田凤珠, 李丹, 左锋, 等. pH 驱动法改善米糠蛋白溶解特性 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(16): 148−154. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080137

TIAN Fengzhu, LI Dan, ZUO Feng, et al. Enhancement of Rice Bran Protein Solubility via pH-Driven Modification[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(16): 148−154. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080137

· 研究与探讨 ·

pH 驱动法改善米糠蛋白溶解特性

田凤珠[1],李　丹[1,2],左　锋[1,3,*],胡　昊[4]

（1.黑龙江八一农垦大学食品学院,黑龙江大庆 163319;
2.黑龙江八一农垦大学国家杂粮工程技术中心,黑龙江大庆 163319;
3.粮食副产物加工与利用教育部工程研究中心,黑龙江大庆 163319;
4.黑龙江省北大荒米业集团有限公司,黑龙江哈尔滨 150090）

摘　要: 为提高米糠蛋白（Rice bran protein，RBP）的溶解性，进而改善其在食品加工中的应用性能，本研究采用 pH 驱动法，在 pH1.5、2.5、3.5、10、11 及 12 条件下对 RBP 进行处理，并对比分析改性前后 RBP 的结构与功能特性变化。结果显示，RBP 溶解度随 pH 升高呈逐渐提升趋势，其中 pH12 条件下处理效果最佳，溶解性达 70.57%，较未处理组（6.72%）显著提高 63.85%；RBP 的平均粒径、ζ-电位绝对值及表面疏水性随 pH 升高发生显著变化，pH12 处理后，其平均粒径降至最小（140.47 nm），ζ-电位绝对值增至最大（14.8 mV），表面疏水性达最高（2289），且内源荧光强度明显增强，最大发射波长出现红移；pH12 处理后，RBP 的 β-折叠相对含量增加 10.43%，α-螺旋与 β-转角相对含量分别减少 3.29% 和 9.13%。综上，pH 驱动法可促使 RBP 分子发生解聚，并增强分子间静电斥力，从而显著提升其溶解性。本研究为推动 RBP 广泛应用提供了新方案。

关键词: 米糠蛋白, pH 驱动法, 溶解性, 结构

中图分类号: TS210.9　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)16−0148−07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080137　　本文网刊:

Enhancement of Rice Bran Protein Solubility via pH-Driven Modification

TIAN Fengzhu[1], LI Dan[1,2], ZUO Feng[1,3,*], HU Hao[4]

（1.College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;
2.National Engineering Technology Center of Cereals, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;
3.Engineering Research Center of Processing and Utilization of Grain By-products and Utilization of Ministry of Education, Daqing 163319, China;
4.Heilongjiang Beidahuang Rice Industry Group Co., Ltd., Harbin 150090, China）

Abstract: To enhance the solubility of rice bran protein (RBP) and thereby improve its application performance in food processing, the pH-driven method was employed in this study, under which RBP was treated at pH conditions of 1.5, 2.5, 3.5, 10, 11, and 12, and structural and functional properties before and after modification were compared and analyzed. The results showed that the solubility of RBP was observed to be gradually increased with rising pH, with the optimal effect achieved at pH12, where a solubility of 70.57% was reached, representing a significant improvement of 63.85% compared to the untreated group (6.72%). The average particle size, absolute ζ-potential value, and surface hydrophobicity of RBP were found to be significantly altered as the pH increased; After treatment at pH12, the average particle size was reduced to the minimum (140.47 nm), the absolute ζ-potential value was increased to the maximum (14.8 mV), and the surface hydrophobicity was elevated to the highest value (2289), along with a marked enhancement in intrinsic fluorescence intensity and a red shift in the maximum emission wavelength. Following pH12 treatment, the relative content of β-sheets in

收稿日期: 2025−08−13

基金项目: 黑龙江省“双一流”学科协同创新成果项目（LJGXCG2024-P32）;国家十四五重点研发计划子课题（2021YFD2100904）。

作者简介: 田凤珠（2000−）,女,硕士研究生,研究方向:农产品加工及贮藏工程,E-mail: 1456514212@qq.com。

*** 通信作者:** 左锋（1979−）,男,博士,教授,研究方向:植物蛋白及农副产品加工利用,E-mail: zuofeng-518@126.com。

RBP was increased by 10.43%, while the relative contents of α-helices and β-turns were reduced by 3.29% and 9.13%, respectively. These findings indicate that pH-driven method can induce depolymerization of RBP molecules and strengthen intermolecular electrostatic repulsion, thereby significantly improving its solubility. This study offers a new approach to promote the widespread application of RBP.

Key words: rice bran protein; pH-driven; solubility; structure

米糠是稻米加工的主要副产物，主要由清蛋白(34.39%)、球蛋白(30.74%)、谷蛋白(23.4%)和醇溶蛋白(5.54%)组成[1]。米糠富含蛋白质(约 10%~20%)、脂肪(15%~20%)、膳食纤维(25%~40%)、碳水化合物(34%~54%)，是一种营养价值较高的可再生资源[2−4]。然而，目前米糠的利用率较低，多用作动物饲料，造成资源浪费[5−6]。米糠蛋白(Rice bran protein, RBP)被称为“天赐营养源”[7]，是一种优质植物蛋白，必需氨基酸组成接近 FAO/WHO 推荐标准[8]，生物效价与牛奶、鸡蛋相当，其中赖氨酸含量高达 5.8%[9]。RBP 不含抗营养因子，过敏性低，适用于特殊人群及婴幼儿食品[10]。但由于其易聚集、溶解度低的特性，在食品工业中的应用受到限制[8]。

