张晓燕, 郭麒先, 赵志超, 等. 超声辅助磷酸化对鹰嘴豆分离蛋白理化特性的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(10): 159−166. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025120250

ZHANG Xiaoyan, GUO Qixian, ZHAO Zhichao, et al. Effects of Ultrasound-assisted Phosphorylation on the Physicochemical Properties of Chickpea Protein Isolates[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(10): 159−166. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025120250

· 研究与探讨 ·

# 超声辅助磷酸化对鹰嘴豆分离蛋白理化特性的影响

张晓燕[1], 郭麒先[2], 赵志超[2,3], 龙甜甜[2,3], 杜莎莎[3], 郭敏强[3,*]

(1.新疆理工学院食品科学与工程学院, 新疆阿克苏 843100;
2.新疆黑木耳工程技术研究中心, 新疆阿克苏 843100;
3.新疆慕萨莱斯品质检测重点实验室, 新疆阿克苏 843100)

**摘　要:** 为探究超声辅助磷酸化处理对鹰嘴豆分离蛋白（Chickpea Protein Isolate，CPI）的影响，该研究从蛋白质理化性质、分子结构及功能特性三个方面评估联合处理对 CPI 加工性质的影响。结果表明，随着超声强度的增加，CPI 的理化性质和结构发生显著变化。其中，300 W 超声辅助磷酸化处理，蛋白质的磷酸根含量最高达 10.63 μg/mL、溶解性显著增加至 89.02%，浊度达到 1.98，随之巯基含量和表面疏水性降低至 10.48 μmol/g 和 80.5，二级结构发生变化，这表明超声促进了有效磷酸化，静电稳定效应压制了展开导致的疏水聚集趋势，从而使其乳化性和起泡性得到更好的改善。本研究从多尺度研究并发现了超声辅助磷酸化处理是改善 CPI 分子理化性质和结构的有效手段，为食品蛋白质改性技术的发展提供了一定的理论依据。

**关键词:** 鹰嘴豆分离蛋白, 超声波, 磷酸化, 理化特性

**中图分类号:** TS201.1　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)10−0159−08

**DOI:** 10.13386/j.issn1002-0306.2025120250　　本文网刊:

# Effects of Ultrasound-assisted Phosphorylation on the Physicochemical Properties of Chickpea Protein Isolates

**ZHANG Xiaoyan[1], GUO Qixian[2], ZHAO Zhichao[2,3], LONG Tiantian[2,3], DU Shasha[3], GUO Minqiang[3,*]**

(1.College of Food Science and Engineering, Xinjiang University of Technology, Aksu 843100, China;
2.Xinjiang Auricularia Engineering Technology Research Center, Aksu 843100, China;
3.Xinjiang Key Laboratory of Musalais Quality Inspection, Aksu 843100, China)

**Abstract:** In this study, the aim was to determine the influence of ultrasound-assisted phosphorylation on the physicochemical properties of chickpea protein isolates (CPI). Three aspects of the effects of combined treatment on the properties of CPI were assessed: Physicochemical properties, molecular structure, and functional characteristics. The results showed that with the increase of ultrasound intensity, the physicochemical properties and structure of CPI changed significantly. Among them, ultrasound-assisted phosphorylation at 300 W led to a maximum phosphate content of 10.63 μg/mL in the proteins, while increasing the solubility to 89.02% and turbidity to 1.98. In addition, both sulfhydryl contents and surface hydrophobicity were decreased to 10.48 μmol/g and 80.5, accompanied by changes in the secondary structure of the proteins. These findings indicated that ultrasound promoted effective phosphorylation. Hydrophobic aggregation caused by protein unfolding was mitigated by electrostatic stabilization, thereby enhancing the emulsification and foaming properties of CPI. Multiscale analyses demonstrated that ultrasound-assisted phosphorylation effectively enhanced the physicochemical properties and structural characteristics of CPI molecules. The findings of this study provide a theoretical basis for

**收稿日期:** 2025−12−19

**基金项目:** 新疆理工学院校级科研项目（ZQ202401）; 新疆理工学院自治区级大学生创新创业训练计划项目（S202513558009）。

**作者简介:** 张晓燕（1996−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 蛋白质工程, E-mail: 291697134@qq.com。

*** 通信作者:** 郭敏强（1993−）, 男, 硕士研究生, 讲师, 研究方向: 食品安全, E-mail: 411715388@qq.com。

advancing food protein modification technologies.

**Key words**: chickpea protein isolate; ultrasound; phosphorylation; physicochemical properties

近年来, 随着全球对可持续性健康食品的需求持续攀升, 植物蛋白凭借其突出的营养优势, 已成为研究热点。鹰嘴豆分离蛋白(Chickpea Protein Isolate, CPI)作为一种优质植物蛋白, 具有高蛋白含量、均衡的氨基酸组成及低致敏性等特点, 在食品工业中展现出良好的应用前景[1]。然而, 天然 CPI 在实际应用中的功能特性, 如溶解性、乳化能力及体系稳定性等方面仍存在明显不足, 这成为其在食品加工中广泛推广的主要技术瓶颈。因此, 通过适当的改性技术优化其理化性质, 对拓展 CPI 的应用具有重要意义。

