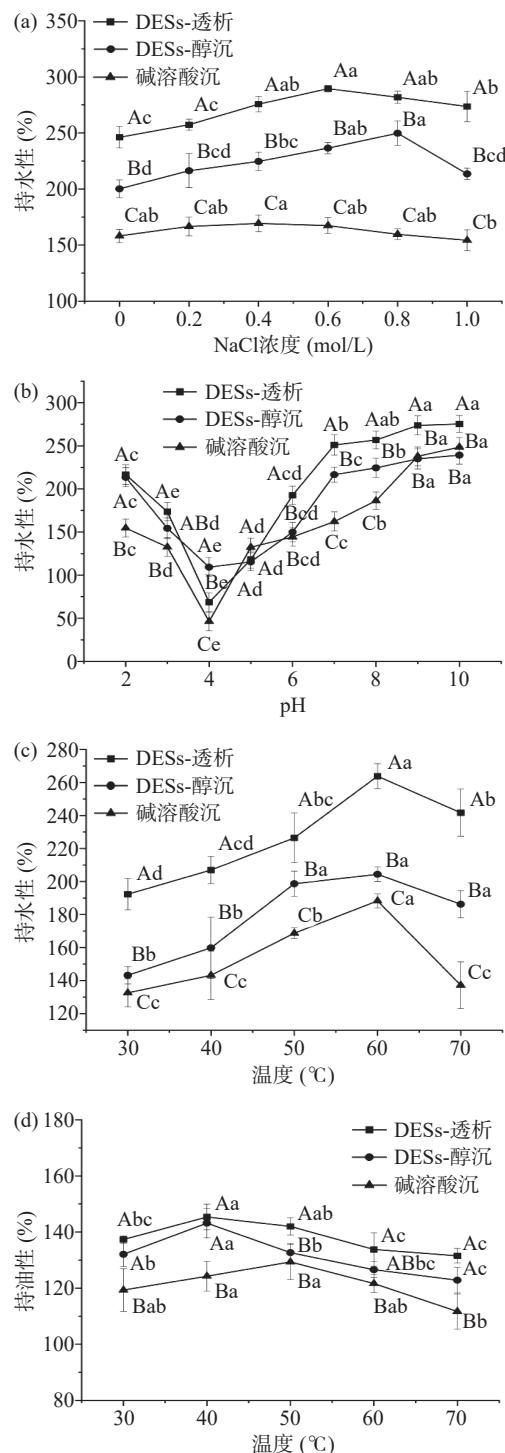


图 6 不同魔芋飞粉蛋白质的持水持油性分析图

Fig.6 Analysis diagram of the water or oil-holding capacity of different konjac fly powder proteins

注: 不同大写字母表示相同条件下不同制备方法的蛋白质差异显著( $P<0.05$ ), 不同小写字母表示不同条件下相同制备方法的蛋白质差异显著( $P<0.05$ ); 图 7、图 8 同。

透析法)和 $109.3\% \pm 11.0\%$ (DESs-醇沉法), 这是因为在等电点附近蛋白质与水分子的结合能力在此时最低。pH 小于其等电点时, 持水性均随 pH 增加而降低; 而 pH 大于等电点时, 持水性随着 pH 的增加而增加, 最后趋近于平缓。其中由 DESs 所提取的蛋白质持水性基本上都高于碱溶酸沉法制得的蛋白质, 透析所得蛋白质的持水性最佳。

不同温度对不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质持水性的影响, 如图 6c 所示。在 pH7.0 时, 随着温度的升高三种蛋白质的持水性均呈现先上升后下降的趋势。当温度为 $60^{\circ}\text{C}$  时, 三种蛋白质持水性均达到最大, 持水性大小依次为: DESs-透析法>DESs-醇沉法>碱溶酸沉法, 这可能是因为在一定温度范围内, 与碱溶酸沉法所提蛋白相比, DESs 更有助于飞粉蛋白溶解形成网络结构捕获水分子, 从而使飞粉蛋白的持水性更好<sup>[15]</sup>。在低温范围内, 温度的升高使分子的热运动加快, 促进蛋白质分子与水分子的结合, 增加其持水性; 但当温度升高后, 高温导致蛋白质变性及空间构象改变, 从而降低了持水性。