溶解性既是蛋白功能性质的基本指标[11]，又影响着乳化性、起泡性和凝胶性等其他功能[12]。良好的蛋白溶解性是食品加工领域应用的前提和基础，这也有利于改进食品组织结构，以提高食品保存性[13]。因此溶解性是目前植物蛋白的研究热点。pH 驱动法可有效诱导蛋白质亚基解离，并通过结构修饰提高其溶解性。pH 驱动法是指在极端 pH 下，蛋白质分子侧链带同种电荷，静电斥力导致氢键和二硫键断裂，蛋白质从紧密结构变为松散状态从而改变蛋白质构象，恢复中性 pH 后，蛋白质重新折叠形成“熔融球”状态，疏水基团暴露但结构更松散，从而有效改善蛋白质功能特性的方法[14−15]。pH 驱动法操作简便，无需使用有机试剂，具有成本低和效率高等优势[16−18]。该法能有效改善蛋白质的溶解特性[19]。Guo 等[20] 发现 pH 偏移处理可以破坏蛋白分子间氢键和疏水相互作用，从而提升溶解度。张唯唯等[21]将蛋白极端酸碱 pH 偏移处理后，尤其是 pH 为 10 时，其溶解性有所增强。

本研究主要利用 pH 驱动法对 RBP 进行简单、安全、高效的修饰，研究其结构和溶解性的变化，对解决 RBP 加工性能不佳、利用率较差等问题具有指导意义，也为今后 RBP 在食品行业中的广泛应用提供理论基础。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

RBP(含量≥90%)　陕西帕尼尔生物科技有限公司；十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)　北京兰杰柯科技有限公司；1-苯胺基萘-8-磺酸(1-anilinonaphthalene-8-sulfonic acid, ANS)　美国 Sigma-Aldrich 公司；其他试剂均为分析纯。

ZEN3700 电位测定仪　北京海鑫瑞科技有限公司；CF16RN 高速冷冻离心机　日本日立公司；DYCZ-24K 型电泳仪　北京六一生物科技有限公司；CHRISTALPha 型冷冻干燥机　德国 Marin Christ 公司；FE28 型 pH 计　梅特勒-托利多仪器(上海)公司；FST-RO-JK10 超纯水机　上海富诗特环保科技有限公司；HJ-5 搅拌器　常州市瑞华仪器制造有限公司；U-2910 紫外分光光度计　上海美谱达仪器有限公司；FP-8000 荧光光谱仪　德国 Eppendorf 公司；TY-80S 脱色摇床　江苏金怡仪器科技有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　pH 驱动法处理 RBP　分别配制 6 份浓度为 0.01 g/mL 的 RBP，于磁力搅拌器室温搅拌 1 h。其中 3 份分别用 2 mol/L HCl 溶液调节 pH 至 1.5、2.5 和 3.5，另 3 份用 2 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 10.0、11.0 和 12.0。所有样品在目标 pH 下保持 2 h 后，再用相应酸碱溶液将 pH 统一回调至 7.0。将蛋白溶液装入截留分子量 10000 Da 的透析袋中，在 4 ℃ 条件下持续透析 48 h 以去除盐离子。透析完成后，将所得蛋白质溶液进行冷冻干燥处理，冻干成粉末后贮藏于干燥器中室温保存备用。以未经酸碱处理的 RBP 溶液作为对照[22]。

1.2.2　RBP 粒径及分布、多分散性指数(polydispersity index, PDI)和 Zeta 电位测定　参考邹赫楠[23] 的研究方法并稍作修改，具体操作如下：取不同样品使用去离子水配制成 0.1 mg/mL(pH7.0)，磁力搅拌 30 min 后，于 8000×g 离心 10 min，随后采用电位测定仪测定上清液的粒径、PDI 及 Zeta 电位。

1.2.3　RBP 表面疏水性的测定　采用 ANS 荧光探针法测定 RBP 表面疏水性(H_0)，参照 Yu 等[24] 研究方法并稍作调整。具体步骤如下：将不同样品用去离子水配制成 1 mg/mL 母液，梯度稀释至 0.005~0.50 mg/mL 系列浓度。取 4 mL 不同浓度蛋白溶液与 50 μL、8 mmol/L ANS 探针溶液于试管中混匀，在激发波长 390 nm、发射波长 470 nm、狭缝宽度 5 nm 条件下测定荧光强度。以蛋白浓度为横坐标、荧光强度为纵坐标绘制标准曲线，其线性回归方程的初始斜率即为 RBP 表面疏水性指数。

1.2.4　RBP 内源荧光光谱的测定　采用 Zhou 等[25] 的方法并稍作改进，测定 RBP 的内源荧光光谱。具体步骤如下：将不同样品用去离子水稀释至 0.1 mg/mL，室温下以 8000×g 离心 10 min 后取上清液，置于四面透光石英比色皿中。设置荧光分光光度仪参数：激发波长 290 nm，发射波长扫描范围 300~

