

大豆分离蛋白-维生素 D₃ 复合物的结构及性质

石佳卉¹, 张安琪¹, 陈爽¹, 邵志远², 王喜波^{1*}, 江连洲¹

(¹东北农业大学食品学院 哈尔滨 150030

²黑龙江省农垦龙王食品有限责任公司 黑龙江绥化 152000)

摘要 采用表面疏水性、粒径、 ζ -电位、浊度等指标,以及荧光光谱、紫外-可见光谱、傅里叶红外光谱等方法分析研究维生素 D₃(VD₃)与大豆分离蛋白(SPI)复合物的结构及性质。结果表明:SPI与 VD₃形成复合物后其表面疏水性显著下降($P < 0.05$),且 VD₃的添加量与 SPI的表面疏水性成反比。VD₃的加入使复合物的粒径明显减小, ζ -电位的绝对值增大,溶液液滴粒径分布更加均匀,溶液的稳定性更强。随着 VD₃含量的增加,复合物的浊度略有增大。荧光光谱和紫外-可见光谱分析发现复合物最大发射波长和最大吸收波长分别较 SPI对照红移了 3.6 nm 和 8 nm,表明 VD₃改变了 SPI的空间结构,使其芳香氨基酸残基所处的微环境向极性增强的方向变化。傅里叶红外光谱显示 VD₃引起 SPI的二级结构改变,其中 α -螺旋和 β -折叠含量减少, β -转角和无规则卷曲含量增多。研究结果为营养强化 VD₃技术以及拓宽大豆蛋白的应用领域提供参考。

关键词 大豆分离蛋白; 维生素 D₃; 表面疏水性; 结构; 性质

文章编号 1009-7848(2022)07-0049-07 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.07.005

维生素 D 是脂溶性微量元素,在人体细胞生长、分化中起重要作用,可促进钙、磷吸收和转运,还与自身免疫性疾病有关^[1-2]。在生活、饮食习惯及年龄等因素的影响下,维生素缺乏在全球范围内普遍存在,尤其是维生素 D 缺乏^[3-4]。维生素 D₃(Vitamin D₃, VD₃)具有维生素 D 最高的生物活性^[5],然而,其在光、热条件下不稳定,容易在空气中氧化分解,失去活性^[6]。

为了提高 VD₃的稳定性及其生物利用度,常采用糖类和蛋白质作为封装载体负载保护 VD₃^[7-8]。理论上,作为纳米复合物载体,蛋白质比糖类更有优势^[9]。大豆分离蛋白(Soy protein isolate, SPI)作为一种功能特性良好,营养价值丰富的植物蛋白,因无毒、廉价等优点,而被用于食品封装技术中。Chen 等^[10]和 Pujara^[11]分别用 SPI 对姜黄素和白藜芦醇进行封装,均有效提高了被封装物质的水溶性;Lee 等^[12]用 pH 偏移和超声结合制备可溶性 SPI 纳米聚集体并对 VD₃进行封装,使其抵抗紫

外线破坏的能力提高。

大豆蛋白通过静电作用和疏水相互作用与可电离或疏水性小分子结合,因此大豆蛋白和 VD₃互作是提高 VD₃稳定性的一种途径。目前关于 SPI-VD₃复合物结构性质的研究较少。本团队前期研究了不同均质压力、均质次数处理 SPI-VD₃复合物的结构性质^[13-14]。本文选用不同浓度的 VD₃分别与 SPI 复合,研究不同浓度 VD₃对复合物粒径、电位、浊度和表面疏水性的影响,阐明 VD₃与 SPI 相互作用后 SPI 荧光光谱、紫外光谱和傅里叶红外光谱的变化规律及其二级结构变化,旨在为营养强化 VD₃技术及拓宽大豆蛋白的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

维生素 D₃(Vitamin D₃, VD₃),纯度 >99%,美国 Sigma 公司;低温脱脂豆粕,山东禹王实业有限公司;ANS 荧光探针,美国 Sigma 公司;浓盐酸,哈尔滨理工化学试剂有限公司;试验试剂均为分析纯级。