不同温度对不同方法制备的魔芋飞粉蛋白质持油性的影响, 如图 6d 所示。当温度从 $30^{\circ}\text{C}$  升至 $40^{\circ}\text{C}$  时, DESs 提取的蛋白质的持油性也随之升高, 最大值分别为 $145.4\% \pm 4.6\%$ (DESs-透析法)和 $143.2\% \pm 5.3\%$ (DESs-醇沉法); 而当温度继续上升后, 持油性开始有不同程度的下降。而当温度为 $50^{\circ}\text{C}$  时, 碱溶酸沉法的最大持油性为 $129.3\% \pm 6.3\%$ 。这是因为脂质与蛋白质分子间的疏水相互作用, 在一定温度范围内, 随着温度的升高在其强作用下会产生蛋白质-脂质络合物; 但温度过高后, 会导致脂质的黏度降低, 其持油性下降<sup>[41-42]</sup>。

**2.4.3 乳化及乳化稳定性** 在 pH7.0、温度为 $40^{\circ}\text{C}$  的条件下, 不同 NaCl 浓度对魔芋飞粉蛋白质乳化及乳化稳定性的影响如图 7a 和 d 所示。三种蛋白质的乳化性和乳化稳定性均随浓度的增大而呈先增大后减小的趋势, 然而它们的最大值在不同 NaCl 浓度下获得。例如, 当 NaCl 浓度为 $0.8\text{ mol/L}$  时, DESs-透析法所得的蛋白质乳化性(50.3%)及乳化稳定性(59.2%)达到最高; 而 DESs-醇沉法( $42.9\% \pm 3.6\%$  和 $51.6\% \pm 1.6\%$ )和碱溶酸沉法( $36.2\% \pm 3.3\%$  和 $35.6\% \pm 1.0\%$ )所得蛋白质的乳化性及乳化稳定性在 NaCl 浓度为 $0.4\text{ mol/L}$  或 $0.6\text{ mol/L}$  时获得最大值。这是因为在一定低盐离子浓度范围内, 蛋白分子间因电荷作用而斥力减弱, 当氯化钠浓度超出一定值, 胶体的扩散双电层被盐离子压制, 静电复合物的形成被破坏, 导致乳化能力减弱<sup>[24]</sup>。

当温度为 $40^{\circ}\text{C}$  时, 不同 pH 对魔芋飞粉蛋白质乳化及乳化稳定性的影响, 如图 7b 和 e 所示。靠近等电点时蛋白质溶解度最小, 不能在蛋白表面形成水化层, 促使乳化粒子絮集<sup>[43]</sup>, 因此在 pH3.8 附近三种蛋白质的乳化稳定性和乳化性都较差。其中碱溶酸沉法的乳化性和乳化稳定性最差分别为 $23.5\% \pm 0.4\%$  和 $26.4\% \pm 2.8\%$ 。远离等电点时, 乳化性、乳化稳定性都出现升高, 这是由于魔芋飞粉蛋白质的溶解性有所提高, 增大了蛋白质向 O/W 界面的扩散能力, 使乳化的能力有所提升; 但 pH 过高时, 又会导致蛋白质的乳化稳定性下降(图 7e)。DESs 提取的蛋白质中可能因为清蛋白含量更高, 清蛋白的乳化能力及

