

微波条件下大豆蛋白-绿原酸复合物的理化及结构特性

高雪丽^{1,3}, 马梦龙², 李光辉^{1,3}, 王永辉^{1,3}, 何胜华^{1,3}, 郭卫芸^{1,3*}

(¹ 许昌学院食品与药学院 河南许昌 461000

² 武汉轻工大学食品科学与工程学院 武汉 430000

³ 功能食品绿色制造河南省协同创新中心 河南许昌 461000)

摘要 为探究微波条件下绿原酸对大豆蛋白理化性质和结构特性的影响,采用微波处理大豆蛋白-绿原酸复合物,分析其溶解度、持水性、乳化性、持油性和起泡性的变化,进而对其晶体结构进行表征并观察颗粒形态。结果表明:添加绿原酸使大豆蛋白的溶解度、持油性、起泡性降低,分别为 290.55 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 269.70%, 143.67%, 而泡沫稳定性和乳化性升高,分别为 21.67% 和 43.00%;在功率 700 W 下微波处理 5 min,可使大豆蛋白-绿原酸复合物的溶解度、持油性、泡沫稳定性和乳化性升高,分别达到 368.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 402.51%, 156.30% 和 52.67%, 而持水性降低至 432.88%。大豆蛋白-绿原酸复合物结构分析结果显示,衍射峰强度和结晶度下降,并出现新的衍射峰,粒径明显减小,表面粗糙,凹凸不平,结构向内部卷曲,且受微波作用影响明显。结论:微波处理可在一定程度上抵消因多酚加入而引起的蛋白质溶解性和持油性的降低,微波条件下加入绿原酸能有效改善大豆蛋白的起泡性和乳化性能。

关键词 微波; 绿原酸; 大豆蛋白; 理化性质; 结构特征; 相互作用

文章编号 1009-7848(2024)07-0119-09 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.07.012

大豆蛋白(Soybean protein, SPI)具有良好的起泡性、乳化性、凝胶性以及吸水性和保水性等功能特性,被广泛应用于食品加工领域,用于改善食品的风味、颜色、质地和稳定性^[1]。绿原酸(Chlorogenic acid, CA)是一种由咖啡酸与奎尼酸组成的生物活性多酚,具有抗氧化、抗炎、抗病毒、抗突变以及降血糖、降血脂、免疫调节等功能作用^[2-4],多应用于畜禽养殖、医药等领域^[5-6]。

酚类在特定条件下可通过非共价或共价键相互作用与蛋白质形成复合物并引起结构改变,表现为蛋白质自由氨基含量降低,氢键断裂,二级和三级结构如 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲改变等。目前研究涉及蛋白种类包括谷蛋白、大豆蛋白、面筋蛋白、黑豆蛋白、鱼皮胶原蛋白等,酚类物质包括茶多酚、绿原酸、没食子酸、芦丁等^[7-10]。结构上的改变会影响蛋白的功能性质,如亲水性、疏水性和溶解性等^[11-12]。例如,芦丁与大豆分离蛋白通过疏水作用后,蛋白乳化稳定性提高;没食子

酸、绿原酸和表没食子儿茶素没食子酸盐与乳清蛋白结合后,可使乳清蛋白溶解性、发泡性和乳化能力增强;没食子酸能显著降低鱼皮胶原蛋白的水解程度,同时提高其抗氧化性能^[13-15]。

超声、微波、高压等物理手段可诱导蛋白与多酚类物质结合,这对蛋白功能性质改善具有积极意义。其中,微波可促使蛋白质极性分子结构发生变化^[16]。目前已有利用微波改善蛋白质功能性质的研究成果,如张艺玮等^[17]利用微波作用于薏米蛋白,可改善其溶解性、乳化性、起泡性。胡方洋等^[18]在微波处理苦荞蛋白的研究中发现,经微波处理后,苦荞蛋白的起泡性和乳化性明显降低。也有研究发现经微波处理后,面筋蛋白网状结构的疏松程度会显著提升^[16]。这些研究表明,微波是一种可用于改善蛋白质功能性质的有效手段。然而,目前尚无在微波环境下研究多酚和大豆蛋白的相互作用以及对所形成复合物的性质和结构方面的报道。

本研究旨在研究微波条件下,大豆蛋白-绿原酸复合物的理化性质及微观形态、结晶结构等性质的变化,探讨绿原酸与大豆蛋白的相互作用,从而为大豆蛋白-绿原酸复合物作为功能成分加以应用以及开发含绿原酸大豆蛋白产品提供

收稿日期: 2024-01-19

基金项目: 河南省重大科技专项(201300110300);河南省高等学校骨干教师项目(2020GGJS206)

第一作者: 高雪丽,女,博士,副教授

通信作者: 郭卫芸 E-mail: gwy2002@126.com

理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大豆蛋白,源叶生物;绿原酸(纯度 98%),溢阳生物;100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准牛血清蛋白(纯度 98%),源叶生物;考马斯亮蓝 G-250,上海迈瑞尔;大豆油,中粮福临门。

1.2 仪器与设备

SR-A10N-50 冷冻干燥机,上海舍岩; Nicolet-6700 红外光谱仪,美国赛默飞; Nova NanoSEM 450 扫描电子显微镜,美国 FEI; D8-Adrance X-射线能谱仪,德国 Bruker; T25 分散机,广东智子。