1.2 设备与仪器

GL-21M 型冷冻离心机,长沙湘离心机仪器有限公司;ALPHA 1-4 LSC 型冷冻干燥机,德

收稿日期: 2021-07-02

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项(2019ZX08 B01);国家大豆产业技术体系项目(CARS-04-PS28)

作者简介: 石佳卉(1999—),女,硕士生

通信作者: 王喜波 E-mail: wangxibo@neau.edu.cn

国Christ公司;FTIR-8400S型傅里叶红外光谱仪、UV-240IPC型紫外分光光度计,日本岛津公司;F-4500型荧光分光光度计,日本日立公司;Zetasizer Nano ZS90型Zeta粒度及电位测定仪,英国Malvern公司。

1.3 试验方法

1.3.1 SPI的制备 根据Sorgentini等^[15]的方法制备SPI,略作改动。取一定量低温脱脂豆粕粉碎,使用60目筛筛分得到脱脂豆粉。用碱溶酸沉法提取SPI。为除去SPI沉淀中的盐离子,将SPI沉淀物用去离子水洗涤2次。用2 mol/L NaOH溶液调节SPI溶液的pH值至7.0。将样品倒入平皿后,于-20℃冰箱中预冻24 h,然后在-40℃下冷冻干燥。制备出的SPI粉末储存于冰箱(-20℃)中备用。本试验提取的SPI中蛋白含量为90.12%。

1.3.2 VD₃溶液的制备 避光下称取一定量VD₃粉末溶解在无水乙醇中,使用磁力搅拌使其充分溶于乙醇,制备好的VD₃溶液避光储存在棕色瓶中备用。本研究中VD₃溶液现用现配。

1.3.3 SPI-VD₃溶液的制备 将一定量SPI粉末加入磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L,pH 7.0)中,配成SPI溶液(4 mg/mL),按照SPI:VD₃的质量比为25:1,20:1,15:1,10:1,5:1,将VD₃溶液与SPI溶液混合,室温(25℃)下避光搅拌1 h,各样品分别表示为SPI-VD₃-1~SPI-VD₃-5。

1.3.4 粒径测定 用粒度分析仪测定复合体系粒径。将SPI溶液及SPI-VD₃-1~SPI-VD₃-5样品溶液稀释4倍。分散剂设定为水,分散剂和颗粒折射率分别为1.330和1.460,颗粒吸收率设为0.1。

1.3.5 ζ -电位测定 采用Zetasizer Nano ZS90型Zeta电位测定仪分别测定SPI溶液及SPI-VD₃-1~SPI-VD₃-5样品的 ζ -电位。测定前先用0.01 mol/L pH 7.0磷酸盐缓冲液稀释待测样品,稀释至溶液蛋白质质量浓度为1 mg/mL,然后注入样品池。仪器操作温度设定为25℃,蛋白质和分散剂的折射率分别为1.450和1.330,吸收率为0.001。

1.3.6 表面疏水性测定 参照Hayakawa等^[16]的方法测定表面疏水性。用磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L,pH 7.0)稀释SPI及样品溶液,使最终蛋白质量浓度为1,0.2,0.04,0.008 mg/mL。将20 μ L的ANS荧光探针(8 mmol/L,用pH 7.0,0.01 mol/L磷酸盐

缓冲液配制)与4 mL样品均匀振荡,避光处理放置15 min。在激发波长、发射波长分别为390 nm和470 nm下测定样品的荧光强度。以蛋白浓度为横坐标,荧光强度为纵坐标拟合曲线,直线斜率为表面疏水性。

1.3.7 浊度测定 参照Lee等^[12]的方法测定样品浊度。以不同蛋白VD₃质量比的样品在600 nm波长下测得的吸光值表示浊度,用蒸馏水作为空白。

1.3.8 荧光光谱测定 参照Liu等^[17]的方法测定荧光光谱。将SPI溶液及SPI-VD₃样品溶液稀释至蛋白质质量浓度为0.5 mg/mL,设定激发波长290 nm,在发射波长300~500 nm范围内扫描,设定电压700 mV,狭缝宽度2.5 nm。