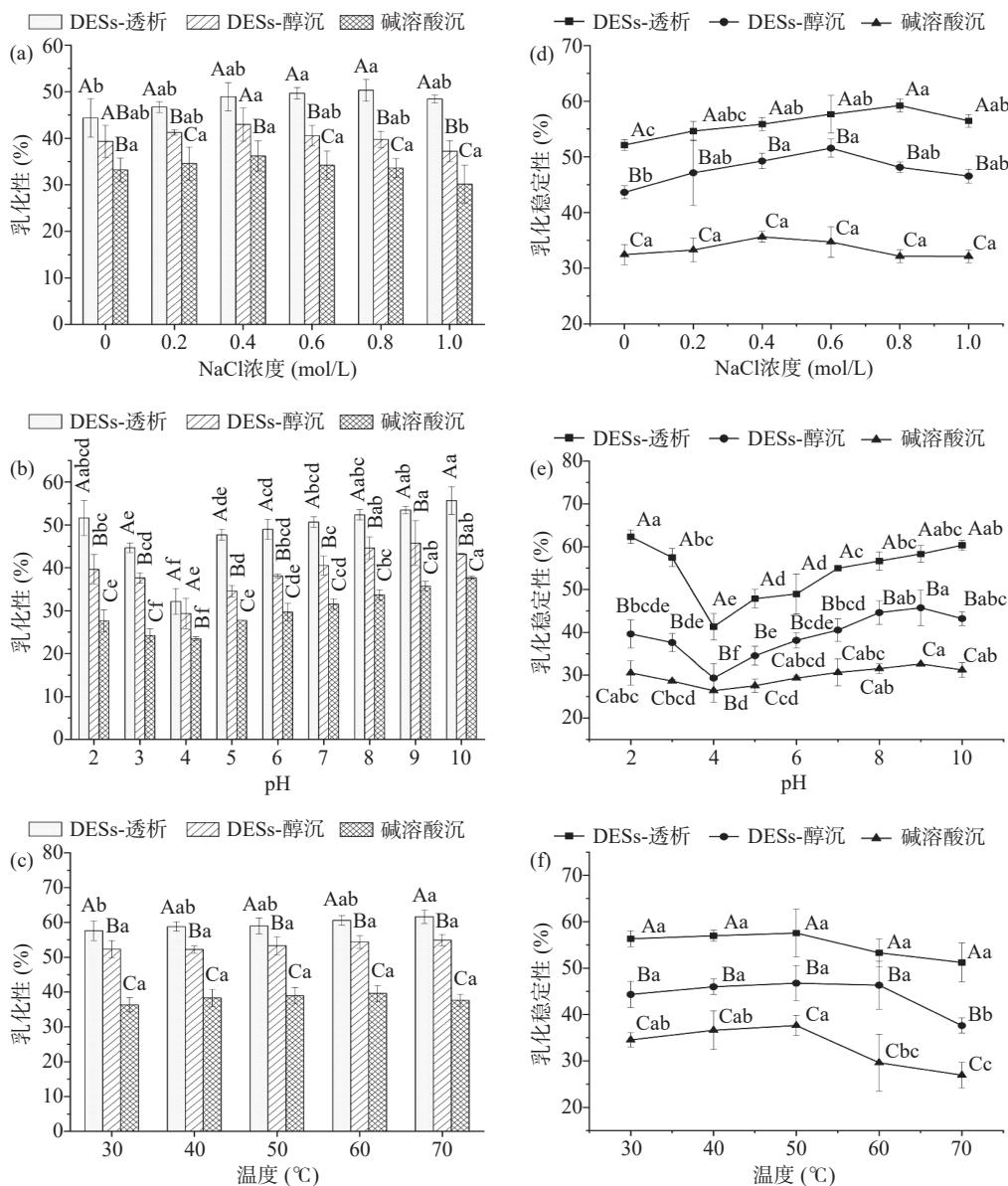


图 7 不同魔芋飞粉蛋白质的乳化及乳化稳定性分析图

Fig.7 Analysis diagram of emulsification and emulsification stability of different konjac fly powder proteins

乳化稳定性最好<sup>[44]</sup>, 蛋白质内部更多的疏水基团暴露在分子表面时, 产生有利于乳状液稳定性的静电斥力, 表现出更好的乳化能力和乳化稳定性<sup>[45-46]</sup>。

在 pH7.0 条件下, 不同温度对魔芋飞粉蛋白质乳化及乳化稳定性的影响, 如图 7c 和 f 所示。当温度较低时(30~50 °C), 低温促使蛋白质分子易被吸附在油水界面上, 随着温度的增加, 3 种蛋白质的乳化性及其稳定性随之增加; 但温度过高后, 蛋白质理化性质发生改变, 如硬度和黏度都有所下降, 且乳化颗粒粒子的运动能力在高温下得到增强, 同时让蛋白质的凝胶作用有所改变, 最终导致乳化性和稳定性下降; 而在温度为 50 °C 时, 三种蛋白质的乳化性和乳化稳定性均相对较好。

2.4.4 起泡及起泡稳定性 在 pH7.0、温度为 40 °C 的条件下, 不同 NaCl 浓度对魔芋飞粉蛋白质起泡及起泡稳定性的影响如图 8a 和 d 所示。在一定 NaCl 浓度范围(0~1.0 mol/L)内, 三种蛋白质的起泡