磷酸化作为一种常用的蛋白质改性技术, 能够通过引入磷酸基团改变蛋白质的电荷分布和空间结构, 进而改善其溶解性及乳化性能。目前, 已在大豆、花生、乳清蛋白等多种植物和动物蛋白的修饰研究中得到广泛应用[2]。何洋[3] 以大豆分离蛋白为实验原料, 确定了大豆分离蛋白浓度 7%、三聚磷酸钠添加量为 6%、微波时间为 4 min 时能得到较高的乳化活性; 董暄等[4] 研究了不同磷酸盐对乳清分离蛋白的改性影响, 结果表明, 在 75 ℃ 条件下的磷酸化蛋白游离巯基含量增加, 溶解度增加, 表面疏水性降低, 且二级结构均发生了改变; Yan 等[5] 以核桃分离蛋白为实验原料, 对其进行磷酸化改性, 发现改性后的蛋白质的其表面疏水性和表面电荷都有所改变, 且溶解性得到显著改善, 乳化性和乳化稳定性显著提高。超声技术作为一种简单而高效的方法, 广泛应用于食品加工过程中, 张天宇等[6] 以核桃粕为原料, 采用超声辅助湿法糖基化对核桃粕蛋白进行改性, 结果表明超声后的蛋白其溶解度, 持水性和乳化稳定性, 均有提高。巩明明等[7] 采用超声技术对马铃薯蛋白进行改性, 结果表明, 超声 6 min 后的马铃薯蛋白溶解性最高, 发泡性提高了 1.18 倍, 乳化性提高了 1.54 倍, 且模拟肠消化特性显著改善。Fu 等[8] 研究超声辅助糖基化改性卵白蛋白, 结果表明, 超声处理后的卵白蛋白, 其起泡能力和起泡稳定性均有所改善。Xiong 等[9] 研究超声强度对卵清蛋白功能特性的影响, 结果发现高强度超声处理, 能显著降低蛋白在两相界面(油-水界面和气-水界面)的界面张力, 提高了其乳化活性、起泡能力。

以往的研究多采用单一超声频率或磷酸化处理对蛋白质进行改性, 对于不同超声辅助磷酸化修饰蛋白相关研究报道较少。因此, 本研究采用超声波辅助磷酸化对鹰嘴豆分离蛋白进行改性, 系统研究不同超声强度对蛋白磷酸化程度、溶解性、乳化性、起泡性及结构特性的影响, 旨在系统阐明超声波辅助磷酸化修饰对鹰嘴豆分离蛋白(CPI)结构与理化性质的调控规律及内在分子机制, 为该蛋白在食品工业中的高值化开发、功能化应用及工艺优化提供坚实的理论支撑与可行的技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

鹰嘴豆分离蛋白(纯度>80%) 实验室自制; 三聚磷酸钠 分析纯, 西亚化学科技有限公司; 抗坏血酸 分析纯, 西亚化学科技有限公司; 钼酸铵 分析纯, 福晨(天津)化学试剂有限公司; 胰蛋白酶(活力值≥250 u/mg) 北京索莱宝科技有限公司; 8-苯胺-1-萘磺酸 分析纯, 上海源叶生物科技有限公司。

FJ200-SH 高速剪切乳化机 常州乐足机械科技有限公司; F97XP 荧光分光光度计 深圳三莉科技有限公司; TG16-WS 台式高速离心机 上海佑科仪器仪表有限公司; FD-1A-50 冷冻干燥机 江苏天翎仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 超声辅助磷酸化修饰鹰嘴豆分离蛋白样品制备 参考王欢等[10] 的方法, 并适当修改, 将 CPI 配制成浓度为 20 mg/mL 的溶液, 调节 pH 至 7.0。使用超声波细胞粉碎仪以不同的强度(0、100、200、300、400、500 W)处理 5 min, 停顿 30 s, 连续处理 20 min。向上述超声处理后的蛋白溶液中加入三聚磷酸钠使其浓度为 0.3%(w/v)。置于 40 ℃ 的恒温水浴中处理 4 h 后冷却, 取出后放于冰水浴中迅速冷却后备用。

1.2.2 磷酸化程度测定 根据 Koga 等[11] 的方法并稍作修改, 测定样品磷含量并绘制标准曲线, 得到回归方程: y=1.2315+0.03279x, $R^2$=0.997。根据标准曲线计算样品的磷酸根含量。以原蛋白作为空白, 磷酸化程度以每毫升蛋白质溶液所含磷的微克数(μg/mL)表示。

1.2.3 溶解度测定 溶解性测定采用 Wang 等[12] 的方法测定。将样品于 4 ℃、5000 r/min 条件下离心 20 min。移取 1 mL 离心后的上清液, 用超纯水定容至 100 mL, 采用考马斯亮蓝染色法分别测定上清液中蛋白质的质量浓度及总蛋白样液的质量浓度, 样品的蛋白质溶解度依据公式(1)计算得出:

$$S(\%) = \frac{\rho_1}{\rho_0} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: S 表示蛋白质溶解度, %; $\rho_1$ 表示上清液浓度, mg/mL; $\rho_0$ 表示样液总浓度, mg/mL。

1.2.4 浊度的测定 浊度测定采用 Li 等[13] 的方法。取适量样品, 用 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH7.0)溶解并调节浓度至 2 mg/mL, 通过紫外分光光度计测定其在 600 nm 处的吸光度, 以此表征样品的浊度。

1.2.5　分子柔性测定　蛋白质分子柔性采用酶解法测定[14]：精确移取 4 mL 磷酸化修饰后的蛋白溶液，向其中加入 250 μL 胰蛋白酶溶液（浓度 1mg/mL，pH8.0），充分涡旋混匀后置于 38 ℃ 恒温水浴中保温反应 5 min。反应终止时，加入 4 mL，5% 三氯乙酸溶液以淬灭酶促反应。酶解产物于 4 ℃ 条件下，以 3000 r/min 的转速离心 30 min，收集上清液并测定其在 280 nm 波长下的吸光度值，该数值直接表征蛋白质的分子柔性。

1.2.6　游离巯基测定　采用 Ellman 法测定蛋白质巯基含量[15]。取磷酸化后的蛋白溶液，测定其在 412 nm 处的吸光度后采用公式（2）进行计算：

$$S = (A_{412} \times 10^6)/(1.36 \times 10^4 \times C) \quad \text{式（2）}$$

式中：S 表示巯基的含量，μmol/g；$1.36\times10^4$ 表示摩尔吸光系数，$L\cdot mol^{-1}\cdot cm^{-1}$；$A_{412}$ 表示 412 nm 处的吸光度；C 表示蛋白质浓度，g/L。