1.3 试验方法

1.3.1 大豆蛋白-绿原酸复合物的制备 将一定量大豆蛋白溶解在去离子水中,加入 50%绿原酸标准品(以大豆蛋白质质量计)制备复合物溶液,调 pH 值至 12.0,磁力搅拌器搅拌(2 500 r/min)1 h 使其充分溶解,将大豆蛋白标记为 SPI,大豆蛋白-绿原酸复合物(以下简称“复合物”)标记为 SPI-CA。将复合物分别在微波功率 210 W 和 700 W 下处理 5 min,调 pH 值至 7,转移到培养皿中放入-18 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷冻 12 h,真空冷冻干燥 24 h,研磨粉碎后过 100 目筛,置于密封袋中保存,未经微波处理的试验组记为对照。

1.3.2 溶解度的测定 采用改良 Bradford 法测定蛋白质浓度。分别称取 0.2 g 样品,加 20 mL 蒸馏水到离心管中,将离心管置于涡旋仪上振荡 2 min,然后在 3 500 r/min 下离心 15 min,室温下静置 10 min,移取上层清液 0.2 mL,蒸馏水 0.8 mL,考马斯亮蓝溶液 5 mL,以蒸馏水 1 mL,考马斯亮蓝溶液 5 mL 为对照。采用分光光度计在波长 595 nm 处测定吸光度。以标准牛血清蛋白绘制标准曲线。

1.3.3 起泡性及泡沫稳定性的测定 称取 0.5 g 样品于烧杯中,加入 50 mL 蒸馏水,分散机搅打 3 min 后立即将全部溶液及泡沫转移到量筒中测定总体积,记为 V_0 ; 10 min 后再次测量总体积,记为 V_{10} ,按公式(1)和(2)计算起泡能力和泡沫稳定性。

$$\text{起泡能力: } F_c(\%) = \left[\frac{V_0 - 50}{50} \right] \times 100 \quad (1)$$

$$\text{泡沫稳定性: } F_s(\%) = \left[\frac{V_0 - V_{10}}{V_0 - 50} \right] \times 100 \quad (2)$$

1.3.4 乳化性的测定 称取 0.2 g 样品于烧杯中,加入 5 mL 蒸馏水和 5 mL 大豆油,使用分散机搅打 1 min,混合均匀后倒入 15 mL 离心管中,2 500 r/min 离心 5 min,测量离心管中的液体总体积和乳化液体积,按公式(3)计算乳化性。

$$\text{乳化性}(\%) = V_{\text{乳化液}}/V_{\text{总}} \times 100 \quad (3)$$

1.3.5 持水性的测定 称取 0.5 g 样品于预先称重的 15 mL 离心管中,样品和离心管质量分别记为 M_0 、 M_1 。随后加入 10 mL 蒸馏水,漩涡振荡 5 min 后,于 25 $^{\circ}\text{C}$ 下静置 1 h,4 000 r/min 离心 20 min,弃掉上清液,用滤纸吸干管壁残留水分后称重,记为 M_2 ,按公式(4)计算持水性。

$$\text{持水性}(\%) = \left[\frac{M_2 - M_1}{M_0} \right] \times 100 \quad (4)$$

1.3.6 持油性的测定 称取 0.2 g 样品于预先称重的 15 mL 离心管中,样品和离心管质量分别记为 M_0 、 M_1 。随后加入 5 g 大豆油,漩涡振荡 3 min 后,于 25 $^{\circ}\text{C}$ 下静置 30 min,3 000 r/min 离心 20 min,弃掉上清液,用滤纸吸干管壁残留油分后称重,记为 M_2 ,按公式(5)计算持油性。

$$\text{持油性}(\%) = \left[\frac{M_2 - M_1}{M_0} \right] \times 100 \quad (5)$$

1.3.7 傅里叶变换红外光谱分析方法 称取 1 mg 样品、100 mg KBr 于研钵中研磨均匀,置于样品模具中压片成膜,采用傅里叶变换红外光谱仪扫描在全波长 500~4 000 cm^{-1} 范围下的红外图谱,测定条件:扫描次数 32,分辨率 4 cm^{-1} 。用 OMNIC 软件转化成吸光度,使用 Peakfit 分析蛋白质酰胺 I 带(1 600~1 700 cm^{-1}),依次进行基线校正、去卷积、二阶导数拟合,根据各子峰面积计算 β -折叠(1 600~1 640 cm^{-1})、无规则卷曲(1 640~1 650 cm^{-1})、 α -螺旋(1 650~1 660 cm^{-1})、 β -转角(1 660~1 700 cm^{-1})占总二级结构的比例。

1.3.8 X-射线衍射分析方法 取适量样品置于样品盘,用玻璃片压平后测试。测定条件:电压 40 kV,电流 40 mA,衍射角 2θ 扫描范围 5° ~ 60° ,扫描速度 0.100 $^{\circ}/\text{s}$,步长 0.0204 $^{\circ}$,MDL Jade6.5 软件分析。