性和起泡稳定性均随 NaCl 浓度的上升而呈现先上升后下降的趋势, 这可能是起泡性和起泡稳定性在低离子浓度下因蛋白质溶解度的提高而有所改善, 从而有助于在泡沫系统中气泡周围形成内聚的蛋白质膜, 但是当离子浓度过大时, NaCl 反而使蛋白质的黏度降低, 从而导致起泡性及起泡稳定性下降<sup>[47]</sup>。其中 DESS-透析法在 NaCl 浓度为 0.8 mol/L 时起泡性及其稳定性最优, 分别为 58.0%±2.0% 和 59.2%±0.8%, 其原因可能是经过 DESS-透析法提取的魔芋飞粉蛋白质分子聚集程度降低, 从而使得蛋白质的柔韧性发生改变, 使蛋白质更容易吸附在气-水界面上<sup>[48]</sup>, 进而增加了其起泡性; Yuliana 等<sup>[49]</sup>研究发现 NaCl 的加入, 可以使得粘附倾向在蛋白质分子之间形成, 同时界面蛋白质层也会产生, 从而维护了泡沫的完整性; 但因为盐析反应的存在, 进一步增加 NaCl 浓度反而对起泡性和起泡稳定性产生了反效果。

当温度为 40 °C 时, 不同 pH 对魔芋飞粉蛋白质

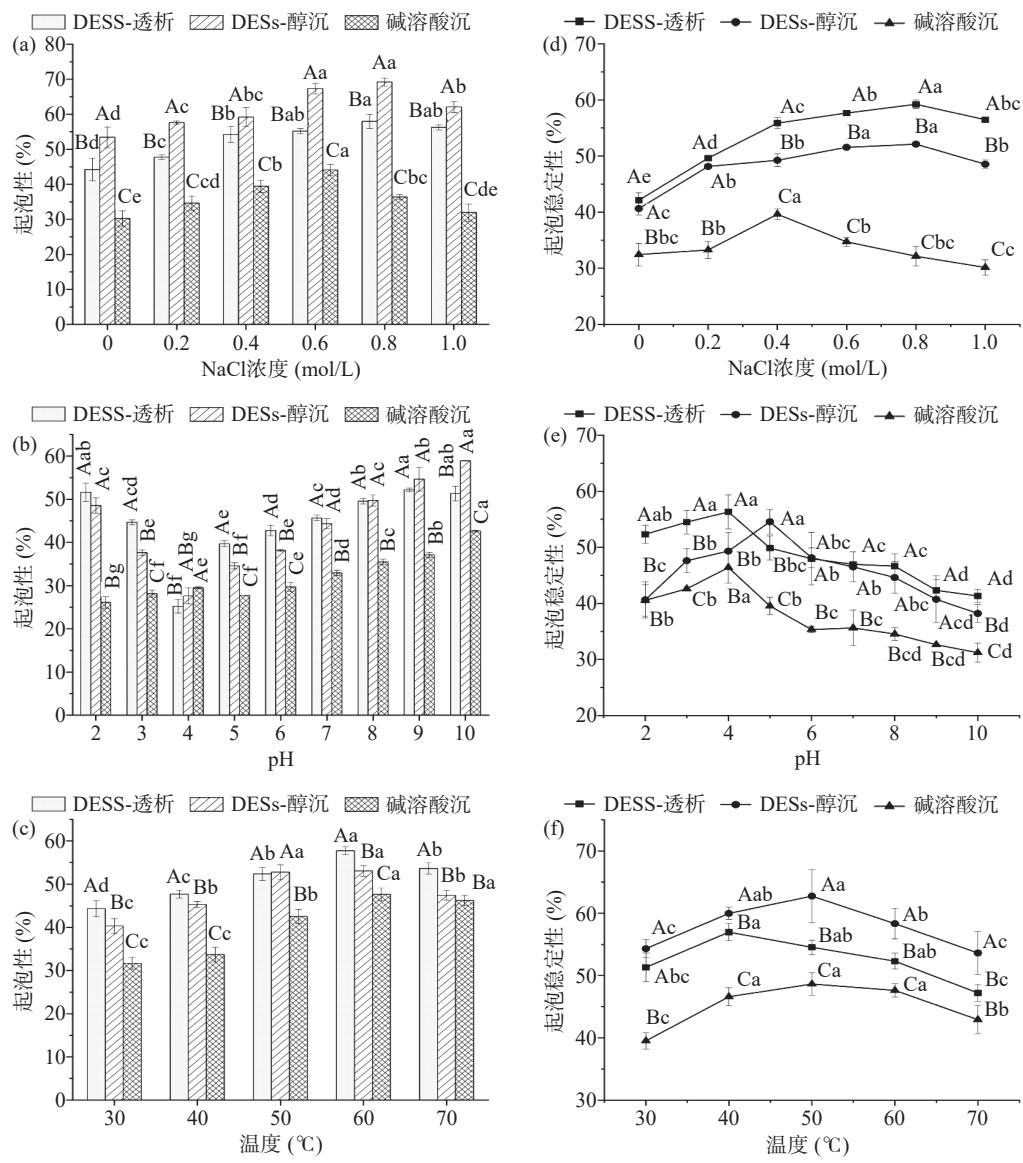


图 8 不同魔芋飞粉蛋白质的起泡及起泡稳定性分析图

Fig.8 Analysis diagram of foaming and foaming stability of different konjac fly powder proteins

起泡及起泡稳定性的影响, 如图 8b 和 e 所示。3 种蛋白质的起泡性均在等电点附近较差, 而起泡稳定性与起泡性曲线的趋势完全相反, 这是因为当 pH 靠近等电点时, 泡沫量较少, 界面的不溶性颗粒增大了蛋白膜厚度及黏性<sup>[50]</sup>, 故而增加了泡沫稳定性。