1.2.7　荧光强度测定　参考王亮等[16]的方法测定，取磷酸化后的蛋白样品，将蛋白浓度稀释至 0.02 mg/mL，溶于 PBS（10 mmol/L，pH7.0）并测定其荧光强度。设置参数：激发波长 280 nm，扫描波段 300~500 nm，狭缝宽 5 nm。以未加样品的 PBS 为空白。

1.2.8　表面疏水性测定　根据 Bhargava 等[17]的方法，采用 ANS 荧光探针法测定蛋白质的表面疏水性。取经磷酸化修饰的蛋白样品，用 10 mmol/L PBS 缓冲液（pH7.0）溶解并配制系列梯度浓度的蛋白溶液（0.01、0.02、0.03、0.04、0.05 mg/mL）。精确移取 20.0 μL，1.0 mmol/L ANS 溶液，与各梯度蛋白溶液充分混匀，室温反应 10 min 后立即测定荧光强度。

荧光分光光度计的检测参数设置如下：激发波长 280 nm，发射波长 340 nm，扫描范围 300~500 nm，狭缝宽度 5 nm；以不含蛋白样品的 PBS 缓冲液作为空白对照。以蛋白浓度为横坐标、荧光强度为纵坐标绘制标准曲线，所得曲线斜率即为蛋白质表面疏水性指数（Surface Hydrophobicity，$H_0$）。

1.2.9　傅里叶红外光谱　精确称取冷冻干燥后的改性蛋白样品，加入适量溴化钾（KBr）粉末，经充分研磨混匀后压制成透明薄片。采用傅里叶变换红外光谱仪对样品进行全波段扫描，扫描范围为 3500~500 $cm^{-1}$，累计扫描 3 次；扫描前以空白溴化钾薄片进行背景扣除。

1.2.10　乳化性及乳化稳定性　参考张晓燕等[18]的方法测定，取磷酸化后的蛋白样品，稀释蛋白溶液浓度至 1.0 mg/mL，以 3∶1（v/v）加入食用油，均质（转速为 16000 r/min）1 min 后，从底部抽取 100 μL 加入 5.0 mL SDS 溶液（0.1%、pH7.0），混合均匀，测定 500 nm 下吸光度 $A_0$，20 min 后，重复操作，测定吸光度 $A_{20}$。乳化性指数（Emulsion Activity Index，EAI）、乳化稳定性（Emulsion Stability Index，ESI）分别按式（3）和式（4）进行计算：

$$EAI(m^2/g) = \frac{2\times2.303\times A_0\times N}{C\times(1-\varphi)\times10^4}\times100 \quad \text{式（3）}$$

$$ESI(min) = \frac{A_{20}}{A_0}\times20 \quad \text{式（4）}$$

式中：$\varphi$ 表示油相体积分数（油的体积/乳化体系的体积，1/3）；C 表示蛋白质浓度，g/L；$A_0$ 表示乳化体系在 0 min 时的吸光度；$A_{20}$ 表示乳化体系在 20 min 时的吸光度；N 表示为稀释倍数，此处的稀释倍数为 50。

1.2.11　起泡性与泡沫稳定性　参考望运滔等[19]的方法，取磷酸化后的蛋白溶液，稀释至浓度为 3.0 mg/mL，记录起始蛋白溶液体积 $V_0$，在 10000 r/min 均质处理 2 min，测量蛋白溶液与泡沫的总体积，称为 $V_1$，0.5 h 后，再一次测量二者总体积，称为 $V_2$。起泡性（Foaming Activity，FA）、泡沫稳定性（Foaming Stability，FS）分别使用式（5）和式（6）进行计算：

$$FA(\%) = \frac{V_1 - V_0}{V_0}\times100 \quad \text{式（5）}$$

$$FS(\%) = \frac{V_2 - V_1}{V_1 - V_0}\times100 \quad \text{式（6）}$$

式中：$V_0$ 表示初始时的液面高度，cm；$V_1$ 表示均质后的液面高度，cm；$V_2$ 表示静置 30 min 后的液面高度，cm。

### 1.3　数据处理

实验数据为 3 次测定的平均值。由 SPSS 27 软件进行方差分析，$P<0.05$ 表示差异显著；采用 Origin 2024 软件进行绘图。

## 2　结果与分析

### 2.1　超声辅助处理对鹰嘴豆分离蛋白磷酸化程度的影响

三聚磷酸钠在水溶液中易发生水解反应，生成羟基和磷酸根基团，CPI 与三聚磷酸钠的共价结合强

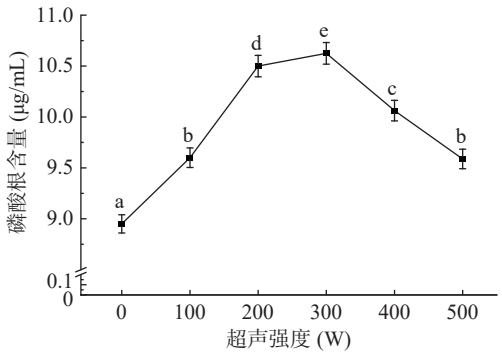



图 1　不同超声强度辅助下磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的磷酸根含量

Fig.1　Phosphate content of phosphorylated chickpea protein isolate assisted by different ultrasonic intensities