500 nm, 扫描速率 12000 nm/min, 激发与发射狭缝宽度均为 5 nm, 随后进行荧光光谱测定。

1.2.5 RBP 傅里叶红外光谱的测定 参考 Yang 等[26] 的研究方法并稍作改进, 具体操作步骤如下: 首先将不同冻干样品与溴化钾按 1∶100 的质量比均匀混合, 使用玛瑙研钵充分研磨至粉末状。随后将混合粉末压制成透明薄片, 置于傅里叶变换红外光谱仪中进行蛋白质二级结构分析。仪器参数设置如下: 扫描次数 32 次, 分辨率 4 cm^{-1}, 扫描波数范围 400~4000 cm^{-1}。所得光谱数据采用 PeakFit 4.12 软件进行基线校正和降噪处理。为进一步提高谱图分辨率, 对数据进行二阶导数处理。最后通过分峰拟合分析确定各特征吸收峰, 据此解析蛋白质二级结构的组成及其相对含量。

1.2.6 RBP 电泳测定 参考 Ma 等[27] 的方法, 采用不连续 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)进行实验。首先配制 12% 的分离胶和 5% 的浓缩胶, 并以含 0.05 mol/L Tris-0.384 mol/L 甘氨酸和 0.1% 的 SDS(pH8.3)的溶液作为电极缓冲液。将不同样品稀释至 5 mg/mL 后, 分别与 5× SDS 上样缓冲液按 4∶1 比例混合, 并于 95 ℃ 水浴加热 5 min。取 10 μL 处理后的样品上样, 初始电泳条件设置为 10 mA, 待样品进入分离胶后将电流调整为 25 mA。电泳结束后, 使用考马斯亮蓝染液染色 1 h, 经脱色液反复脱色 4~5 次后, 最后采用凝胶成像系统进行结果分析。

1.2.7 RBP 溶解特性 参考 Wang 等[28] 采用 Lowry 法对蛋白质溶解度进行测定。取不同样品使用去离子水配制成 0.01 mg/mL, 在室温下磁力搅拌 30 min 使其充分溶解, 随后于 8000×g 离心 10 min。取上清液进行适当稀释后, 以牛血清白蛋白为标准蛋白, 采用 Lowry 法测定蛋白质含量并绘制标准曲线。蛋白质溶解度计算如下。

$$溶解度(\%)=\frac{上清液中蛋白质含量}{样品中蛋白质含量}\times 100$$

1.3 数据处理

所有实验均重复 3 次, 数据以均值±标准差表示。实验数据采用 SPSS Statistics 26.0 软件进行单因素方差分析, 以最小显著差异法检验数据间的差异显著性(P<0.05, 显著)。采用 Origin 2021 软件绘制图像, 并使用 PeakFit 4.12 软件对色谱数据进行分峰拟合处理。

2 结果与分析

2.1 pH 驱动处理对 RBP 粒径、PDI 和 Zeta 电位的影响

粒径可以间接反映蛋白质结构变化的指标, 粒度分布可以充分反映样品溶液中粒子的大小和均匀性[29]。相比于未处理的 RBP, 采用 pH 驱动法处理的 RBP 粒径分布曲线明显向小尺寸方向移动, 且分布范围变狭窄(图 1(A)), 蛋白质的平均粒径较对照组显著减小(P<0.05), 碱性条件对粒径的减小效果明显优于酸性条件(图 1(B))。其中 pH 调至 12 时平均粒径(137.1 nm)减小最为明显, 这可能是极端 pH 条件下蛋白质分子间静电排斥力增强, 诱导 RBP 中的大粒径聚集体发生解聚, 形成更多小粒径颗粒, 从而有效减弱蛋白质分子间的聚集作用。已有研究表明, 较小粒径的蛋白质聚集体通常有利于提升体系的溶解特性[30]。

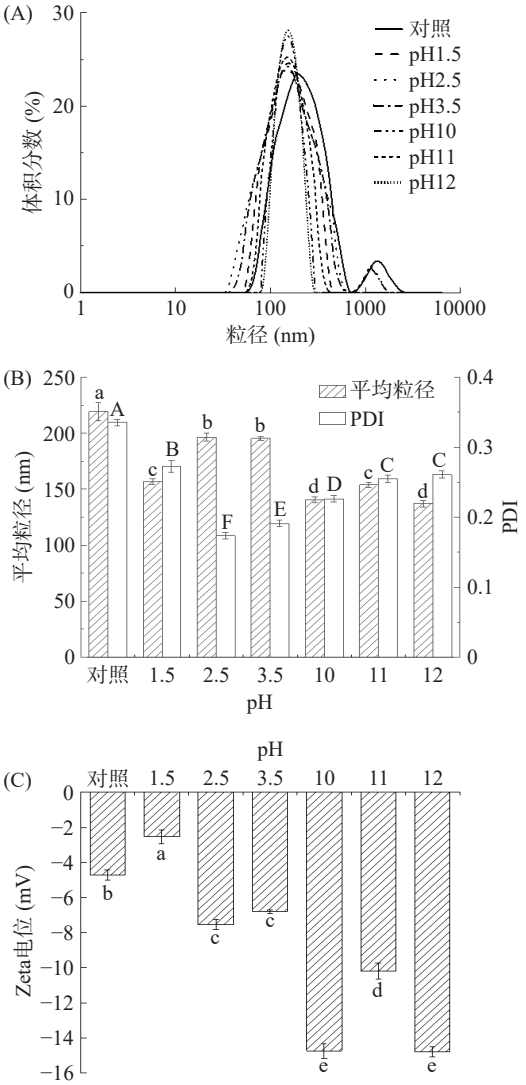


图 1 pH 驱动处理对 RBP 粒径分布(A)、平均粒径及 PDI(B)和 Zeta 电位(C)的影响

Fig.1 Effects of pH-driven processing on RBP particle size distribution(A), average particle size, PDI (B), and Zeta potential (C)