1.3.9 紫外-可见光谱分析 将SPI溶液及不同蛋白VD₃质量比的样品分别稀释至0.2 mg/mL,分别移取3 mL于石英比色池中,吸收光谱扫描范围200~400 nm。

1.3.10 傅里叶红外光谱分析 将SPI和SPI-VD₃样品冻干备用。在干燥环境下,按KBr:样品的质量比为150:1的比例压制固体薄片^[18]。使用8400S FTIR红外光谱仪对固体薄片进行扫描,扫描次数为32次,扫描范围为4 000~400 cm⁻¹,分辨率为4 cm⁻¹。采用PeakFit 4.12软件拟合分析红外光谱,得到SPI及SPI-VD₃样品中二级结构含量。

1.3.11 数据统计与分析 利用Origin 8.0软件处理数据作图,每组数据均重复3次。数据处理与方差分析(ANOVA)使用IBM SPSS Statistics 20进行分析, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 VD₃添加量对SPI-VD₃复合物粒径、PDI和 ζ -电位的影响

如图1所示,SPI粒径呈现双峰分布,随着VD₃的加入,SPI-VD₃复合物的体积粒径逐渐朝着单峰分布转变,体积粒径小的峰占比增大,体积粒径较大的峰占比减小。由图2同样可以看出随着VD₃含量增加,体系平均粒径由384.3 nm明显减小到125.2 nm,且多分散性指数PDI变小,说明体系中粒径分布更均一,稳定性较强。可能是由于VD₃的存在,与SPI通过疏水相互作用和氢键等自组装成为胶束,且该胶束的胶束结构比SPI胶

束更加紧密^[19]。样品 ζ -电位变化范围为 $-19.6\sim -20.3$ mV,随着 VD₃ 含量的增多,电位的绝对值逐渐增大,当 SPI 与 VD₃ 质量比为 10:1 时,电位绝对值最大,此时体系最稳定。也可能是由于 VD₃ 与

SPI 交联后使 SPI 溶液的 ζ -电位绝对值升高,有助于保持溶液粒子之间彼此远离,从而导致溶液液滴尺寸减小^[20]。

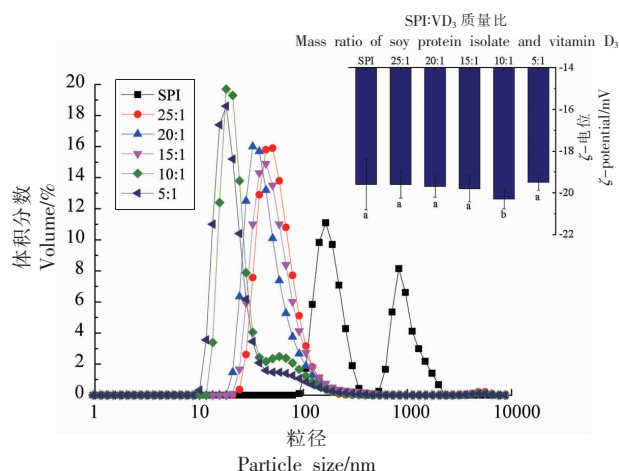


图 1 SPI-VD₃ 复合物的 ζ -电位和粒径分布图
Fig.1 ζ -potential and particle size distribution of SPI-VD₃ complex