注：不同的小写英文字母代表差异显著（$P<0.05$），图 2~图 5、图 7、图 9~图 10 同。

度受蛋白质分子带电荷类型、带负电性的羟基和带正电的氨基等多种因素的协同影响。由图 1 可知，超声强度对蛋白磷酸化程度有显著影响($P$<0.05)，随着超声强度增加，蛋白的磷酸化程度呈现上升趋势，在超声强度为 300 W 时，蛋白的磷酸化程度达到最高水平至 10.63 μg/mL。这可能是因为超声的机械效应与空化效应协同作用，显著增强了蛋白质分子的热运动，从而提升磷酸基团与蛋白质分子的有效碰撞概率，进而提高磷酸化效率，这与 Ying 等[20] 的研究结论一致。当超声强度为 500 W 时，磷酸化程度降低至 9.58 μg/mL。这可能是因为蛋白侧链与游离三聚磷酸钠基团发生碰撞，三聚磷酸钠产生的羟基和磷酸根与 CPI 的侧链基团反应，降低了其磷酸化程度，这与 Li 等[21] 研究结果类似。

### 2.2 超声辅助处理对鹰嘴豆分离蛋白溶解度的影响

溶解度是 CPI 的重要功能特性，超声磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的溶解度受磷酸化程度，超声强度等多种因素的影响。如图 2 所示，超声波辅助磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的溶解度呈现先升高后降低的趋势。经过超声辅助后的磷酸化鹰嘴豆分离蛋白溶解度最高可达 89.02%，这可能是因为随着超声强度的增加，磷酸化处理的蛋白质侧链基团选择性地引入大量磷酸基团，这些磷酸基团与水分子之间形成大量的氢键，提高了蛋白质分子之间的电排斥力，从而增强了蛋白质的水合作用[22]，这与上述磷酸根含量分析相符。当超声强度达到 500 W 时，磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的溶解度反而降低至 83.21%，这可能是因为高强度的超声导致蛋白质过度展开，疏水性基团暴露增加，分子间疏水相互作用占据主导，削弱了蛋白质与水分子的结合能力，最终致使溶解度下降[23]。

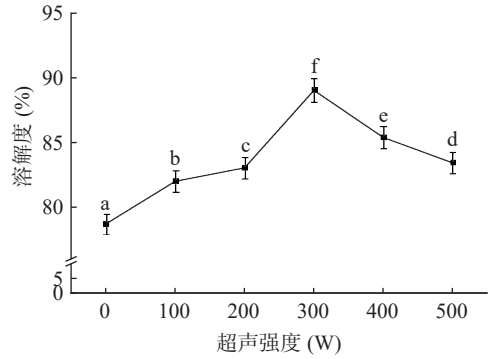



图 2 不同超声强度辅助下磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的溶解度

Fig.2 Solubility of phosphorylated chickpea protein isolate assisted by different ultrasonic intensities

### 2.3 超声辅助处理对鹰嘴豆分离蛋白浊度的影响

如图 3 所示，超声辅助处理显著提高了磷酸化鹰嘴豆分离蛋白溶液的浊度。并在 300 W 时达到最大值，这是因为三聚磷酸水解产生的羟基导致 CPI 表面负电荷增加，使其原有的相互作用的状态被打破，为超声处理产生空化效应和热效应提供了有利条件[24]。在上述两种作用的共同影响下，使得磷酸化处理后的 CPI 重新聚集，导致溶液对特定波长光的吸收能力增强，进而引发浊度升高。而在高强度超声处理时，浊度又发生明显降低，这可能是因为高功率超声带来的外部能量“突破”了蛋白质聚集体解离所需的临界能量阈值，使得蛋白质聚集体在高强度超声下再次发生适度解离并分散在水相中[25]。上述现象表明，在超声过程中磷酸化 CPI 的分子聚集状态会发生显著转变，这一变化也暗示其结构特性和理化性质会随之发生变化。

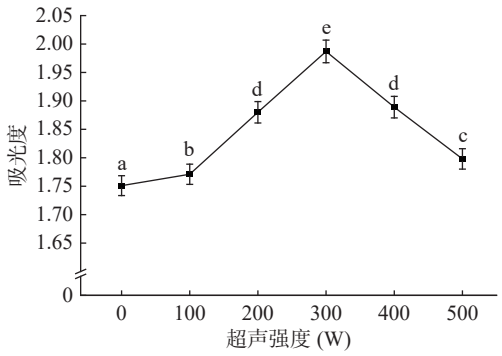



图 3 不同超声强度辅助下磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的浊度

Fig.3 Turbidity of phosphorylated chickpea protein isolate assisted by different ultrasonic intensities

### 2.4 超声辅助处理对鹰嘴豆分离蛋白分子柔性的影响

蛋白质的分子柔性是指分子结构的柔韧性，一般与某种状态下蛋白质结构中的柔性区间和刚性区间的比例有关[14]，如图 4 所示，在超声强度在 0~300 W 时，磷酸化鹰嘴豆分离蛋白结构中的刚性区间比例随超声强度的增加不断减少，促使蛋白质分子构象向更加松散无序的状态转变，分子柔性增加。然而，当超声强度达到 400 W 及以上时，分子柔性又发生下降，这可能是因为超声强度过高导致蛋白质分子发生不可逆的构象重排，使得分子内的疏水相互作用增强与交联，大量疏水基团暴露，促使刚性结构域比例增加，而柔性区间占比随之下降。因此，适度的超声处理能够优化蛋白质分子构象，增强其柔性特性，而过高的超声强度则会破坏蛋白质原有结构，导致分子刚性增强、柔性降低。

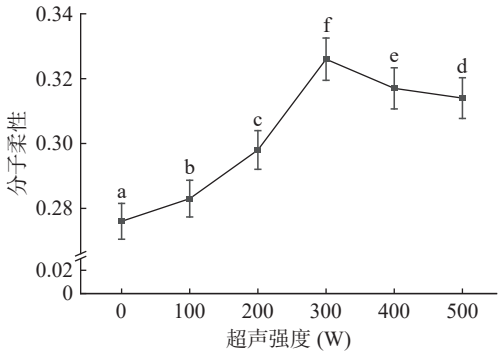



图 4 不同超声强度辅助下磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的分子柔性

Fig.4 Molecular flexibility of phosphorylated chickpea protein isolate assisted by different ultrasonic intensities