注: 不同字母表示差异显著(P<0.05), 图 2、图 6 同。

PDI 可用于表征聚合物分子量分布的均匀性。经 pH 处理后, RBP 的 PDI 值较对照组均减小, 表明溶液分散性得到改善, 蛋白质在溶液体系中的分布更加均匀。这种现象可能是由于酸碱处理过程中 RBP 产生较强的静电斥力, 从而促使其均匀分布[31]。

蛋白质溶液的 ζ-电位是表征蛋白质分子间相互作用的重要指标。在水溶液中, 当 RBP 的亲水基团暴露于蛋白质表面, 且带负电的氨基酸残基多于带正

电的氨基酸残基时，溶液 ζ-电位呈现负值。如图 1(C)所示，不同 pH 处理会显著影响 RBP 的 ζ-电位(P<0.05)。与对照组的 ζ-电位绝对值(4.7 mV)相比，经 pH 处理后样品的 ζ-电位绝对值均呈现增大趋势，其中碱性处理组的变化尤为显著。当 pH 调至 12 时 ζ-电位绝对值最大(14.8 mV)。此外，当 pH 调至 1.5 的极端酸性条件下，ζ-电位绝对值出现下降现象，这可能是强酸性环境削弱了蛋白质与多肽间的静电相互作用所致。其余 pH 处理组的 RBP ζ-电位绝对值均呈现上升趋势，这可能是 pH 处理诱导 RBP 空间结构发生改变，导致蛋白质部分解折叠，使原本埋藏在分子内部的带电基团(特别是带负电的氨基酸残基)暴露于分子表面[32]。这种构象变化不仅增加了蛋白质表面的负电荷量，同时增强了分子间的静电排斥作用，从而有效抑制了蛋白质的聚集行为。这一发现与 pH 驱动 RBP 形成更小粒径的结果具有良好的一致性。

2.2　pH 驱动处理对 RBP 表面疏水性的影响

表面疏水性(H_0)是表征蛋白质分子表面疏水基团数量的重要指标，不仅反映蛋白质的构象特征，还与蛋白质的溶解性能密切相关[33]。采用 ANS 荧光探针法测定表面疏水性的结果表明(图 2)，pH 驱动处理可显著提高 RBP 的表面疏水性(P<0.05)，其中 pH 调至 12 时表面疏水性达到最大值(2289)。这一现象说明在 pH 驱动过程中，蛋白质分子发生部分展开导致其疏水基团(包括芳香族氨基酸)暴露，从而引起 H_0 值升高[34]，表明 RBP 的分子结构发生了改变。值得注意的是，碱性条件下处理的 RBP 其 H_0 值显著高于酸性条件，这可能是因为强碱环境能够诱导更多蛋白质聚集体解聚，使蛋白质空间结构发生膨胀和伸展，形成熔融球状构象。在此状态下，蛋白质分子中的疏水肽段及氨基酸残基的疏水侧链得以暴露[35]，蛋白质的两亲性平衡发生改变，疏水基团暴露的同时，碱性条件下蛋白质表面负电荷(-COO^-)增加，静电斥力增强，反而提升溶解性。这与 pH 驱动 RBP 在碱性条件下溶解度优于酸性条件的实验结果一致。因此，RBP 表面疏水性的变化可有效反映 pH 处理对其溶解性能的影响。张唯唯等[21]在研究白果蛋白时也发现，pH 驱动法通过调控疏水/亲水平衡改善溶解性。这表明表面疏水性可作为表征 pH 处理对蛋白质溶解性能影响的有效指标。

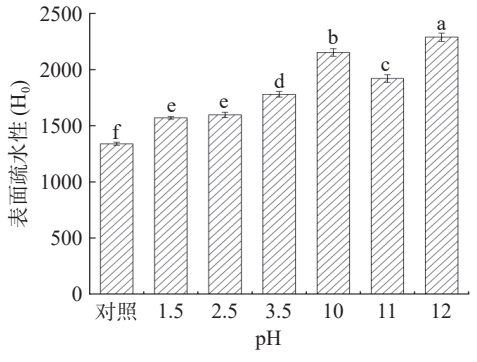


图 2　pH 驱动处理对 RBP 表面疏水性的影响

Fig.2　Effect of pH-driven processing on surface hydrophobicity of RBP

注：不同字母的数值表示差异显著(P<0.05)。

2.3　pH 驱动处理对 RBP 内源荧光光谱的影响

蛋白质的内源荧光主要来源于其分子中带有芳香基团的氨基酸残基，该特性可用于表征蛋白质三级结构的变化[36]。如图 3 所示，对照组的最大荧光发射波长为 342 nm。与对照组相比，经不同 pH 处理的蛋白质荧光光谱形状虽未发生明显改变，但其最大发射波长均出现红移现象，且荧光强度均有不同程度的增强。这种现象可能是 pH 处理破坏了蛋白质的三维构象，导致蛋白质结构展开，使原本包埋在疏水环境中的色氨酸(Trp)残基暴露于外部亲水环境所致。值得注意的是，碱性条件下荧光强度的增加幅度明显大于酸性条件，这可能是因为在碱性环境中蛋白质更易形成熔球态中间体，使得蛋白质表面疏水性氨基酸间的接触减少，疏水基团更多地暴露出来，导致荧光发射基团向疏水性更强的微环境转移。这与表面疏水性的测定结果(图 2)一致，进一步证实了 pH 驱动法诱导蛋白质结构变化的有效性。