1.3.9 扫描电镜分析方法 取适量样品至载物台,喷金镀膜处理 30 s 后,在 10 kV 加速电压条件下,放大 2 000 倍进行观察。

1.4 数据处理

本文所涉及数据类测定试验均进行 3 次重复,采用 SPSS 26 和 Origin 2022 软件进行差异显著性分析和制图。肩标小写字母 a~c 和大写字母 A~C 分别表示大豆蛋白和复合物的组间差异显著性,“*”和“**”分别表示相同处理条件下不同样品间的差异显著性($P<0.05$)和极显著性($P<0.01$)。

2 结果与分析

2.1 溶解度

由图 1 可知,未进行微波处理时复合物溶解度为 290.55 $\mu\text{g/mL}$,显著低于大豆蛋白(617.35 $\mu\text{g/mL}$),可能是因为绿原酸与大豆蛋白作用伴随着亲水基团的封闭和芳香环结构的引入,从而提高了蛋白质的疏水性^[19-20],这与黄子林^[21]在核桃多酚对蛋白溶解性影响研究结果一致。大豆蛋白经 210 W 功率微波处理后,溶解度下降至 605.23 $\mu\text{g/mL}$,且随着微波功率增大至 700 W 时,进一步下降至 495.07 $\mu\text{g/mL}$ 。原因可能是微波的热效应导致蛋白质聚集后变性而形成不溶性组分^[22],也可能是由于蛋白的球形结构被破坏而变成棒状结构,致使大量疏水基团外露^[23]。微波处理后,复合物的溶解度显著升高,且随着功率增大会继续上升,微波功率为 700 W 时,溶解度可达 368.00 $\mu\text{g/mL}$ 。可能原因是绿原酸与大豆蛋白的交联不但

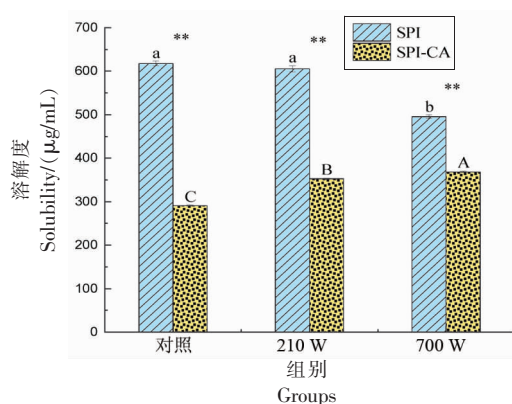


图 1 不同微波功率下 SPI 和 SPI-CA 的溶解度

Fig.1 Solubility of SPI and SPI-CA complex at different microwave powers

减弱了微波热效应的影响,而且使复合物分子涡动作用增强,分子间聚集作用减弱^[24]。表明微波处理可提高复合物的溶解性,而且能一定程度上抵消由于多酚加入所引起的蛋白质溶解度降低。

2.2 起泡性及泡沫稳定性

由图 2 可知,复合物起泡性为 143.67%,显著低于大豆蛋白(168.67%),而泡沫稳定性为 21.67%,显著高于大豆蛋白(13.67%),Ye 等^[13]在大豆蛋白-芦丁复合物的研究中也获得了类似结果。原因可能是绿原酸的活性基团通过分子间作用力占领界面,使得蛋白质不能完全舒展,导致起泡性降低,而水-空气界面膜稳定性的提高促使泡沫稳定性上升^[25]。微波处理在一定程度上能降低大豆蛋白的起泡性和泡沫稳定性,而复合物绿原酸后,复合物的起泡性随着微波功率的升高呈先

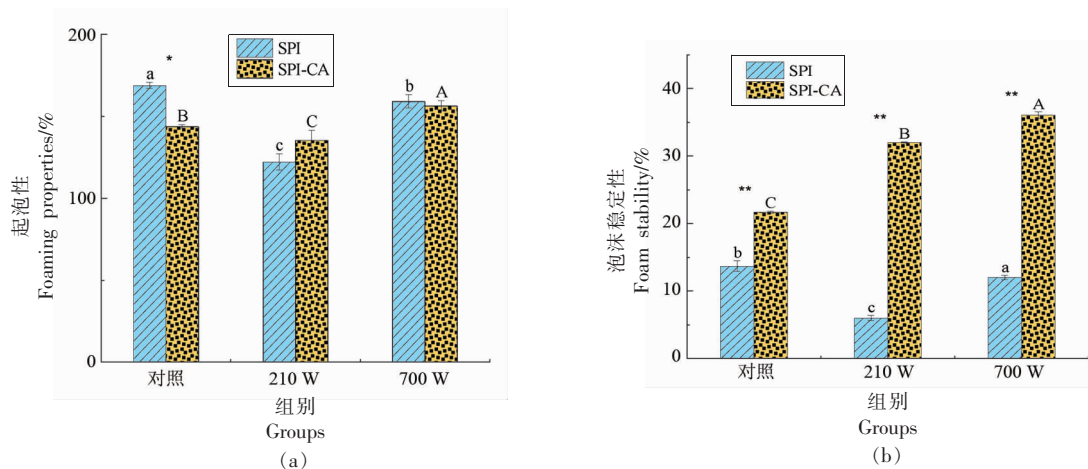


图 2 不同微波功率下 SPI 和 SPI-CA 的起泡性和泡沫稳定性

Fig.2 Foaming properties and foam stability of SPI and SPI-CA complex at different microwave powers