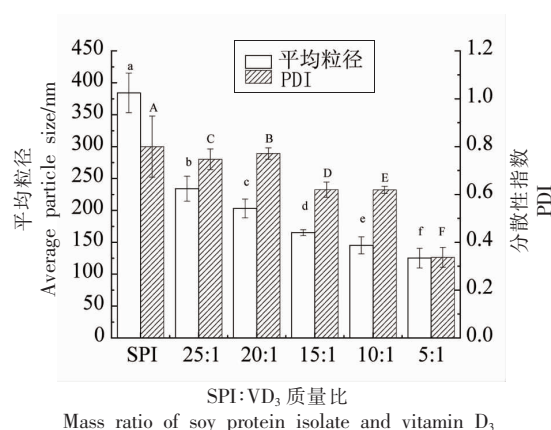


图 2 SPI-VD₃ 复合物的平均粒径和 PDI
Fig.2 Average particle size and PDI of SPI-VD₃ complex

2.2 VD₃ 添加量对 SPI-VD₃ 复合物表面疏水性的影响

表面疏水性 (H_0) 与蛋白的功能性质密切相关。如图 3 所示,随着 VD₃ 浓度的增大,SPI-VD₃ 复合物的表面疏水性显著降低 ($P<0.05$)。当 SPI 与 VD₃ 质量比为 5:1 时,表面疏水性由 1137.67 降到了 1008.57。这表明添加 VD₃ 后,SPI 表面更加亲水,可能是 VD₃ 引起了 SPI 结构改变。 H_0 下降可能是由于 VD₃ 与 SPI 相互作用,导致部分掩埋在 SPI 内部的亲水基团暴露出来^[21]。同时,VD₃ 是

疏水性物质,VD₃ 与 SPI 疏水基团相互作用,从而减少了 ANS 与 SPI 结合的数量,这可能是 VD₃ 使 SPI 表面疏水性下降的原因之一。

2.3 VD₃ 添加量对 SPI-VD₃ 复合物浊度的影响

浊度是悬浮物对光线的阻碍程度,能够反映蛋白聚集程度及聚集体大小^[22],同时也直接影响溶液的外观。由图 4 可知,VD₃ 含量的增加使 VD₃-SPI 复合物的浊度略有增加,这与前述的 SPI-VD₃ 复合物粒径变化不同,这可能由于部分 VD₃ 没与 SPI 相互作用形成复合物而是游离于体

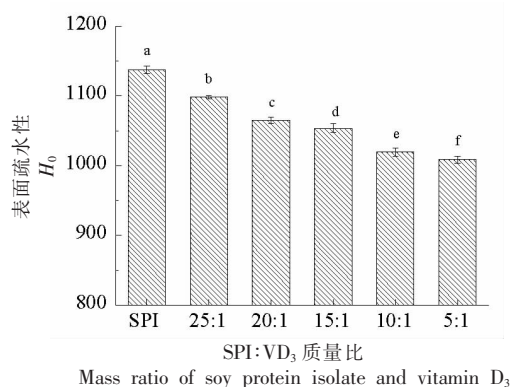


图 3 SPI-VD₃ 复合物的表面疏水性
Fig.3 Surface hydrophobicity of the SPI-VD₃ complex

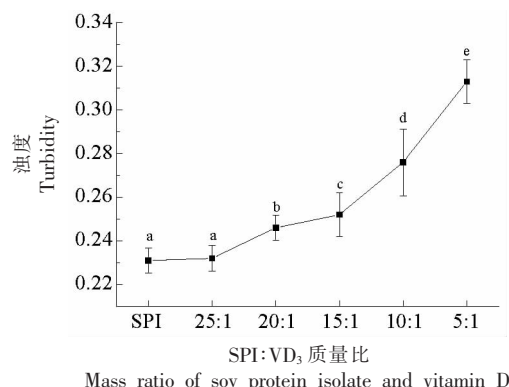


图 4 SPI-VD₃ 复合物的浊度
Fig.4 Turbidity of SPI-VD₃ complex

系中所致。

2.4 VD_3 添加量对 SPI- VD_3 复合物荧光光谱的影响

SPI 和 SPI- VD_3 复合物的荧光发射光谱见图 5。激发波长为 290 nm 时, SPI 的荧光发射峰在 360 nm 附近。随 VD_3 比例的升高, 荧光强度降低, 表明 VD_3 与 SPI 之间存在相互作用, VD_3 起到猝灭剂作用, 且浓度越大猝灭效果越明显。同时, 荧光发射峰由 360.8 nm 红移至 364.4 nm, 红移了 3.6 nm。荧光发射峰的变化反映了蛋白中色氨酸残基和酪氨酸残基微环境的改变。微环境向亲水转变, 说明 SPI 与 VD_3 结合, 使 SPI 空间结构发生变化,