### 2.5　超声辅助处理对鹰嘴豆分离蛋白巯基含量的影响

如图 5 所示，不同强度的超声辅助处理使磷酸化鹰嘴豆分离蛋白中巯基的含量出现“先降低后增加”的现象。这意味着超声辅助可加剧蛋白质分子间的碰撞和交联，促使游离巯基向二硫键的转化[26]。当超声强度小于 300 W 时，超声使蛋白质结构展开，埋藏的巯基暴露，而后被氧化形成二硫键。而当超声强度继续增强时，超声空化产生的剧烈剪切力、局部高温等破坏蛋白质已存在的天然或新形成的二硫键，使其断裂进而重新形成巯基，增加可检测的巯基含量[27]。

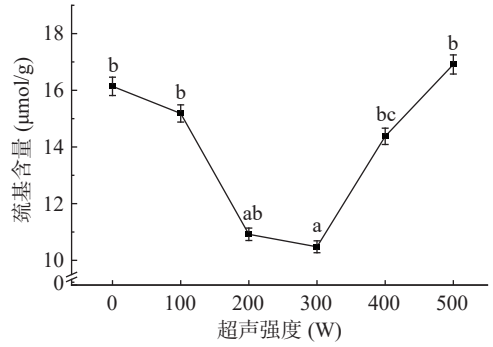



图 5　不同超声强度辅助下磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的巯基含量

Fig.5　Free sulfhydryl content of phosphorylated chickpea protein isolate assisted by different ultrasonic intensities

### 2.6　超声辅助处理对鹰嘴豆分离蛋白荧光强度的影响

如图 6 所示，随着超声强度的增加，荧光强度增强，直至超声强度达到 300 W 时，达到峰值，随之减弱。这可能是因为超声辅助处理破坏了蛋白质分子内部的氢键、范德华力等次级键，促使蛋白分子从紧凑的天然构象逐渐舒展，使得原本包裹在分子内部的色氨酸（Trp）、酪氨酸（Tyr）等荧光基团逐渐暴露于极性溶剂中，导致荧光强度增强。除此之外，磷酸化修饰所引入的负电荷基团会通过静电排斥进一步促进蛋白分子展开，协同超声作用增加荧光基团的可及性[28]。而高强度的超声处理会导致蛋白质疏水基团过度暴露，分子间通过疏水相互作用形成聚集体，使荧光基团被包裹或发生荧光淬灭，从而导致荧光强度随之减弱[29]。庄虎等[30] 研究超声处理对卵转铁蛋白

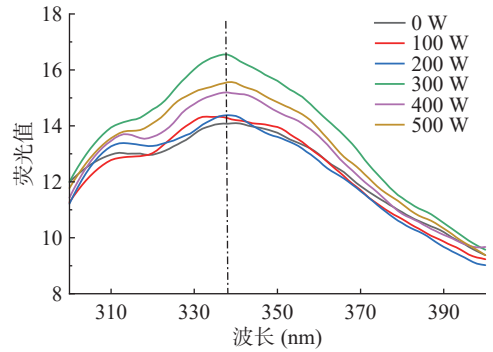



图 6　不同超声强度辅助下磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的荧光值

Fig.6　Fluorescence intensity of phosphorylated chickpea protein isolate assisted by different ultrasonic intensities

理化及乳化特性的影响，结果证实超声辅助磷酸化修饰蛋白的粒径减小，电位绝对值增大，这一结论与蛋白的静电斥力增加直接相关。

### 2.7　超声辅助处理对鹰嘴豆分离蛋白表面疏水性的影响

表面疏水性（$H_0$）用来表征蛋白质在极性环境中表面疏水性残基的数量，反映蛋白质的构象变化。如图 7 所示，当超声强度为 300 W 时，磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的表面疏水性明显减弱，这是因为磷酸基团的引入大大增强了蛋白质分子的亲水性和静电斥力[31]；同时，适度的超声处理促进疏水基团暴露，增强磷酸化修饰位点的可及性，又通过氢键重排优化蛋白质构象，最终表现为疏水性与亲水性平衡的显著偏移，这与韩格等[32] 的研究结果一致。而随着超声强度的增加，表面疏水性上升，这是因为超声强度的增加破坏了 CPI 的紧密三级结构，使其充分展开，导致原本包裹在分子内部的疏水性氨基酸残基（如色氨酸、苯丙氨酸等）大量暴露，这与上述荧光强度的分析相对应。此时，新暴露的疏水基团数量远超过磷酸化带来的亲水掩蔽作用，净效应表现为表面疏水性急剧上升[33]。

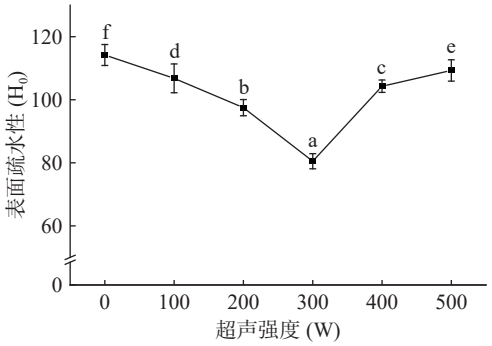



图 7　不同超声强度辅助下磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的疏水性

Fig.7　Hydrophobicity of phosphorylated chickpea protein isolate assisted by different ultrasonic intensities