下降后上升的趋势,复合物的泡沫稳定性均显著高于对照,且当微波功率为700 W时,起泡性提升至156.30%,泡沫稳定性达到36.00%。表明微波条件下绿原酸的复合能有效改善大豆蛋白的起泡性。

2.3 乳化性

乳化性是指蛋白质扩散进入水油界面而形成稳定且均一乳化液的能力^[26]。由图3可知,复合物的乳化性显著高于大豆蛋白,这与迟云峰等^[27]和Djuardi等^[28]研究结果一致。原因可能是绿原酸与大豆蛋白的共价结合促使蛋白内部的多肽链伸展,复合物亲水亲油能力增强,从而降低了油-水相间的界面张力。经微波处理后,复合物的乳化性由对照组的43.00%提升到52.67%,而且微波功率越高,乳化性越好,吴寒等^[24]在高功率脉冲微波处理大豆蛋白-花色苷复合物的研究中也得到了类似结果。可能由于微波场诱导蛋白分子体系产生极化,蛋白刚性结构被破坏,部分 β -折叠结构转化成 α -螺旋和 β -转角结构,分子更加松散,柔性增大^[18]。研究表明微波条件和绿原酸的加入对改善大豆蛋白的乳化性具有积极作用。

2.4 持水性

由图4所示,复合物持水性为420.90%,显著低于大豆蛋白(807.98%),可能的原因是绿原酸通过氢键和疏水键等非共价键与大豆蛋白分子连接,形成大规模交联和聚合所致^[29]。经微波处理后,大豆蛋白持水性显著低于对照,而复合物持水性随微波功率的升高呈现先下降后上升的趋势,且当微波功率为700 W时达到432.88%。李忍等^[30]得到了类似结果,这可能是由于微波处理有利于复合物结构展开,从而改善三维网络结构,使空间结构更加均匀。研究表明合适的微波作用对复合物持水性提升有积极作用。

2.5 持油性

由图5可知,复合物的持油性为269.70%,显著低于大豆蛋白(332.88%),原因可能是绿原酸分子与大豆蛋白的结合使蛋白构象发生改变,从而对大豆蛋白中的亲油性基团产生掩蔽所致^[31]。微波处理后,大豆蛋白及其绿原酸复合物的持油性均显著升高,且功率越大,增加的程度也越大,在微波功率700 W时,分别达到465.55%和402.51%。

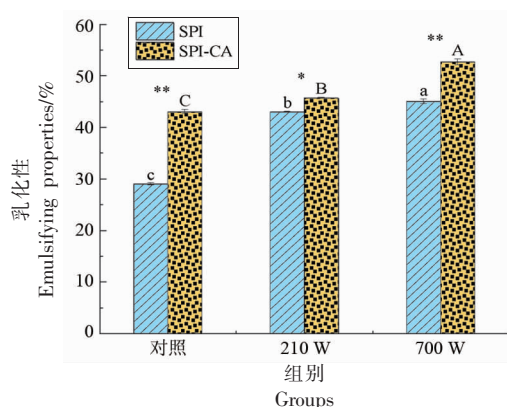


图3 不同微波功率下SPI和SPI-CA的乳化性
Fig.3 Emulsifying properties of SPI and SPI-CA complex at different microwave powers

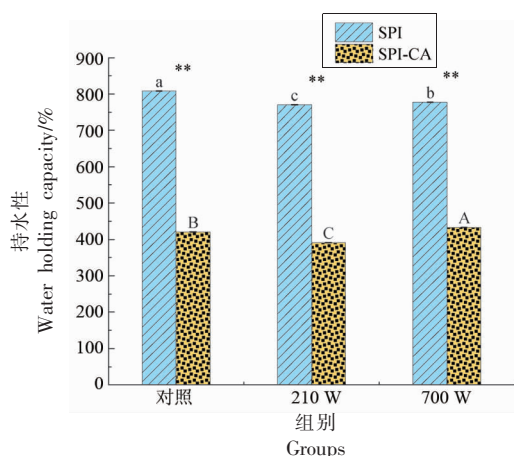


图4 不同微波功率下SPI和SPI-CA的持水性
Fig.4 Water holding capacity of SPI and SPI-CA complex at different microwave powers

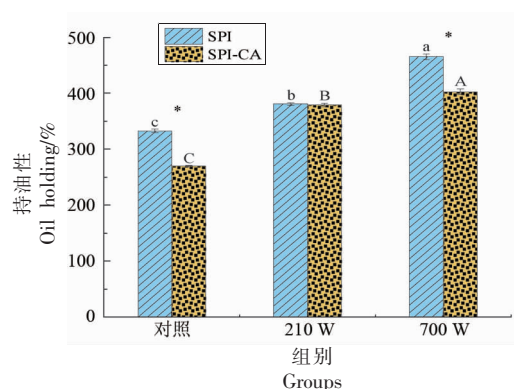


图5 不同微波功率下SPI和SPI-CA的持油性
Fig.5 Oil-holding of SPI and SPI-CA complex at different microwave powers