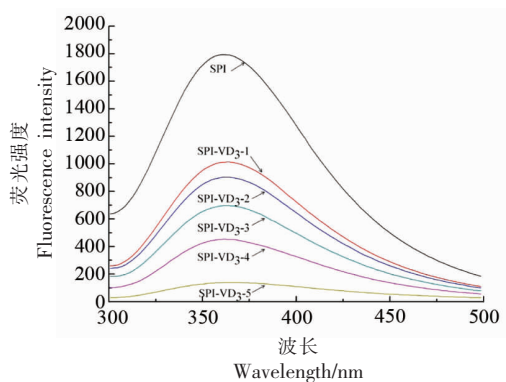
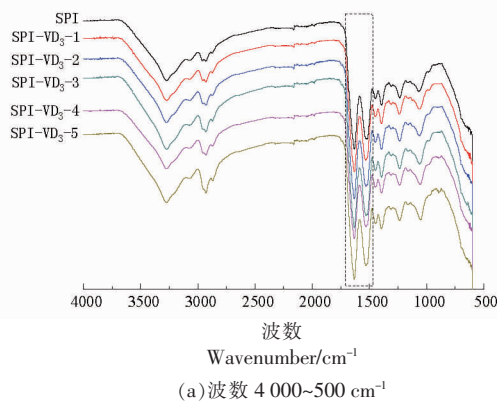


图 5 SPI- VD_3 复合物的荧光光谱

Fig.5 Fluorescence spectra of SPI- VD_3 complex

2.6 VD_3 添加量对 SPI- VD_3 复合物傅里叶变换红外光谱的影响

由图 7 可知, 添加 VD_3 后酰胺 I 区和酰胺 II 区的透光率降低了, SPI 酰胺 I 区从 1632.93 cm^{-1}



(a) 波数 $4000\sim 500\text{ cm}^{-1}$

肽链结构展开^[23]。

2.5 VD_3 添加量对 SPI- VD_3 复合物紫外-可见吸收光谱的影响

在不同浓度 VD_3 影响下 SPI 的紫外-可见吸收光谱变化见图 6。随着 VD_3 浓度的增加, SPI- VD_3 复合物的吸光度逐渐增强, 最大吸收峰波长 (λ_{max}) 由 259 nm 红移至 267 nm。 λ_{max} 红移说明 SPI 中芳香族氨基酸的微环境发生变化, SPI 构象改变, 肽链伸展, 进而增强了吸光度。该结果与付彩霞等^[24]关于 VE 与牛血清蛋白的相互作用的研究结果一致。

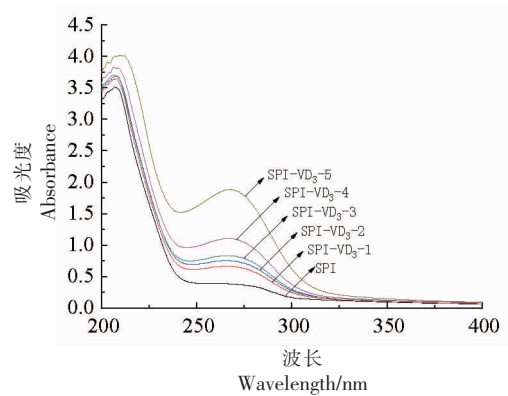
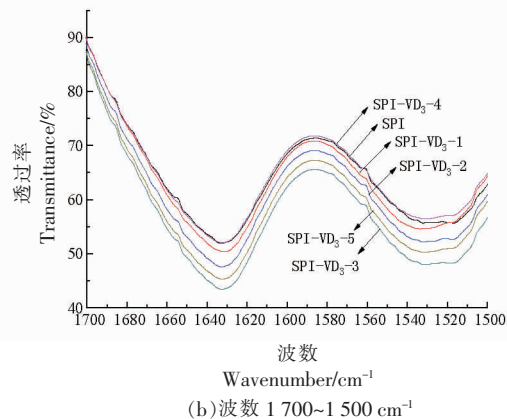


图 6 SPI- VD_3 复合物的紫外-可见吸收光谱

Fig.6 Ultraviolet-visible absorption spectrum of SPI- VD_3 complex

蓝移至 1631.96 cm^{-1} , 酰胺 II 区从 1531.28 cm^{-1} 红移至 1533.13 cm^{-1} , 说明添加 VD_3 使 SPI 的二级结构发生了变化。