当 pH7.0 时, 不同温度对魔芋飞粉蛋白质起泡及起泡稳定性的影响, 如图 8c 和 f 所示。在一定温度范围内(30~70 °C), 随着温度的升高, 3 种蛋白质的起泡性及其稳定性均呈现先升高后下降的趋势; DESS-透析法得到的蛋白质起泡性( $57.7\% \pm 0.9\%$ )和泡沫稳定性( $57.0\% \pm 1.4\%$ )分别在 60 °C 和 40 °C 时呈现最大值。起泡及起泡稳定性获得最大值后继续升温会导致蛋白质聚集沉淀、疏水性增大、相互作用减弱<sup>[51]</sup>, 从而使得 3 种飞粉蛋白的起泡性及稳定性不增反降。

### 3 结论

本研究采用碱溶酸沉、DESS-透析和 DESs-醇沉三种方法制备魔芋飞粉蛋白质, 并对比 3 种蛋白质

的结构和功能特性差异。与传统的碱溶酸沉法相比, DESS 提取的蛋白质纯度更高。SDS-PAGE 结果显示魔芋飞粉蛋白质的分子量相对较小, 主要由 10~55 kDa 低分子量亚基组成。通过 SEM、UV-Vis 和 FT-IR 观察到, 碱溶酸沉法与 DESS 提取的飞粉蛋白质在微观结构和二级结构上存在一定差异, 且 DESS 提取的飞粉蛋白  $\beta$ -转角相对含量显著高于碱溶酸沉提取的( $P<0.05$ ), 但无  $\alpha$ -螺旋。热重分析曲线表明 3 种不同方法制备的飞粉蛋白质均在 300 °C 左右时开始出现热降解现象, 且 DESS 法提取的蛋白质的峰值温度均比碱溶酸沉(304 °C)高, 其中 DESS-透析的蛋白(316 °C)的热稳定性最佳。此外, 研究还发现 3 种飞粉蛋白的持水持油性、乳化和起泡性能在不同 NaCl 浓度(0~1.0 mol/L)和温度(30~70 °C)条件下均呈先上升后下降的趋势, 且在等电点 pH3.8 附近功能特性最差。在不同测试条件下 DESS 提取的蛋白质功能特性显著优于碱溶酸沉法, 其中 DESS-透析的蛋白质具有更好的持水持油性和乳化性能。

本研究系统地比较了不同制备方法对飞粉蛋白质结构和功能特性的影响,后续将进一步优化飞粉蛋白的制备工艺,并结合其结构与功能特性开发相关食品,为魔芋飞粉在食品工业的应用提供理论依据。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## 参考文献