### 2.8　超声辅助处理对鹰嘴豆分离蛋白傅里叶红外光谱的影响

如图 8 所示，超声辅助磷酸化修饰的 CPI 出现了 1 个新特征峰，在 900 $cm^{-1}$ 处，此吸收峰为磷酸根的特征吸收峰，这与 Tang 等[34] 研究结果相似，表明鹰嘴豆分离蛋白侧链成功地引入了磷酸盐基团。在 1199 $cm^{-1}$ 波长处的吸收峰是由 P=O的伸缩振动引起的，而 1045 $cm^{-1}$ 处出现的吸收峰则是 C-O 的特征峰，和未超声处理的 CPI 相比，超声处理后的蛋白二级结构相关的酰胺带（酰胺 I 带 1600~1700 $cm^{-1}$、酰胺 II 带 1500~1600 $cm^{-1}$、酰胺 III 带 1200~1300 $cm^{-1}$）峰形、强度和峰位发生改变，这表明超声辅助磷酸化修饰对 CPI 的二级结构具有明显调控作用。综合以上分析可知，在超声辅助作用下，三聚磷酸钠与 CPI 成功发生磷酸化反应，且该蛋白肽链中已形成新的 P=O 键与 P-O 键。

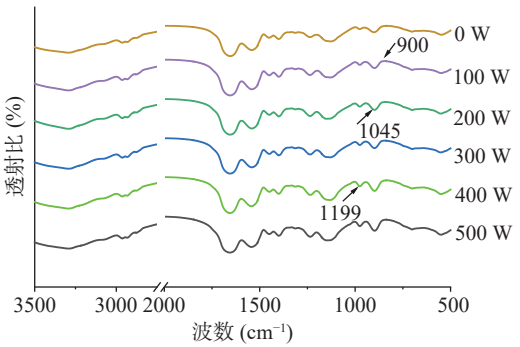



图 8 不同超声强度辅助下磷酸化鹰嘴豆分离蛋白红外光谱图

Fig.8 FTIR of phosphorylated chickpea protein isolate assisted by different ultrasonic intensities

### 2.9 超声辅助处理对鹰嘴豆分离蛋白乳化性及乳化稳定性的影响

蛋白质的乳化性反映了乳液形成期间蛋白质分子在油-水界面的吸附特性。图 9 显示了未经超声处理和超声辅助处理后的磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的乳化性与乳化稳定性。随着超声强度的增加，超声辅助磷酸化显著($P$<0.05)改善了 CPI 的乳化性与乳化稳定性，且在超声 300 W 的条件下磷酸化的 CPI 表现出更高的乳化性和乳化稳定性。主要是由于超声辅助磷酸化的 CPI 分子中引入了带负电荷的磷酸基团，增加了液滴之间的静电排斥力；与此同时，超声使紧密的蛋白聚集体解聚、粒径减小，使分子结构适度展开，暴露出内部的疏水区域和活性基团，因此产生较高的乳化性和乳化稳定性[35]。然而，高强度的超声会导致蛋白过度展开，暴露出过多的疏水基团，或引发分子间产生异常交联，造成蛋白质形成大的、不溶性聚集体，难以有效吸附到界面上，反而可能加速乳液分层[12]。与上述结果分析中分子柔性的下降，蛋白质刚性区域结构增强，乳化性与乳化稳定性下降的分析相符。

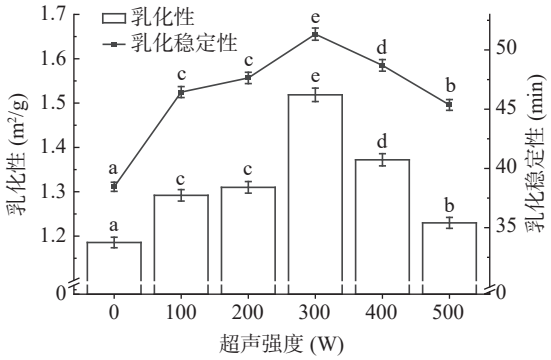



图 9 不同超声强度辅助下磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的乳化性与乳化稳定性

Fig.9 Emulsifying properties and emulsifying stability of phosphorylated chickpea isolate protein assisted by different ultrasonic intensities

### 2.10 超声辅助处理对鹰嘴豆分离蛋白起泡性与泡沫稳定性的影响

蛋白质起泡性为加工过程中的体积增加能力，核心是泡沫的形成效率；泡沫稳定性则反映泡沫产生后保持结构稳定的持久性能。图 10 结果显示，当超声强度小于 300 W 时，起泡性随超声轻度增加显著($P$<0.05)提高，而泡沫稳定性则呈显著下降趋势；当超声强度超过 300W 时，起泡性逐渐降低，泡沫稳定性则有所回升。这可能是因为磷酸化引入的电荷增强了蛋白亲水性及分子间静电斥力，而低-中强度的超声处理使蛋白质聚集体解聚[36]，粒径减小，溶解度提升，同时蛋白质适度展开，暴露内部疏水基团与活性巯基，促进了蛋白在界面的快速吸附与铺展，从而显著提升其起泡性。然而，此时增强的静电斥力削弱了界面膜的网络交联强度，降低了界面膜的机械稳定性，导致泡沫稳定性随超声强度增加持续降低。而当超声强度过高时，导致蛋白过度展开、疏水作用增强及发生异常交联，形成不溶性聚集体，这致使有效蛋白浓度和溶解度下降，蛋白扩散至界面的能力减弱，最终导致起泡性显著降低。而高强度下形成的部分交联聚集体及过度磷酸化产生的空间位阻效应，反而在一定程度上减缓了泡沫的聚并，使泡沫稳定性得以回升[33]。

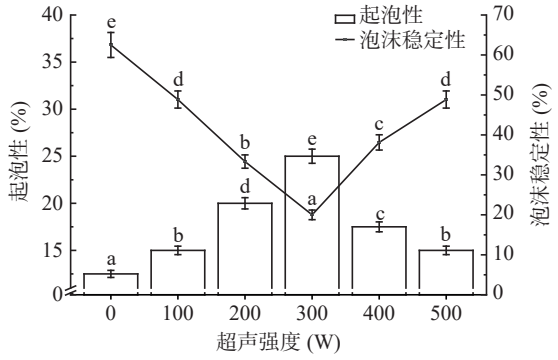



图 10 不同超声强度辅助下磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的起泡性

Fig.10 Foaming capacity of phosphorylated chickpea protein isolate assisted by different ultrasonic intensities