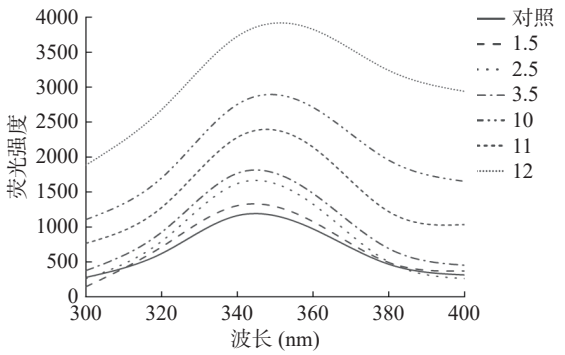


图 3　pH 驱动处理对 RBP 内源荧光的影响

Fig.3　Effect of pH-driven processing on intrinsic fluorescence of RBP

2.4　pH 驱动处理对 RBP 二级结构的影响

从图 4 中可以看出，蛋白分子中羟基的伸缩振动峰从 3275 cm^{-1} 移至 3286 cm^{-1}，表明氢键网络发生重排，酰胺 I 带特征峰从 1625 cm^{-1} 移至 1634 cm^{-1}，该区域对蛋白质二级结构分析具有重要价值，因此采用 Feakfit 4.2 对 FTIR 光谱的酰胺 I 带进行二阶导数拟合。根据文献 [37]，酰胺 I 带中各特征峰对应的二级结构分别为：α-螺旋(1650~1660 cm^{-1})、β-折叠(1610~1640 cm^{-1})、β-转角(1660~1700 cm^{-1})和无规卷曲(1640~1650 cm^{-1})。通过分析各特征峰面积占比可定量评估不同二级结构的含量变化，进而反映蛋白质聚集状态和结构稳定性[38]。其中 α-螺旋和 β-折叠属于有序紧密结构，而无规卷曲和 β-转角则属于无序松散结构[39]。由表 1 可见，对照组 RBP 的二级结构组成为：α-螺旋(11.44%±0.06%)、β-折叠(17.12%

±0.08%）、β-转角（13.46%±0.12%）和无规卷曲（20.55%±0.03%）。经 pH 处理后，RBP 中的 α-螺旋含量降低，这与 Tian 等[40] 报道的表面疏水性与 α-螺旋含量呈负相关的研究结果一致，也验证了本研究的疏水性测定结果；β-折叠含量增加而 β-转角含量降低，这可能是链间氢键断裂导致 β-转角向 β-折叠转化，同时疏水作用增强引发的分子聚集也会促进 β-折叠形成；无规卷曲含量虽略有增加但未达显著水平。上述结果表明，pH 处理通过改变蛋白质分子内相互作用力，使其二级结构发生由柔性向刚性的转变。

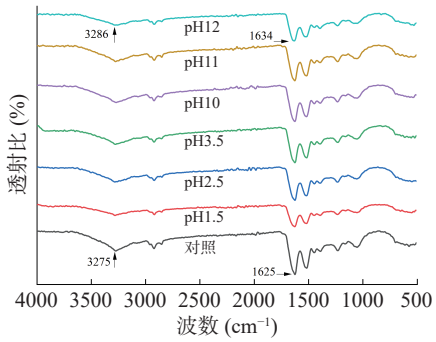


图 4 pH 驱动处理对 RBP 傅里叶红外光谱的影响

Fig.4 Effect of pH-driven processing on fourier transform infrared spectroscopy of RBP

表 1 pH 驱动处理对 RBP 二级结构的影响

Table 1 Effect of pH-driven modification on the secondary structures of RBP

样品	α-螺旋(%)	β-折叠(%)	β-转角(%)	无规则卷曲(%)
对照	11.44±0.06^{a}	17.12±0.08^{c}	13.46±0.12^{a}	20.55±0.03^{a}
pH1.5	9.86±0.13^{b}	19.47±0.11^{e}	11.47±0.09^{d}	20.64±0.05^{a}
pH2.5	8.87±0.1^{c}	19.08±0.07^{e}	11.75±0.11^{c}	20.62±0.05^{a}
pH3.5	8.33±0.07^{d}	16.15±0.08^{c}	12.88±0.1^{b}	20.61±0.08^{a}
pH10	1.16±0.08^{g}	16.64±0.13^{c}	9.15±0.07^{e}	20.63±0.02^{a}
pH11	3.93±0.05^{f}	22.98±0.09^{b}	8.26±0.09^{f}	20.62±0.06^{a}
pH12	8.15±0.06^{e}	27.55±0.1^{a}	4.33±0.11^{g}	20.65±0.06^{a}

注：同列不同字母表示差异显著（P<0.05）。

2.5 pH 驱动处理对 RBP 亚基结构的影响

SDS-PAGE 电泳分析可以观察到 RBP 在不同 pH 处理下分子质量的变化。如图 5 所示，由凝胶成像系统仪分析可知 RBP 主要亚基的相对分子质量分布为 43.0~66.2 kDa、31.0 kDa、14.4~22.0 kDa、<14.4 kDa。与对照组（泳道 1）相比，其他处理组的 RBP 相对分子质量分布在>31.0 kDa 的条带颜色变浅；<14.4 kDa 的条带更清晰，颜色加深，且碱性处理比酸性处理条带更清晰。这可能是在强酸强碱条件下，维持蛋白亚基结构的氢键遭到破坏，使得亚基解聚，在电泳中迁移速度加快，对应高分子质量的条带因亚基含量减少而颜色变浅甚至消失，低分子质量亚基的条带颜色变深甚至出现新条带，且碱处理比酸处理的变化更加明显，与粒径分析结果一致，因此碱处理可以比酸处理更好地促进 RBP 的亚基解离，增加其溶解度。已有研究发现[41]，经 pH 偏移后蛋白质亚基会解聚为单体亚基。