- [1] 杨晶晶, 杨林夕, 邵娟娟. 魔芋中化学成分的提取纯化[J]. 农产品加工, 2018(8): 67–69. [YANG Jingjing, YANG Linxi, SHAO Juanjuan. Extraction and purification of chemical components in konjac[J]. Agricultural Products Processing, 2018(8): 67–69.]
- [2] 黄琳涵, 邓琳煜, 何欣, 等. 魔芋深加工与食品开发研究进展[J]. 食品安全导刊, 2023(21): 175–178. [HUANG Linhan, DENG Linyu, HE Xin, et al. Research progress on konjac deep processing and food development[J]. Food Safety Guide, 2023(21): 175–178.]
- [3] 聂聪怡, 高群玉. 魔芋的深加工与应用[J]. 食品科技, 2022, 47(5): 153–158. [NIE Congyi, GAO Qunyu. Deep processing and application of konjac[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(5): 153–158.]
- [4] 毛跟年, 张轲易, 吕婧, 等. 魔芋飞粉的应用现状及展望[J]. 食品工业, 2015, 36(1): 244–247. [MAO Gennian, ZHANG Keyi, LÜ Jing, et al. Application status and prospect of konjac fly powder[J]. Food Industry, 2015, 36(1): 244–247.]
- [5] 冲增哲, 薄颖生. 魔芋飞粉及其加工利用[J]. 陕西林业科技, 2000, 24(3): 66–69. [CHONG Zengzhe, BO Yingsheng. Konjac fly powder and its processing and utilization[J]. Shaanxi Forestry Science and Technology, 2000, 24(3): 66–69.]
- [6] FU Q, ZHAO J K, RONG S, et al. Research advances in plant protein-based products: Protein sources, processing technology, and food applications[J]. J. Agric. Food Chem, 2023, 71: 15429–15444.
- [7] 赵珊珊, 干信. 酶解魔芋飞粉制备高 F 值寡肽最佳工艺条件的研究[J]. 生物技术, 2006(3): 67–69. [ZHAO Shanshan, GAN Xin. Study on the optimal process conditions for the preparation of high f-value oligopeptides by enzymatic hydrolysis of konjac fly powder[J]. Biotechnology, 2006(3): 67–69.]
- [8] 赵志峰. 魔芋飞粉提取蛋白质及制备絮凝剂技术[Z]. 四川省: 巴中市中梦农业科技有限公司, 2013-10-22. [ZHAO Zhifeng. Protein extraction and preparation of flocculant technology from konjac fly powder[Z]. Sichuan Province: Bazhong Zhongmeng Agricultural Technology Co., Ltd., 2013-10-22.]
- [9] 贺楠, 徐怀德. 魔芋飞粉蛋白质提取及乳化性研究[J]. 食品科学, 2013, 34(16): 120–124. [HE Nan, XU Huaide. Study on protein extraction and emulsification of konjac fly powder[J]. Food Science, 2013, 34(16): 120–124.]
- [10] 周亚丽. 魔芋 ACE 抑制肽分离纯化及体外降血压活性研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2018. [ZHOU Yali. Isolation and purification of konjac ACE inhibitory peptide and its antihypertensive activity *in vitro*[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2018.]
- [11] 杨文盛, 张军东, 刘璐, 等. 不同来源蛋白质提取分离技术的研究进展[J]. 中国药学杂志, 2020, 55(11): 861–866. [YANG Wensheng, ZHANG Jundong, LIU Lu, et al. Research progress on protein extraction and separation from different sources[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 55(11): 861–866.]
- [12] DU M, HOU Z R, LIU L, et al. Progress, applications, challenges and prospects of protein purification technology[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2022, 10: 1028691.
- [13] ZHOU Y H, WU W, ZHANG N. Deep eutectic solvents as new media for green extraction of food proteins: Opportunity and challenges[J]. Food Research International, 2022, 161: 111842.