傅里叶红外变换光谱能够敏感地反映肽链结



(b) 波数 $1700\sim 1500\text{ cm}^{-1}$

图 7 SPI- VD_3 复合物的傅里叶红外光谱

Fig.7 Fourier transform infrared spectroscopy of SPI- VD_3 complex

构的变化,得到的红外光谱图利用 PeakFit 4.12 软件进行处理,通过进行区域选定(1 600~1 700 cm^{-1})、基线校准,Savitsk-Golay 平滑处理,以及二阶导数的拟合处理得到蛋白质二级结构含量。酰胺 I 区中频率范围 1 648~1 664 cm^{-1} 被指定为 α -螺旋结构,频率范围 1 615~1 637 cm^{-1} 和 1 682~1 700 cm^{-1} 被指定为 β -折叠结构,频率范围 1 664~1 681 cm^{-1} 和 1 637~1 648 cm^{-1} 分别被指定为 β -转角和无规则卷曲结构^[25]。从图 8 可以看出,与 SPI 相比, α -螺旋和 β -折叠含量下降, β -转角和无规则卷曲含量明显升高($P<0.05$),这可能是由于 VD₃ 与蛋白质内部的疏水性氨基酸区域结合从而使蛋白质分子结构展开, α -螺旋和 β -折叠转换为 β -转角和无规则卷曲。 α -螺旋的结构以紧密、坚固为特点,可能阻碍了 SPI 某些功能特性的发挥。 β -转角和无规则卷曲构象的增加,明显增强了蛋白质的柔韧性,对 SPI 功能特性的发挥产生有利影响^[26]。刘英杰等^[27]研究花青素与 SPI 的不同交联法对蛋白质结构的影响,发现酶法和碱法共价法均使 SPI 结构中的 α -螺旋和 β -折叠含量降低,使 SPI 肽链解折叠。Liu 等^[28]研究发现,绿原酸、没食子酸与乳铁蛋白结合,使其 α -螺旋减少,蛋白结构更加延展。

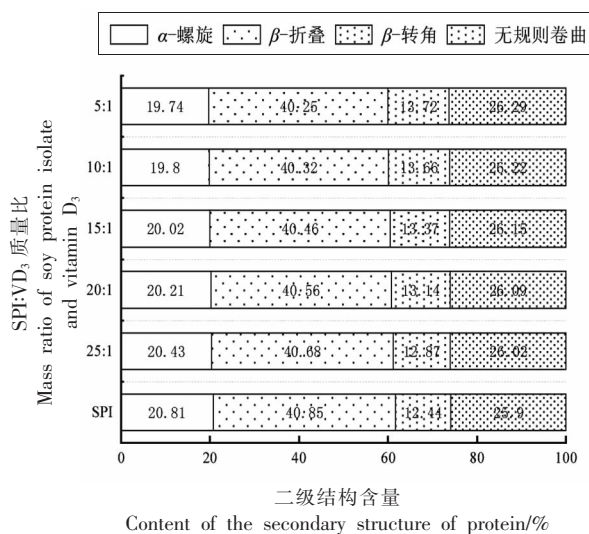


图 8 SPI-VD₃ 复合物中蛋白的二级结构含量

Fig.8 Content of the secondary structure of proteins in the complex of SPI-VD₃

3 结论

1) VD₃ 与 SPI 相互作用后会降低 SPI 的表面疏水性;VD₃ 的添加使 SPI 的粒径减小, ζ -电位的绝对值增大,使体系粒径分布更加均匀,溶液的稳定性增强;随着 VD₃ 含量的增加,复合物的浊度略有增大。

2) VD₃ 使芳香族氨基酸残基所处的微环境向极性增强方向改变,SPI 分子构象发生变化,结构更加舒展;傅里叶红外光谱结果显示,VD₃ 的加入引起大豆分离蛋白二级结构的变化,进一步说明 VD₃ 与 SPI 发生了相互作用。