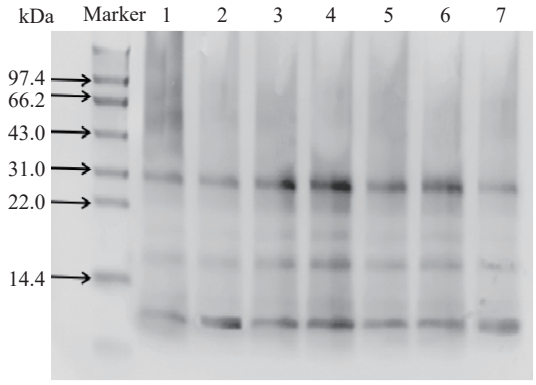


图 5 pH 驱动处理的米糠蛋白 SDS-PAGE 图

Fig.5 SDS-PAGE pattern of RBP treated by pH-driven

注：1~7 为不同 pH 处理的样品：对照、pH10、pH11、pH12、pH1.5、pH2.5、pH3.5。

2.6 pH 驱动处理对 RBP 溶解度的影响

蛋白质溶解度是反映其变性与聚集程度的关键指标，也是实现 RBP 加工利用的重要前提[42]。如图 6 所示，经 pH 处理的 RBP 溶解度较未处理组均显著提升（P<0.05），尤其是 pH 调至 12 时，溶解度由 6.72% 显著提高至 70.57%。这主要是因为在极端 pH 条件下，蛋白质分子结构展开，内部疏水基团和极性基团暴露，从而增强了水化作用[43−44]。现有研究表明，RBP 溶解度较低可能与其结合的植酸、纤维素等成分有关[45]。此外，碱性条件下 RBP 的溶解性优于酸性条件，其原因可能在于强碱环境能更有效地降解部分植酸等成分，削弱其与 RBP 的结合作用，进而提高 RBP 的溶解性。

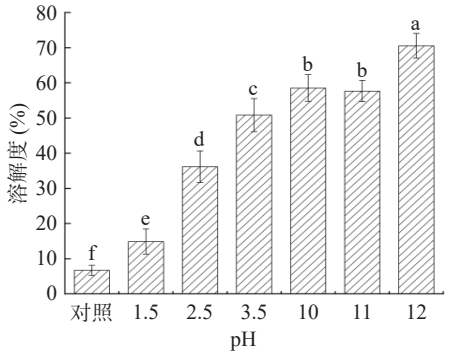


图 6 pH 驱动处理对 RBP 溶解度的影响

Fig.6 Effect of pH-driven processing on solubility of RBP

3 结论

本研究以米糠蛋白（RBP）为对象，系统考察了 pH 驱动法处理对其结构和溶解特性的影响规律。研究结果显示，随着 pH 升高，RBP 的平均粒径显著减小（最低至 140.47 nm），ζ-电位绝对值增大（最高达 14.8 mV），表面疏水性呈上升趋势（最大值 2289）。傅里叶变换红外光谱与荧光光谱分析表明，改性后 RBP 的二级和三级结构发生明显变化，具体表现为

β-折叠相对含量增加，α-螺旋与 β-转角相对含量降低，且内源荧光强度增强。在 pH12 条件下，RBP 的溶解度达到 70.57%，较未处理组（6.72%）显著提高 63.85%。上述结果表明，pH 驱动法可有效改善 RBP 的溶解性，为植物蛋白在功能性食品中的应用提供了一种可行的改性策略。然而，该技术在工业化放大过程中仍面临 pH 精确控制及营养品质变化等挑战，后续研究应聚焦于开发更温和的改性工艺，并系统评估产物的消化特性等营养指标，以推动该技术的实际应用。

© The Author(s) 2026. 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］ 易佳. 基于非热处理的高溶解性米糠蛋白制备及其消化吸收特性研究[D]. 郑州：河南工业大学, 2023. ［YI Jia. Preparation, digestion and absorptioncharacteristics of highly soluble rice bran-protein based on non-thermal treatment[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2023.］

［2］ SHOBAKO N, OHINATA K. Anti-hypertensive effects of peptides derived from rice bran protein[J]. Nutrients, 2020, 12(10): 3060.

［3］ 赵萌萌. 酸败影响米糠蛋白纤维聚集体-高内相 Pickering 乳液稳定性及荷载机制研究[D]. 长沙：中南林业科技大学, 2025. ［ZHAO Mengmeng. Study on mechanism of rancidity affected stability and loading of rice bran protein fibril aggregates-high internal phase Pickering emulsions[D]. Changsha: Central South University of Forestry & Technology, 2025.］

［4］ 李园园, 李艳梅, 王惋, 等. 蒸汽爆破预处理对米糠阿拉伯木聚糖结构和抗氧化活性的影响[J/OL]. 食品与发酵工业, 1−12[2025-08-05]. https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.043317. ［LI Yuanyuan, LI Yanmei, WANG Wan, et al. Effect of steam explosion pretreatment on the structure and antioxidant activity of arabinoxylan from rice bran[J/OL]. Food and Fermentation Industries, 1−12[2025-08-05]. https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.043317.］

［5］ WU Wei, LI Fang, WU Xiaojuan. Effects of rice bran rancidity on oxidation, structural characteristics and interfacial properties of rice bran globulin[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 110: 106123.