- [14] PATRA A, PRASATH V A, PANDISELVAM R. Deep eutectic solvent: An emerging trend for extraction of plant proteins[J]. Journal of Molecular Liquids, 2023, 389: 122887.
- [15] CAO P H, ZHANG C X, MA Y X, et al. Extraction of protein from sesame meal: Impact of deep eutectic solvents on protein structure and functionality[J]. LWT, 2023, 187: 115366.
- [16] KARIMI A, BHOWMIK P, YANG T C, et al. Extraction of canola protein via natural deep eutectic solvents compared to alkaline treatments: Isolate characteristics and protein structural and functional properties[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 152: 109922.
- [17] 毛跟年, 吕婧, 张轲易, 等. 魔芋蛋白质提取工艺研究[J]. 食品科技, 2014, 39(9): 246–249. [MAO Gennian, LÜ Jing, ZHANG Keyi, et al. Research on konjac protein extraction process [J]. Food Science and Technology, 2014, 39(9): 246–249.]
- [18] 孔令辉, 余科, 牟璐, 等. 低共熔溶剂提取魔芋飞粉蛋白质工艺优化及其溶解性研究[J]. 食品科技, 2023, 48(5): 223–230. [KONG Linghui, YU Ke, MU Lu, et al. Process optimization and solubility of protein extraction from konjac fly powder by low eutectic solvent[J]. Food Science and Technology, 2023, 48(5): 223–230.]
- [19] ZHANG R, YE S X, GUO Y, et al. Studies on the interaction between homological proteins and anthocyanins from purple sweet potato (PSP): Structural characterization, binding mechanism and stability[J]. Food Chemistry, 2023, 400: 134050.
- [20] 黄东杰. 黄粉虫蛋白超声改性研究及水包油乳液的制备[D]. 泰安: 山东农业大学, 2022. [HUANG Dongjie. Ultrasonic modification of mealworm protein and preparation of oil-in-water emulsion[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2022.]
- [21] 张鑫. 油茶粕多糖的制备、结构初探及与乳清蛋白相互作用的研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2023. [ZHANG Xin. Preparation and preliminary study on the structure of camellia oleifera meal polysaccharides and their interaction with whey protein[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2023.]
- [22] LIU F F, LI Y Q, WANG C Y, et al. Physicochemical, functional and antioxidant properties of mung bean protein enzymatic hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2022, 393: 133397.
- [23] 徐飞. 热分析法测定粮食粗蛋白和粗脂肪含量的研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2014. [XU Fei. Determination of crude protein and crude fat content of grain by thermal analysis[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2014.]
- [24] 宁伟伟. 奇亚籽蛋白的提取及其功能特性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017. [NING Weiwei. Extraction of chia seed protein and its functional characteristics[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017.]
- [25] 宋炜昱, 尹浩, 钟宇, 等. 不同品种汉麻籽蛋白质结构与功能特性分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(10): 47–53. [SONG Weiyu, YIN Hao, ZHONG Yu, et al. Analysis of protein structure and functional characteristics of different varieties of hemp seeds [J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(10): 47–53.]
- [26] ZHANG Q T, TU Z C, XIAO H. Influence of ultrasonic treat-