这是由于微波处理使蛋白极性改变,表面结构展开,肽链上的疏水基团暴露所致^[30]。表明微波可提高复合物的持油性,亦可抵消多酚所引起蛋白质持油性降低的程度。

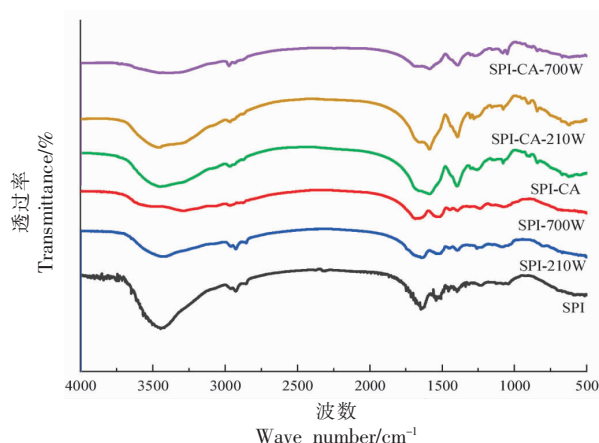
2.6 傅里叶红外光谱分析

如图 6 和表 1 所示,得到了大豆蛋白-绿原酸复合物在 4 000~500 cm^{-1} 的光谱和复合物的二级结构占比,观察到酰胺 I 带(1 600~1 700 cm^{-1} ,与 C=O 键结合)、酰胺 II 带(1 480~1 580 cm^{-1} ,对应 N-H 弯曲和 C-N 伸缩)和酰胺 III 带(1 220~1 300 cm^{-1} ,对应 C-O 和 C-O-C 振动)^[32]。绿原酸与大豆蛋白的相互作用可以通过监测酰胺 I 带和酰胺 II 带的光谱位移和强度变化来反映。与大豆蛋白相比,复合物在 3 430 cm^{-1} 处吸收峰强度减弱,在 3 014~2 838 cm^{-1} 和 1 620~1 390 cm^{-1} 范围内部分吸收峰发生了偏移和消失。可能原因是酚类物质会通过氢键与蛋白 C-N、N-H、COO-基团发生作用,从而对部分吸收峰产生影响。同时,由于绿原酸对蛋白质内部氢键和二硫键形成具有干扰作用,因此复合物中无规则卷曲和 β -折叠降低, β -转角增加,蛋白结构松散。

大豆蛋白和复合物在 210 W 微波功率处理下,吸收峰波数未发生明显变化,在 1 059~600 cm^{-1} 范围吸收峰变强且产生了新的衍射峰,在 700 W 微波功率处理下,3 014~2 838 cm^{-1} 范围的吸收峰变强变宽,1 600~1 100 cm^{-1} 范围内的吸收峰发生偏移,强度增加。表明低微波功率可以使复合物结构由紧凑变得舒展,高微波功率可使复合物结构变得紧凑,这是分子结构改变,肽链重排,氢键断裂并与羟基结合后产生复杂振动拉伸、C-N 伸缩振动和 N-H 弯曲振动变化所致。

2.7 X-射线衍射分析

图 7 和表 2 分别是不同微波功率下,大豆蛋白、大豆蛋白-绿原酸复合物的 X-射线衍射图和结晶度。大豆蛋白在 2θ 值分别为 19.5°和 9.1°附近出现衍射峰,而复合物衍射峰强度和结晶度均下降,且在 11.2°,14.7°,17.7°,30.8°附近出现新的衍射峰。表明绿原酸的加入增加了分子间距离,两者通过交联破坏了蛋白质分子的排列,引起二级结构变化,这与李彤等^[33]研究阿魏酸使大豆蛋白膜的结晶度降低的结论相似。经微波处理后,



注:样品标记后缀“210W”和“700W”分别表示微波功率为 210 W 和 700 W 下所得样品,未标记后缀的为未进行微波处理样品,下同。

图 6 不同微波功率下 SPI 和 SPI-CA 的红外光谱图
Fig.6 Infrared spectra of SPI and SPI-CA at different microwave powers

表 1 不同微波功率下 SPI 和 SPI-CA 二级结构(%)
Table 1 Secondary structure of SPI and SPI-CA at different microwave powers (%)

样品	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规则卷曲
SPI	0.00	31.66	33.48	34.20
SPI-CA	0.00	13.23	60.73	25.75
SPI-210W	22.00	47.00	25.00	21.00
SPI-CA-210W	8.24	76.54	15.32	0.00
SPI-700W	17.80	36.72	29.93	16.53
SPI-CA-700W	28.00	22.00	58.00	91.00

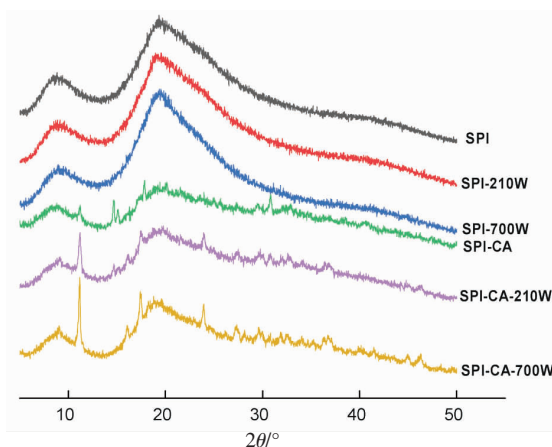


图 7 不同微波功率下 SPI 和 SPI-CA 的 X-射线衍射图
Fig.7 X-ray diffraction pattern of SPI and SPI-CA complex at different microwave powers