［6］ CHEN Ting, XIE Liuming, WANG Gang, et al. Anthocyaninsnatural pigment of colored rice bran: Composition and biological activities[J]. Food Research International, 2024, 175: 113722.

［7］ 段庆松, 段玉敏, 肖志刚, 等. 挤压稳定化处理对米糠各组分蛋白结构及功能性质的影响[J]. 农业工程学报, 2020, 36(19): 283−290. ［DUAN Qingsong, DUAN Yumin, XIAO Zhigang, et al. Effects of extrusion stabilization on protein structure and functional properties of rice bran components[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2020, 36(19): 283−290.］

［8］ YU Yonghui, GAINE G K, ZHOU Linyue, et al. The classical and potential novel healthy functions of rice bran protein and its hydrolysates[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(30): 8454−8466.

［9］ 刘加艳, 任宇鹏. 米糠蛋白的静高压联合酶法改性工艺优化及其特性研究[J]. 中国油脂, 2021, 46(7): 75−79,91. ［LIU Jiayan, REN Yupeng. Optimization of modification of rice bran protein by static high pressure combined with enzymatic method and its characteristics[J]. China Oils and Fats, 2021, 46(7): 75−79,91.］

［10］ ZHENG Yan, GAO Nisi, WU Juan, et al. Rice bran protein: Extraction, nutraceutical properties, and potential applications[M]. Amsterdam: Elsevier, Rice Bran and Rice Bran Oil, 2019: 271−293.

［11］ 孟才云. 葡萄糖糖基化米糠蛋白-壳聚糖复合膜的制备及性质研究[D]. 沈阳：辽宁大学, 2022. ［MENG Caiyun. Preparation and properties of glucose glycosylated ricebran protein-chitosan composite[D]. Shenyang: Liaoning University, 2022.］

［12］ MENG Xiangyong, LI Tingting, SONG Teng, et al. Solubility, structural properties, and immunomodulatory activities of rice dreg protein modified with sodium alginate under microwave heating[J]. Food Science & Nutrition, 2019, 7(8): 2556−2564.

［13］ 王琳, 周国卫, 于志超, 等. pH 值偏移处理对油莎豆蛋白结构及乳化性质的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(22): 34−41. ［WANG Lin, ZHOU Guowei, YU Zhichao, et al. Effect of pH-shifting treatment on the structure and emulsifying properties of *Cyperus esculentus* L. protein[J]. Food Science, 2020, 41(22): 34−41.］

［14］ ZHANG Yuanhong, YUAN Dan, SHEN Penghui, et al. pH-Driven formation of soy peptide nanoparticles from insoluble peptide aggregates and their application for hydrophobic active cargo delivery[J]. Food Chemistry, 2021, 355: 129509.

［15］ 荣玉娟, 侯雨薇, 曹晓倩, 等. pH 值偏移对麦谷蛋白结构的修饰及溶解性的提升[J]. 食品科学, 2023, 44(20): 20−27. ［RONG Yujuan, HOU Yuwei, CAO Xiaoqian, et al. Structural modification and solubility enhancement of glutenin by pH-shifting[J]. Food Science, 2023, 44(20): 20−27.］

［16］ HOU Furong, DING Wenhui, QU Wenjuan, et al. Alkali solution extraction of rice residue protein isolates: Influence of alkali concentration on protein functional, structural properties and lysinoalanine formation[J]. Food Chemistry, 2017, 218: 207−215.

［17］ SHAO Feng, ZHANG Yuanlong, WAN Xia, et al. Hofmeister ion effects induced by different acidifiers and alkalizers improve the techno-functional properties of complex rapeseed protein during pH-driven self-assembly[J]. Food Chemistry, 2025, 464: 141405.

［18］ 吕燕. pH 驱动法构建橙皮苷复合物粒子及口服液的制备[D]. 南昌：南昌大学, 2024. ［LÜ Yan. Construction of hesperidin complex particles by pH-driven methodand preparation of an oral liquid[D]. Nanchang: Nanchang University, 2024.］

［19］ 马越. pH 偏移结合热处理改性蚕蛹蛋白及其结合鞣花酸制备抗氧化乳化剂的研究[D]. 南宁：广西大学, 2025. ［MA Yue. Silkworm pupa protein modified by thermal assisted pH-shifting and study on antioxidant emulsifier formed by conjugated with ellagic acid[D]. Nanning: Guangxi University, 2025.］

［20］ GUO Xiaohang, WU Xinghui, SUN Zhouliang, et al. Preparation, characterization, and binding mechanism of pH-driven gliadin/soy protein isolate nanoparticles[J]. Food Research International, 2025, 208: 116289.