参 考 文 献

- [1] ROSEN C J. Vitamin D insufficiency[J]. New England Journal of Medicine, 2011, 364(1): 248-254.
- [2] ADAMS J S, HEWISON M. Update in vitamin D[J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2010, 95(2): 471-478.
- [3] GUELI N, VERRUSIO W, LINGUANTI A, et al. Vitamin D: Drug of the future. A new therapeutic approach[J]. Archives of Gerontology and Geriatrics, 2012, 54(1): 222-227.
- [4] GINTER E, SIMKO V. Vitamin D deficiency, atherosclerosis and cancer[J]. Bratislava Medical Journal-Bratislavske Lekarske Listy, 2009, 110(12): 751-756.
- [5] ARMAS L A G, HOLLIS B W, HEANEY R P. Vitamin D₂ is much less effective than vitamin D₃ in humans[J]. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2004, 89(11): 5387-5391.
- [6] BALLARD J M, ZHU L, NELSON E D, et al. Degradation of vitamin D₃ in a stressed formulation: The identification of esters of vitamin D₃ formed by a transesterification with triglycerides[J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2007, 43(1): 142-150.
- [7] LEUNG M H M, KEE T W. Effective stabilization of curcumin by association to plasma proteins: Human serum albumin and fibrinogen[J]. Langmuir, 2009, 25(10): 5773-5777.
- [8] SUN F, JU C, CHEN J, et al. Nanoparticles based on hydrophobic alginate derivative as nutraceutical delivery vehicle: Vitamin D loading[J]. Artificial

- Cells Blood Substitutes & Biotechnology, 2012, 40 (1/2): 113-119.
- [9] 陈飞平. 大豆蛋白作为姜黄素纳米输送载体的途径及机理[D]. 广州: 华南理工大学, 2017.
CHEN F P. Soy protein as a nanocarrier for curcumin and the possible mechanisms involved [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017.
- [10] CHEN F P, LI B S, TANG C H. Nanocomplexation of soy protein isolate with curcumin: Influence of ultrasonic treatment[J]. Food Research International, 2015, 75: 157-165.
- [11] PUJARA N. Enhanced colloidal stability, solubility and rapid dissolution of resveratrol by nanocomplexation with soy protein isolate[J]. Journal of Colloid & Interface Science, 2017, 488: 303-308.
- [12] LEE H, YILDIZ G, SANTOS L C D, et al. Soy protein nano-aggregates with improved functional properties prepared by sequential pH treatment and ultrasonication [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 55: 200-209.
- [13] ZHANG A Q, CHEN S, WANG Y Y, et al. Effect of different homogenization pressure on soy protein isolate-vitamin D₃ complex [J]. Process Biochemistry, 2019, 87: 145-150.
- [14] 王喜波, 陈爽, 孙立娜, 等. 不同均质次数下 SPI-维生素 D₃ 纳米粒子结构及性质的研究[J]. 农业机械学报, 2020, 51(12): 341-347.
WANG X B, CHEN S, SUN L N, et al. Structure and properties of soy protein isolate vitamin D₃ nano-particles complex under different homogenization times[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2020, 51(12): 341-347
- [15] SORAGENTINI D A, WAGNER J R. Comparative study of structural characteristics and thermal behavior of whey and isolate soybean proteins[J]. Journal of Food Biochemistry, 1999, 23(5): 489-507.
- [16] HAYAKAWA S, NAKAI S. Relationships of hydrophobicity and net charge to the solubility of milk and soy proteins[J]. Journal of Food Science, 1985, 50(2): 486-491.
- [17] LIU Y, ZHAO G, ZHAO M, et al. Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through Maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2012, 131(3): 901-906.
- [18] HERRERO A M, CARMONA P, PINTADO T, et al. Infrared spectroscopic analysis of structural features and interactions in olive oil-in-water emulsions stabilized with soy protein[J]. Food Research International, 2011, 44(1): 360-366.
- [19] 章宇斌. 酪蛋白多级结构及聚集行为的多尺度研究[D]. 天津: 天津大学, 2007.
ZHANG Y B. Multi-scale characterization on multi-level structural nature and aggregation behavior of casein[D]. Tianjin: Tianjin University, 2007.
- [20] 刘英杰, 陈红宇, 李子微, 等. 花青素共价交联大豆蛋白对其表面疏水性及功能性的影响[J]. 食品工业科技, 2019, 40(7): 5-10.
LIU Y J, CHEN H Y, LI Z W, et al. Effects of the covalent cross link of anthocyanins and soy protein on the surface hydrophobicity and functional properties of protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(7): 5-10.
- [21] RAWEL H M, ROHN S, KRUSE H P, et al. Structural changes induced in bovine serum albumin by covalent attachment of chlorogenic acid[J]. Food Chemistry, 2002, 78(4): 443-455.
- [22] CHAN J K, GILL T A. Thermal aggregation of mixed fish myosins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42(12): 2649-2655.
- [23] 刘勤勤, 朱科学, 郭晓娜, 等. 茶多酚与大豆分离蛋白的相互作用[J]. 食品科学, 2015, 36(17): 43-47.
LIU Q Q, ZHU K X, GUO X N, et al. Spectroscopic analysis of interaction between tea polyphenol and soy protein isolate[J]. Food Science, 2015, 36(17): 43-47.
- [24] 付彩霞, 魏光成, 杨杨. 维生素 E 与牛血清白蛋白的相互作用及金属离子对其影响的研究[J]. 化学研究与应用, 2017, 29(12): 1800-1805.
FU C X, WEI G C, YANG Y. Study on interaction of vitamin E with bovine serum albumin and effect of metal ions on the reaction[J]. Chemical Research and Application, 2017, 29(12): 1800-1805.
- [25] ZHAO X, CHEN F, XUE W, et al. FTIR spectra studies on the secondary structures of 7S and 11S globulins from soybean proteins using AOT reverse micellar extraction[J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(4): 568-575.
- [26] CHEN L, CHEN J, REN J, et al. Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties

- of hydrolysates[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(6): 2600-2609.
- [27] 刘英杰, 隋晓楠, 黄国, 等. 花青素与大豆分离蛋白的不同共价交联法对蛋白结构的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(8): 1-7.
- LIU Y J, SUI X N, HUANG G, et al. Effects of covalent interaction of anthocyanin and soy protein isolate on protein structure under enzymatic and alkaline conditions[J]. *Food Science*, 2019, 40(8): 1-7.
- [28] LIU F, WANG D, SUN C, et al. Utilization of interfacial engineering to improve physicochemical stability of β -carotene emulsions: Multilayer coatings formed using protein and protein-polyphenol conjugates[J]. *Food Chemistry*, 2016, 205: 129-139.

Structure and Properties of Soy Protein Isolate-Vitamin D₃ Complex

Shi Jiahui¹, Zhang Anqi¹, Chen Shuang¹, Shao Zhiyuan², Wang Xibo^{*}, Jiang Lianzhou¹

¹College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030

²Heilongjiang Nongken Longwang Food Co., Ltd., Suihua 152000, Heilongjiang)

Abstract In this article, the structure and properties of the vitamin D₃ (VD₃) and soy protein isolate (SPI) complex were characterized by surface hydrophobicity, particle size, ζ -potential, turbidity, fluorescence spectroscopy, ultraviolet-visible spectroscopy and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The results showed that, the surface hydrophobicity decreased significantly ($P < 0.05$) with the addition of VD₃, and the content of VD₃ was inversely proportional to the surface hydrophobicity of SPI. The addition of VD₃ significantly reduced the particle size of SPI, and increased the absolute value of the ζ -potential of SPI. This indicate the particle size distribution of the solution droplets is more uniform, and the stability of the solution is stronger. With the increase of VD₃ content, the turbidity of the complex increased slightly. Fluorescence spectrum and ultraviolet-visible spectrum analysis found that, compared with the SPI control, the maximum emission wavelength and maximum absorption wavelength of the complex were red-shifted 3.6 nm and 8 nm, respectively. This indicate that VD₃ changes the spatial structure of SPI, increasing the polarity of the microenvironment of aromatic amino acid residues. Fourier infrared spectroscopy shows VD₃ causes the secondary structure of SPI to change, the content of α -helix and β -sheet decreases, and the content of β -turn and random coils increases. The result of the research provided the basis for the technology of nutritional enhancement of VD₃ and the widening of the application of soy protein.

Keywords soy protein isolate; vitamin D₃; surface hydrophobicity; structure; properties