表2 不同微波功率下SPI和SPI-CA的结晶度(%)
Table 2 Crystallinity of SPI and SPI-CA at different microwave powers (%)

样品	未微波	微波功率	
		210 W	700 W
SPI	57.35	56.75	49.29
SPI-CA	24.20	41.04	41.39

大豆蛋白未出现新的衍射峰,而峰强度和结晶度明显下降。复合物经微波处理后结晶度升高,在 11.2° 和 17.7° 附近的衍射峰强度上升, 14.7° 附近的衍射峰强度下降, 30.8° 附近的衍射峰消失, 23.9° 附近出现新的衍射峰,且功率越大,上述现象越明显。原因可能是微波作用使复合物分子链振动加剧,分子链之间产热及机械作用使复合物在高温下发生热变性形成聚集体,舒展无序的结构减少,同时微波作用引起复合物分子间距变小,分子间相互作用增强,化学反应加剧^[30]。

2.8 扫描电镜分析

由图8可知,复合物多为多边形和不规则形,表面光滑没有裂痕,而未在复合物表面发现绿原酸的针状晶体形式,表明二者发生了相互作用,这与任顺成等^[34]研究结构基本一致。与大豆蛋白相比,复合物的颗粒结构变得杂乱,组织体系更加松散并向内卷曲,表面出现明显凹痕和裂痕,这与Xu等^[35]研究玉米醇溶蛋白-多酚复合物会形成小粒径球体聚合物的结论相一致。可能的原因是绿原酸与大豆蛋白的相互作用改变了大豆蛋白的内部结构。大豆蛋白和复合物经微波处理后,复合物粒径减小,表面粗糙,凹凸不平,颗粒聚集,表面裂纹增加,小颗粒增多,向内卷曲程度加大,且功率越大,上述现象越明显。原因可能是微波作用所产生的热能促进了蛋白分解和结构改变。这与韩莉君等^[22]在微波处理对花生蛋白的影响相关研究结论一致。

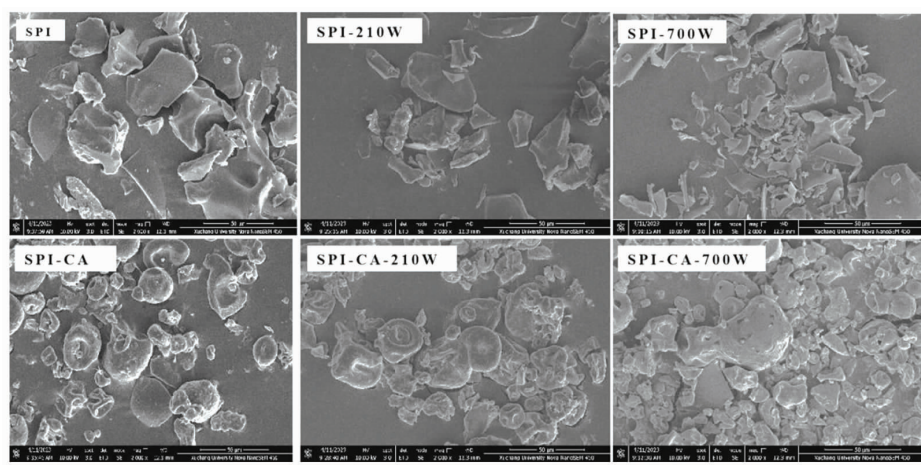


图8 不同微波功率下SPI和SPI-CA复合物的扫描电镜图

Fig.8 SEM of SPI and SPI-CA complexes at different microwave powers

3 结论

与大豆蛋白相比,大豆蛋白-绿原酸复合物的溶解性、持油性、起泡性降低,而泡沫稳定性和乳化性升高,经微波处理后复合物的溶解性、持油性、泡沫稳定性和乳化性均明显高于对照组,而持水性降低;吸收峰强度减弱、偏移,且出现了新的衍射峰,峰强度和结晶度均下降;粒径减小,表面变得粗糙,平整性下降,卷曲,微波功率增加会促使上述变化程度加剧。研究表明,微波可抵消由多酚加入所引起的蛋白溶解性和持油性降低,在微

波环境下绿原酸能更有效地改善大豆蛋白的起泡性能和乳化性能。本研究为有效提升大豆蛋白理化性质和功能特性,促进相关产业发展提供了理论支撑。

参 考 文 献

- [1] 董梦飞,郭兴凤,张明,等.大豆分离蛋白及其改性产物对馒头品质的影响[J].中国食品学报,2023,23(4):251-261.