## 3 结论

本实验采用超声辅助磷酸化的方法改性 CPI，综合评价不同强度超声条件制备得到的磷酸化鹰嘴豆分离蛋白理化性质和结构等，并与未超声处理的磷酸化鹰嘴豆分离蛋白进行比较。结果显示，经过不同强度的超声辅助磷酸化改性，CPI 的理化性质和结构发生不同程度的改变，在 300 W 的超声条件下，磷酸化鹰嘴豆分离蛋白的溶解度、浊度和分子柔性显著增强后减弱，可能造成这种变化趋势的原因是超声处理使蛋白质结构发生适度展开，分子链柔性暂时增加，暴露出更多的磷酸化修饰位点，随磷酸基团的引入，增强蛋白表面负电荷，提升静电斥力与水化能力，亲水性增加，从而提高溶解度、乳化性等理化性质，而其表面疏水性显著下降。当超声强度过高时，易导致蛋白质过度变性，聚集，甚至发生共价交联或磷酸基团脱落，分子柔性与乳化性等随之下降。与未超声处

理的 CPI 相比，超声处理后的蛋白二级结构相关的酰胺带峰形、强度和峰位发生偏移。本实验从理化性质和结构变化两个方面揭示了超声辅助磷酸化在改善鹰嘴豆分离蛋白加工特性方面的巨大潜力，为食品蛋白质改性研究提供了一定的理论参考。

© 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］ 贾伟祎, 李甜甜, 郑思羽, 等. 糖基化改性对鹰嘴豆分离蛋白结构及功能性质的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(15): 115−125. ［JIA Weiyi, LI Tiantian, ZHENG Siyu, et al. Effects of glycosylation modification on the structure and functional properties of chickpea protein isolate[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(15): 115−125.］

［2］ CHEN X, BAIX, YU H, et al. Comparative phosphorylation dynamics of whey proteins in human colostrum and mature milk: Implications for infant nutrition[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(23): 14677−14687.

［3］ 何洋. 微波辅助大豆分离蛋白磷酸化改性的工艺探究[J]. 黑龙江: 黑龙江科技信息, 2017(1): 159−162. ［HE Yang. Process investigation on microwave-assisted phosphorylation modification of soy protein isolate[J]. Heilongjiang Science and Technology Information, 2017(1): 159−162.］

［4］ 董暄, 路茹青, 逄晓阳, 等. 湿热磷酸化提升乳清蛋白热稳定性的作用与机制[J]. 食品科学, 2025, 46(24): 106−114. ［DONG Xuan, LU Ruqing, PANG Xiaoyang, et al. Effects and mechanisms of moist heat phosphorylation on improving the thermal stability of whey protein[J]. Food Science, 2025, 46(24): 106−114.］

［5］ YAN C J, ZHOU Z. Solubility and emulsifying properties of phosphorylated walnut protein isolateextracted by sodium trimetaphosphate[J]. LWT, 2021, 143: 111117.

［6］ 张天宇, 谢焕, 李春梅, 等. 超声辅助湿法糖基化改性核桃粕蛋白的制备及性能分析[J]. 食品工业科技, 2026, 1(21): 1−16. ［ZHANG Tianyu, XIE Huan, LI Chunmei, et al. Preparation and property analysis of ultrasonic-assisted wet glycosylation modified walnut meal protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 1(21): 1−16.］

［7］ 巩明明, 杨敏, 季伟, 等. 超声处理对马铃薯蛋白质功能性质及抗氧化性的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2025, 60(4): 302−313. ［GONG Mingming, YANG Min, JI Wei, et al. Effects of ultrasonic treatment on functional properties and antioxidant activity of potato protein[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2025, 60(4): 302−313.］

［8］ FU X, LIU Q, TANG C. Study on structural, rheological and foaming properties of ovalbumin by ultrasound-assisted glycation with xylose[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2019, 58 104644.

［9］ XIONG W, WANG Y, ZHANG C, et al. High intensity ultrasound modified ovalbumin: Structure, interface and gelation properties[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016, 31: 302−309.

［10］ 王欢, 贾强, 江津津, 等. 超声辅助磷酸化对大豆分离蛋白分子及凝胶特性的影响[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(1): 233−238. ［WANG Huan, JIA Qiang, JIANG Jinjin, et al. Effects of ultrasonic-assisted phosphorylation on molecular and gel properties of soy protein isolate[J]. China Food Additives, 2023, 34(1): 233−238.］

［11］ KOGA M, MATSUOKA S, YOSHIMURA K. Improved solid-phase spectrometry for the microdetermination of total and dissolved phosphate[J]. Analytical Sciences, 2010, 26(9): 963−968.

［12］ WANG F, ZHANG Y, XU L, et al. An efficient ultrasound-assisted extraction method of pea protein and its effect on protein functional properties and biological activities[J]. LWT, 2020, 127: 109348.

［13］ LI P S, SHENG L, JIN Y G. Using microwave-assisted phosphorylation to improve foaming and solubility of egg white by response surface methodology[J]. Poultry Science, 2019, 98(12): 7110−7117.

［14］ DAY L, CAKEBREAD J A, LOVEDAY S M. Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 119: 428−442.