- ment on the structure and emulsifying properties of peanut protein isolate[J]. *Food and Bioproducts Processing*, 2014, 92(C1): 30–37.
- [ 27 ] 贺楠. 魔芋飞粉蛋白提取及其性质研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2013. [ HE Nan. Extraction of konjac fly powder protein and its properties[D]. Xianyang: Northwest A&F University, 2013. ]
- [ 28 ] 岐婉, 乔嘉伟, 李涌泉, 等. 挤压膨化处理对酶解小米粉蛋白结构和功能特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(17): 59–67.
- [ 29 ] QI Wan, QIAO Jiawei, LI Yongquan, et al. Effect of extrusion treatment on the structure and functional properties of enzymatically hydrolyzed millet flour protein[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(17): 59–67. ]
- [ 30 ] 张青, 李书艺, 梁勇, 等. 不同营养素对富硒糙米谷蛋白和硒消化吸收的影响[J]. *食品科技*, 2023, 48(11): 9–17. [ ZHANG Qing, LI Shuyi, LIANG Yong, et al. Effects of different nutrients on digestion and absorption of gluten and selenium in selenium-rich brown rice[J]. *Food Science and Technology*, 2023, 48(11): 9–17. ]
- [ 31 ] MENG J J, WANG Y Z, ZHOU Y G, et al. Development of different deep eutectic solvent aqueous biphasic systems for the separation of proteins[J]. *RSC Advances*, 2019, 9(25): 14116–14125.
- [ 32 ] 马开元. 超声制备豌豆分离蛋白-果胶复合纳米颗粒及其自组装特性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2023. [ MA Kaiyuan. Ultrasonic preparation of pea protein-pectin composite nanoparticles and their self-assembly characteristics[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2023. ]
- [ 33 ] WANG C, JIANG L, WEI D, et al. Effect of secondary structure determined by FTIR spectra on surface hydrophobicity of soybean protein isolate[J]. *Procedia Engineering*, 2011, 15(C): 4819–4827.
- [ 34 ] LIU Fang, XU Zhou, CHEN Maolong, et al. Effects of alkali and heat treatment on the structure and functional properties of rice protein[J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(8): 10–15. ]
- [ 35 ] LIN J J, XIANG H, SUN-WATERHOUSE D X, et al. Deep eutectic solvents and alkaline extraction of protein from seabuckthorn seed meal: A comparison study[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2022, 11(4): 1028–1035.
- [ 36 ] GHARBI N, LABBAFI M. Effect of processing on aggregation mechanism of egg white proteins[J]. *Food Chemistry*, 2018, 252: 126–133.
- [ 37 ] CAO Long, LU Jiankang, ZHANG Chunlan, et al. Effects of different extraction conditions on the structural properties of hanging dried amygdalin[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(5): 35–44. ]
- [ 38 ] ZHANG S Y, ZHENG L L, ZHENG X Y, et al. Effect of steam explosion treatments on the functional properties and structure of camellia (*Camellia oleifera* Abel.) seed cake protein[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 93: 189–197.
- [ 39 ] KOTNALA B, PANNEERSELVAM V, VIJAYAKUMAR K A. Physicochemical, structural, and functional characterization of guar meal protein isolate (*Cyamopsis tetragonoloba*) [J]. *Helijon*, 2024, 10(3): e24925.
- [ 40 ] DU Y X, JIANG Y, ZHU X M, et al. Physicochemical and functional properties of the protein isolate and major fractions prepared from *Akebia trifoliata* var. *australis* seed[J]. *Food Chemistry*, 2012, 133(3): 923–929.
- [ 41 ] SHI Chunquan, KONG Baohua, XING Shaoping, et al. Study on foaming and water-holding capacity of nitrosohemoglobin[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2008, 29(11): 83–85. ]
- [ 42 ] WANG Jingqin. Study on modification of soybean protein isolate by dynamic ultra-high pressure homogenization[D]. Nanchang: Nanchang University, 2007. ]
- [ 43 ] ALETOR O, OSHODI A A, IPINMOROTI K. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates[J]. *Food Chemistry*, 2002, 78(1): 63–68.
- [ 44 ] WANG W N, LUO S N, WANG X, et al. Structure and emulsifying properties of rice bran protein alkylated using an electrochemical reactor[J]. *Food Research International*, 2023, 170: 112561.
- [ 45 ] HAN Wanjin, ZHANG Hongchao, GENG Hao, et al. Effect of heat treatment time on emulsification and stability of whey protein concentrate and isolate[J]. *China Dairy Industry*, 2018, 46(1): 8–12. ]
- [ 46 ] ZHAO Q L, HONG X, FAN L P, et al. Solubility and emulsifying properties of perilla protein isolate: Improvement by phosphorylation in the presence of sodium tripolyphosphate and sodium trimetaphosphate[J]. *Food Chemistry*, 2022, 382: 132252.
- [ 47 ] GE Huanyu, LI Dehai. Comparison of physicochemical and functional properties of pine kernel protein prepared by different methods[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36(8): 117–125. ]
- [ 48 ] LI C, YANG J Z, YAO L, et al. Characterisation, physicochemical and functional properties of protein isolates from *Amygdalus pedunculata* Pall seeds[J]. *Food Chemistry*, 2020, 311: 125888.
- [ 49 ] MALIK M A, SHARMA H K, SAINI C S. High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal: Effect on physicochemical and functional properties[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2017, 39: 511–519.
- [ 50 ] YULIANA M, TRUONG C T, HUYNH L H, et al. Isolation and characterization of protein isolated from defatted cashew nut shell: Influence of pH and NaCl on solubility and functional properties[J]. *Food Science and Technology*, 2014, 55(2): 621–626.
- [ 51 ] JULAKANTI S, CHARLES A P R, ZHAO J, et al. Hempseed protein (*Cannabis sativa* L.): Influence of extraction pH and ball milling on physicochemical and functional properties[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 143(2023): 108835.
- [ 52 ] 陈怡静, 李萍, 康雨薇, 等. 干热处理对杏鲍菇蛋白功能和结构的影响[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(19): 103–108. ]
- [ 53 ] CHEN Yijing, LI Ping, KANG Yuwei, et al. Effect of dry heat treatment on protein function and structure of *pleurotus eryngii*[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(19): 103–108. ]