- DONG M F, GUO X F, ZHANG M, et al. Effect of soy protein isolate and its modified products on steamed bread quality[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23 (4): 251-261.
- [2] MIAO M, XIANG L. Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid[J]. Advances in Pharmacology (San Diego, Calif.), 2020, 87: 71-88.
- [3] 李文嘉, 徐彬, 邓文, 等. 绿原酸功能及应用研究进展[J]. 河南农业, 2023(4): 57-58.
- LI W J, XU B, DENG W, et al. Research progress on the function and application of chlorogenic acid[J]. Henan Agriculture, 2023(4): 57-58.
- [4] SALZILLO A, RAGONE A, SPINA A, et al. Chlorogenic acid enhances doxorubicin-mediated cytotoxic effect in osteosarcoma cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22 (16): 8586.
- [5] NAVEED M, HEJAZI V, ABBAS M, et al. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 97: 67-74.
- [6] CHEN J L, LI Y, YU B, et al. Dietary chlorogenic acid improves growth performance of weaned pigs through maintaining antioxidant capacity and intestinal digestion and absorption function[J]. Journal of Animal Science, 2018, 96(3): 1108-1118.
- [7] XUE F, XIE Y R, LI C, et al. Prevention of frozen-dough from deterioration with incorporation of glutenin-polyphenols conjugates prepared by ultrasound[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 151(1): 112141.
- [8] CHEN G, WANG S T, FENG B, et al. Interaction between soybean protein and tea polyphenols under high pressure[J]. Food Chemistry, 2019, 277: 632-638.
- [9] HAN C W, MENG M, ZHANG H H, et al. Progressive study of the effect of superfine green tea, soluble tea, and tea polyphenols on the physico-chemical and structural properties of wheat gluten in noodle system [J]. Food Chemistry, 2020, 308: 125676.
- [10] 李杨, 闫世长, 齐宝坤, 等. 绿原酸改性黑芸豆蛋白抗氧化活性与乳化性能研究[J]. 农业机械学报, 2020, 51(5): 356-362.
- LI Y, YAN S C, QI B K, et al. Emulsifying properties and antioxidant activities of black kidney bean protein modified by chlorogenic acid[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2020, 51(5): 356-362.
- [11] ADRAR N S, MADANI K, ADRAR S. Impact of the inhibition of proteins activities and the chemical aspect of polyphenols-proteins interactions[J]. Pharanutrition, 2019, 7: 100142.
- [12] WANG Y, XIE Y, WANG A D, et al. Insights into interactions between food polyphenols and proteins: An updated overview[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2022, 46(5): e16597.
- [13] YE J P, DENG L P, WANG Y R, et al. Impact of rutin on the foaming properties of soybean protein: Formation and characterization of flavonoid-protein complexes[J]. Food Chemistry, 2021, 362: 130238.
- [14] MENG Y Y, LI C. Conformational changes and functional properties of whey protein isolate-polyphenol complexes formed by non-covalent interaction[J]. Food Chemistry, 2021, 364: 129622.
- [15] ZHAO Q, YU X J, ZHOU C S, et al. Effects of collagen and casein with phenolic compounds interactions on protein *in vitro* digestion and antioxidation[J]. LWT, 2020, 124: 109192.
- [16] 刘海波, 廖超, 郑万琴, 等. 微波处理小麦面粉对淀粉及蛋白性质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(14): 91-97.
- LIU H B, LIAO C, ZHENG W Q, et al. Effect of microwave-treated wheat flour on starch and protein properties[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(14): 91-97.
- [17] 张艺玮, 任静, 张舒, 等. pH对微波改性薏米蛋白功能特性的影响[J]. 中国调味品, 2021, 46(9): 48-52.
- ZHANG Y W, REN J, ZHANG S, et al. Effect of pH on functional properties of microwave-modified coix seed protein[J]. China Condiment, 2021, 46(9): 48-52.
- [18] 胡方洋, 陈金玉, 王轻, 等. 不同干燥方式对苦荞蛋白功能性质的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(1): 103-108.
- HU F Y, CHEN J Y, WANG Q, et al. Effects of different drying methods on functional properties of tartary buckwheat protein [J]. Food Science and