［21］ 张唯唯, 何振东, 马天怡, 等. 极端酸碱 pH 偏移改善白果蛋白溶解性和乳化性[J]. 精细化工, 2021, 38(6): 1204−1211. ［ZHANG Weiwei, HE Zhendong, MA Tianyi, et al. Extreme acid and alkaline pH-shifting processes improving the solubility and emulsifying properties of Ginkgo seed protein isolate[J]. Fine Chemicals, 2021, 38(6): 1204−1211.］

［22］ 张淑艳. pH 偏移和超声处理对花生蛋白分子结构的影响[D]. 郑州：河南工业大学, 2022. ［ZHANG Shuyan. Effects of pH-shifting and ultrasound onmolecular structure of peanut protein

[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2022.]
[23] 邹赫楠. 超声处理对贻贝蛋白结构和功能特性的影响[D]. 大连: 大连工业大学, 2021. [ZOU Henan. Effects of ultrasound treatment on the structureand functional properties of mussel proteins[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2021.]
[24] YU Cuiping, WU Fan, CHA Yue, et al. Effects of high-pressure homogenization on functional properties and structure of mussel (*Mytilus edulis*) myofibrillar proteins[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 118: 741−746.
[25] ZHOU Moxi, LIU Jian, ZHOU Yuanyuan, et al. Effect of high intensity ultrasound on physicochemical and functional properties of soybean glycinin at different ionic strengths[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2016, 34: 205−213.
[26] YANG Zixuan, XU Dan, ZHOU Hongling, et al. Rheological, microstructure and mixing behaviors of frozen dough reconstituted by wheat starch and gluten[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 212: 517−526.
[27] MA Jingrong, CHEN Haiming, CHEN Weijun, et al. Effects of heat treatment and pH on the physicochemical and emulsifying properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) globulins[J]. Food Chemistry, 2022, 388: 133031.
[28] WANG Yaosong, LIU Changqi, MA Tianyi, et al. Physicochemical and functional properties of *γ*-aminobutyric acid-treated soy proteins[J]. Food Chemistry, 2019, 295: 267−273.
[29] 侯玉新, 李市场, 张臣, 等. 不同改性方法对小球藻蛋白特性及结构影响的研究[J]. 粮油食品科技, 2025, 33(1): 183−191. [HOU Yuxin, LI Shichang, ZHANG Chen, et al. Effects of different modification methods on the functional properties and structure of chlorella protein[J]. Food and Oil Food Technology, 2025, 33(1): 183−191.]
[30] WANG Tong, CHEN Xing, WANG Weining, et al. Effect of ultrasound on the properties of rice bran protein and its chlorogenic acid complex[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 79: 105758.
[31] JIANG J, XIONG Y L, CHEN J. pH shifting alters solubility characteristics and thermal stability of soy protein isolate and its globulin fractions in different pH, salt concentration, and temperature conditions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(13): 8035−8042.
[32] YAN Shizhang, XU Jingwen, ZHANG Shuang, et al. Effects of flexibility and surface hydrophobicity on emulsifying properties: Ultrasound-treated soybean protein isolate[J]. Lwt, 2021, 142: 110881.
[33] LIU Qian, GENG Rui, ZHAO Juyang, et al. Structural and gel textural properties of soy protein isolate when subjected to extreme acid pH-shifting and mild heating processes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(19): 4853−4861.
[34] XU Jingwen, YAN Shizhang, XU Jing, et al. Ultrasound-assisted modification of soybean protein isolate with L-histidine: Relationship between structure and function[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2024, 107: 106934.
[35] XU Yizhou, WU Jiulin, WANG Shaoyun. Comparative study of whey protein isolate and gelatin treated by pH-shifting combined with ultrasonication in loading resveratrol[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 117: 106694.
[36] VIVIAN J T, CALLIS P R. Mechanisms of tryptophan fluorescence shifts in proteins[J]. Biophysical Journal, 2001, 80(5): 2093−2109.
[37] 李琳, 高永娇, 张智, 等. 魔芋葡甘聚糖对热诱导米糠蛋白凝胶性能、微观结构及其分子力的影响[J]. 中国食品学报, 2025, 25(3): 123−135. [LI Lin, GAO Yongjiao, ZHANG Zhi, et al. Effects of *Konjac glucomannan* on the gel properties, microstructure and molecular forces of heat-induced rice bran protein gels[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2025, 25(3): 123−135.]
[38] CARBONARO M, NUCARA A. Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region[J]. Amino Acids, 2010, 38(3): 679−690.
[39] XIAO Zhigang, JIANG Ruisheng, HUO Jinjie, et al. Rice bran meat analogs: Relationship between extrusion parameters, apparent properties and secondary structures[J]. Lwt, 2022, 163: 113535.
[40] TIAN Yan, ZHANG Zhen, ZHANG Peipei, et al. The role of conformational state of pH-shifted *β*-conglycinin on the oil/water interfacial properties and emulsifying capacities[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108: 105990.
[41] KRISHNA MOHAN P M, BARVE M, CHATTERJEE A, et al. pH driven conformational dynamics and dimer-to-monomer transition in DLC8[J]. Protein Science, 2006, 15(2): 335−342.
[42] SHENG Long, WANG Yibo, CHEN Jiahui, et al. Influence of high-intensity ultrasound on foaming and structural properties of egg white[J]. Food Research International, 2018, 108: 604−610.
[43] WANG Ning, ZHOU Xiaonan, WANG Weining, et al. Effect of high intensity ultrasound on the structure and solubility of soy protein isolate-pectin complex[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 80: 105808.
[44] HUANG Xiaoxia, HUANG Xulin, GONG Yushi, et al. Enhancement of curcumin water dispersibility and antioxidant activity using core–shell protein–polysaccharide nanoparticles[J]. Food Research International, 2016, 87: 1−9.
[45] 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. [YANG Jian, FU Tianxin, ZHANG Shu, et al. Effect of pH on the structure, solubility and surface hydrophobicity of albumin and globulin from rice bran[J]. Food Science, 2020, 41(18): 51−57.]