［15］ 李瑶, 熊彩明, 张佳乐, 等. 磷酸化裙带菜多糖的制备及结构表征和生物活性分析[J]. 食品科学, 2024, 45(7): 35−42. ［LI Yao, XIONG Caiming, ZHANG Jiale, et al. Preparation, structural characterization, and bioactivity analysis of phosphorylated undaria pinnatifida polysaccharides[J]. Food Science, 2024, 45(7): 35−42.］

［16］ 王亮, 田玉潭, 刘军, 等. 超声预处理对鸡骨香精基料美拉德反应及生物活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(18): 97−104. ［WANG Liang, TIAN Yutan, LIU Jun, et al. Effects of ultrasonic pretreatment on maillard reaction and bioactivity of chicken bone flavor base[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(18): 97−104.］

［17］ BHARGAVA N, MOR R S, KUMAR K, et al. Advances in application of ultrasound in food processing: A review[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 70: 105293.

［18］ 张晓燕, 孟令莉, 吴子健, 等. 葡聚糖分子质量对其与牛血清白蛋白共聚物性质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(15): 104−110. ［ZHANG Xiaoyan, MENG Lingli, WU Zijian, et al. Effects of dextran molecular weight on properties of its copolymers with bovine serum albumin[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(15): 104−110.］

［19］ 望运滔, 王营娟, 田金凤, 等. 高强度超声对鹰嘴豆分离蛋白结构和功能特性的影响[J]. 食品与机械, 2020, 36(8): 9−14,71. ［WANG Yuntao, WANG Yingjuan, TIAN Jinfeng, et al. Effects of high-intensity ultrasound on structural and functional properties of chickpea protein isolate[J]. Food and Machinery, 2020, 36(8): 9−14, 71.］

［20］ YING Q, HU B, LI Y, et al. Ultrasound-assisted phosphorylation on the functional and structural properties of fish gelatin[J]. Food Hydrocolloids, 2025, 166: 111364.

［21］ LI P S, JIN Y G, SHENG L. Impact of microwave assisted phosphorylation on the physicochemistry and rehydration behaviour of egg white powder[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100(C): 105380.

［22］ 纪妍丽. 磷酸化修饰对乳清蛋白不溶性肽聚集体性质的影响及应用[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2025. ［JI Yanli. Effects and applications of phosphorylation modification on properties of whey protein insoluble peptide aggregates[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2025.］

［23］ 张怡雪, 杨晴, 程腾, 等. 超声波辅助提取对鹰嘴豆分离蛋白结构和乳化特性的影响[J]. 食品科学, 2025, 46(19): 236−247. ［ZHANG Yixue, YANG Qing, CHENG Teng, et al. Effects of ultrasonic-assisted extraction on structure and emulsifying properties of chickpea protein isolate[J]. Food Science, 2025, 46(19): 236−

247.］
［24］ O'SULLIVAN J, ARELLANO M, PICHOT R, et al. The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of dairy proteins[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 42: 386−396.
［25］ YUAN X Y, LI X Y, ZHANG X L, et al. Effect of ultrasound on structure and functional properties of laccase-catalyzed α-lactalbumin[J]. Journal of Food Engineering, 2018, 223: 116−123.
［26］ PATIL N D, BAINS A, KAUR S, et al. Influence of dual succinylation and ultrasonication modification on the amino acid content, structural and functional properties of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein concentrate[J]. Food Chemistry, 2024, 445: 138671.
［27］ 刘紫薇, 朱明明, 王凤新, 等. 高温湿热处理对大豆分离蛋白的结构及其功能特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(15): 157−164. ［LIU Ziwei, ZHU Mingming, WANG Fengxin, et al. Effects of high-temperature moist heat treatment on structure and functional properties of soy protein isolate[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(15): 157−164.］
［28］ HU B, CEN S, SUN W, et al. Effects of different phosphorylation times and pH on fish gelatin: Functional properties, structural and mechanism analysis[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 152: 109876.
［29］ 吴溪, 陈国, 阚成友. 化学改性大豆蛋白质高分子材料研究进展[J]. 现代化工, 2009, 29(10): 14−18. ［ WU Xi, CHEN Guo, KAN Chengyou. Research progress on chemically modified soy protein polymer materials[J]. Modern Chemical Industry, 2009, 29(10): 14−18.］
［30］ 庄虎, 张珊, 杨俊鹏, 等. 超声辅助磷酸化修饰对卵转铁蛋白理化及乳化特性影响的研究[J]. 食品科技, 2022, 47(01): 269−276. ［ ZHUANG H, ZHANG S, YANG J P, et al. Effects of ultrasound-assisted phosphorylation modification on physicochemical and emulsifying properties of ovotransferrin[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(01): 269−276.］
［31］ ZHU X, LI X, LIU X, et al. Pulse protein isolates as competitive food ingredients: Origin, composition, functionalities, and the state-of-the-art manufacturing[J]. Foods, 2023, 13(1): 6.
［32］ 韩格, 孔保华. 功率超声对肌原纤维蛋白功能特性及肉品品质的影响研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(13): 361−369. ［HAN Ge, KONG Baohua. Research progress on effects of power ultrasound on functional properties of myofibrillar protein and meat quality[J]. Food Science, 2022, 43(13): 361−369.］
［33］ WANG P, JIN Z, XU X. Physicochemical alterations of wheat gluten proteins upon dough formation and frozen storage–A review from gluten, glutenin and gliadin perspectives[J]. Trends in Food Science & Technology, 2015, 46(2): 189−198.
［34］ TANG S T, YU J L, LU L Z, et al. Interfacial and enhanced emulsifying behavior of phosphorylated ovalbumin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 131: 293−300.
［35］ FURTADO G D F, MANTOVANI R A, CONSOLI L, et al. Structural and emulsifying properties of sodium caseinate and lactoferrin influenced by ultrasound process[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 178−188.
［36］ HUANG Z, ZHANG G, QIE A, et al. Effect of ultrasound intervention timing on the formation mechanism and emulsifying properties of chickpea protein isolate-citrus pectin complexes[J]. Food Chemistry, 2025, 469: 142596.