- Technology, 2020, 45(1): 103–108.
- [19] PAUL A, SEGAL D, ZACCO E. Glycans to improve efficacy and solubility of protein aggregation inhibitors[J]. *Neural Regeneration Research*, 2021, 16(11): 2215–2216.
- [20] YANG J, ROOZALIPOUR S P L, BERTON – CARABIN C C, et al. Air–water interfacial and foaming properties of whey protein–sinapic acid mixtures[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 112: 106467.
- [21] 黄子林. 核桃多酚对核桃蛋白结构和性质的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
- HUANG Z L. Study on the effect of walnut pehnolic compounds on structure and properties of walnut protein[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.
- [22] 韩莉君, 杨清馨, 刘少伟. 微波处理对花生蛋白功能特性和结构的影响[J]. *食品科技*, 2023, 48(3): 216–223.
- HAN L J, YANG Q X, LIU S W. Effects of microwave treatments on functional properties and structure of peanut protein [J]. *Food Science and Technology*, 2023, 48(3): 216–223.
- [23] CHEN G, WANG S T, FENG B, et al. Interaction between soybean protein and tea polyphenols under high pressure[J]. *Food Chemistry*, 2019, 277: 632–638.
- [24] 吴寒, 刘浩男, 邸清茹, 等. 高功率脉冲微波协同花色苷对大豆分离蛋白理化特性的影响及其在蛋糕中的应用[J]. *食品科学*, 2023, 44(17): 60–66.
- WU H, LIU H N, DI Q R, et al. Effects of blackberry anthocyanins (BANs) coupled with high power pulse microwave (HPPM) on physiochemical properties of soybean protein isolate (SPI) and application of HPPM treated SPI–BANs complex in cake[J]. *Food Science*, 2023, 44(17): 60–66.
- [25] MUDASIR A M, CHARANJIV S S. Polyphenol removal from sunflower seed and kernel; Effect on functional and rheological properties of protein isolates[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63: 705–715.
- [26] FENG H Y, JIN H, GAO Y, et al. Effects of freeze–thaw cycles on the structure and emulsifying properties of peanut protein isolates[J]. *Food Chemistry*, 2020, 330: 127215.
- [27] 迟云峰, 迟治平, 王喜刚, 等. 大豆蛋白–多酚在加工过程中功能特性及抗氧化性的研究[J]. *中国食品添加剂*, 2022, 33(8): 122–128.
- CHI Y F, CHI Z P, WANG X G, et al. Study on functional properties and antioxidant activity of soybean protein–polyphenols during processing[J]. *China Food Additives*, 2022, 33(8): 122–128.
- [28] DJUARDI A U P, YULIANA N D, OGAWA M, et al. Emulsifying properties and antioxidant activity of soy protein isolate conjugated with tea polyphenol extracts[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, 57(10): 3591–3600.
- [29] GAO L L, LI Y Q, WANG Z S, et al. Physicochemical characteristics and functionality of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) seed protein[J]. *Food Chemistry*, 2018, 240: 980–988.
- [30] 李忍, 姜鹏, 戴凌燕, 等. 微波处理对高粱理化性质及蛋白质结构特性的影响研究[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(23): 27–33.
- LI R, JIANG P, DAI L Y, et al. Effects of microwave treatment on physicochemical properties and protein structure characteristics of sorghum [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(23): 27–33.
- [31] SHEN Y T, TANG X, LI Y H. Drying methods affect physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate [J]. *Food Chemistry*, 2021, 339: 127823.
- [32] ZHANG W J, ZHAO P P, LI J Z, et al. Effects of ultrasound synergized with microwave on structure and functional properties of transglutaminase – crosslinked whey protein isolate[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 83: 105935.
- [33] 李彤, 张宏, 赵晓彤, 等. 大豆分离蛋白/纳米纤维素/阿魏酸复合膜的制备及其包装性能[J]. *食品科学*, 2020, 41(17): 253–260.
- LI T, ZHANG H, ZHAO X T, et al. Preparation and packaging properties of soybean protein isolate/cellulose nanofiber/ferulic acid composite film [J]. *Food Science*, 2020, 41(17): 253–260
- [34] 任顺成, 孙晓莎. 芦丁和槲皮素对小麦淀粉理化特性的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(2): 25–30.
- REN S C, SUN X S. Effects of rutin and quercetin on the physicochemical properties of wheat starch[J]. *Food Science*, 2018, 39(2): 25–30
- [35] XU Y N, WEI Z H, XUE C H, et al. Assembly of zein –polyphenol conjugates via carbodiimide method: Evaluation of physicochemical and functional properties[J]. *LWT*, 2022, 154: 112708.

Physicochemical and Structural Characteristics of Soy Protein Chlorogenic Acid Complex under Microwave Conditions

Gao Xueli^{1,3}, Ma Menglong², Li Guanghui^{1,3}, Wang Yonghui^{1,3}, He Shenghua^{1,3}, Guo Weiyun^{1,3*}

(¹Food and Pharmacy College, Xuchang University, Xuchang 461000, Henan

²School of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430000

³Collaborative Innovation Center of Green Manufacturing of Functional Foods, Xuchang 461000, Henan)

Abstract To investigate the influence of chlorogenic acid on the physicochemical properties and structural characteristics of soy protein under microwave conditions, microwave was used to analyze the changes in solubility, water holding capacity, emulsifying capacity, oil holding capacity, and foaming capacity of soy protein chlorogenic acid complexes (SPCA). The crystal structure was characterized and the particle morphology was observed. The results showed that the solubility, oil retention and foaming ability of soybean protein decreased to 290.55 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 269.70% and 143.67% respectively, while the foam stability and emulsifying ability increased to 21.67% and 43.00% respectively when chlorogenic acid was added. The solubility, oil retention, foam stability and emulsification of SPCA can be increased to 368.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 402.51%, 156.30% and 52.67%, while the water retention decreased to 432.88% after microwave treatment at 700 W for 5 min. The structural analysis of SPCA showed a decrease in diffraction peak intensity and crystallinity, with the appearance of new diffraction peaks and a significant reduction in particle size. The surface was rough and uneven, with the structure curling inward and significantly affected by microwave action. The conclusion is that microwave can offset the decrease in protein solubility and oil holding caused by the addition of polyphenols, and adding chlorogenic acid under microwave conditions can more effectively improve the foaming and emulsifying properties of soy protein.

Keywords microwave treatment; chlorogenic acid; soybean protein; physicochemical properties; structural properties; interaction