

# 核桃衣多酚改性对植物蛋白溶解性和抗氧化活性的影响

黄子林, 陈思蕊, 孔祥珍, 张彩猛, 华欲飞, 陈业明, 李兴飞

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

**摘要:**为改善植物蛋白的溶解性并提升其抗氧化活性,选择核桃蛋白、小麦蛋白和芝麻蛋白为实验对象,在碱性条件下与核桃衣多酚相互作用,考察了核桃衣多酚改性对3种植物蛋白中性条件下的溶解度和抗氧化活性的影响。此外,通过 SDS-PAGE、圆二色光谱和荧光光谱对溶出蛋白质的结构变化进行表征。结果表明:在核桃衣多酚添加量为 75 mg/g 时,核桃蛋白、小麦蛋白和芝麻蛋白在中性条件下的溶解度分别提升了 61.54、61.23、69.25 百分点;同时,添加核桃衣多酚改性后的核桃蛋白、小麦蛋白和芝麻蛋白的 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除活性显著升高;3 种植物蛋白在核桃衣多酚的作用下均形成了大分子聚集体,总体上蛋白质的  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -转角含量增加, $\beta$ -折叠含量减少,同时内源性荧光强度降低。综上所述,核桃衣多酚改性可以使蛋白质结构发生改变,显著改善植物蛋白的溶解性并提升其抗氧化活性。

**关键词:**核桃蛋白;小麦蛋白;芝麻蛋白;核桃衣;多酚;溶解性;抗氧化活性

中图分类号:TS229;TS201.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)04-0112-07

## Effect of walnut pellicle polyphenols modification on solubility and antioxidant activity of vegetable protein

HUANG Zilin, CHEN Sirui, KONG Xiangzhen, ZHANG Caimeng,  
HUA Yufei, CHEN Yeming, LI Xingfei

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

**Abstract:** In order to improve the solubility and antioxidant activity of vegetable protein, walnut protein, wheat protein and sesame protein were selected as experimental objects, and the interaction of the vegetable protein with walnut pellicle polyphenols under alkaline conditions was performed to study the effects of walnut pellicle polyphenols modification on the solubility under neutral conditions and antioxidant activity of three vegetable proteins. The structural changes of dissolved proteins were characterized by SDS-PAGE, circular dichroism and fluorescence spectra. The results showed that the solubility of walnut protein, wheat protein and sesame protein increased by 61.54, 61.23 percentage points and 69.25 percentage points respectively when the dosage of walnut pellicle polyphenols was 75 mg/g. At the same time, the DPPH free radical and ABTS free radical scavenging activity of walnut protein, wheat protein and sesame protein were significantly improved. It was found that the three vegetable proteins formed macromolecular aggregates under the action of polyphenols, the contents of  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -turn contents of protein increased, while  $\beta$ -sheet content decreased, as well as the endogenous fluorescence intensity. In conclusion, the walnut pellicle polyphenols modification can change the structure of vegetable protein and significantly improve the solubility and antioxidant activity.

**Key words:** walnut protein; wheat protein; sesame protein; walnut pellicle; polyphenols; solubility; antioxidant activity

收稿日期:2022-03-05;修回日期:2022-12-04

作者简介:黄子林(1996),男,硕士研究生,研究方向为植物蛋白科学与技术(E-mail)1140489415@qq.com。

通信作者:孔祥珍,教授(E-mail)xzkong@jiangnan.edu.cn。

随着食用油市场的逐年壮大,粮油加工副产物脱脂粕的产量也逐年递增。脱脂粕中富含蛋白质,常被用作动物饲料<sup>[1-2]</sup>,除此之外,脱脂粕的深加工

方向多是从其中提取植物蛋白,从而提升其附加值。然而部分植物蛋白,如核桃蛋白、芝麻蛋白等在中性条件下溶解度较低,极大地限制了其应用<sup>[3-5]</sup>。

提高植物蛋白在中性条件下溶解度的方法主要为物理法、酶法和化学法。物理法耗能高,酶制剂价格高昂<sup>[6]</sup>,而常用的化学改性如脱酰胺等则需要酸协同高温处理,会引起部分氨基酸的异构化和结构破坏,导致蛋白质营养价值降低<sup>[7-8]</sup>。因此,探究一种简单有效且绿色无污染的植物蛋白改性方法是有意且必要的。

蛋白质与多酚的相互作用会引起蛋白质结构的改变,从而影响蛋白质的亲/疏水性、热稳定性和溶解性等,进而影响其功能性质,包括乳化性、起泡性等<sup>[9]</sup>。因此,蛋白质与多酚类物质的相互作用近年来已经逐渐成为新的研究热点。核桃仁的内种皮,即核桃衣中含有大量多酚类物质,主要为鞣花单宁和鞣花酸<sup>[10]</sup>。核桃衣多酚具有保护神经、降脂、降糖、抗癌、抗氧化及抑菌等多种生物活性,受到人们的关注<sup>[11]</sup>。采用核桃衣多酚改性植物蛋白可在改善其溶解性的同时提高抗氧化活性,但目前鲜见该方面的研究报道。

蛋白质-多酚复合物的功能性质受蛋白质类型、多酚类型和发生相互作用时环境的影响较大。本研究选取了3种溶解度较低的植物蛋白(核桃蛋白、小麦蛋白和芝麻蛋白),与核桃衣多酚在碱性条件下相互作用,考察核桃衣多酚改性对植物蛋白溶解度和抗氧化活性的影响,并进一步对复合物的结构进行表征,以阐明多酚对蛋白质性质的影响机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

芝麻蛋白(干基蛋白质含量94.97%)、核桃蛋白(干基蛋白质含量78.89%),参照Kong等<sup>[1]</sup>的方法实验室自制;小麦蛋白(干基蛋白质含量74.25%),市售;聚丙烯酰胺、N,N,N',N'-四甲基乙二胺(TEMED)、十二烷基硫酸钠(SDS)、二硫苏糖醇(DTT)、考马斯亮蓝(CBB)G-250、溴酚蓝、福林酚试剂、没食子酸、三氟乙酸(TFA)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)和2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS),上海Sigma-Aldrich有限公司;氢氧化钠、浓硫酸、盐酸、无水硫酸铜均为市售分析纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

PHS-3TC数显pH计;分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;R-501旋转蒸发仪,申

科科技有限公司;数显恒温水浴锅,上海一科仪器设备;SCIENTZ-10ND冷冻干燥机,南京伊诺达仪器设备有限公司;UV-1800型紫外分光光度计,翱艺仪器(上海)有限公司;K9840型凯氏定氮仪,济南海能仪器股份有限公司;GelDoc-TriTS凝胶成像仪,美国UVP公司;多功能酶标仪,美国伯腾仪器有限公司;Chirascan圆二色光谱仪,英国应用光物理公司;Himac GR21G II高速冷冻离心机、F-7000荧光光谱仪,日本日立公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 核桃衣多酚的提取

核桃仁手动剥皮,将剥下的核桃衣冻干后碾碎过0.25 mm(60目)筛,按料液比1:5加入正己烷,搅拌提取2 h后抽滤,重复3次后将残渣自然晾干即得到脱脂核桃衣。

核桃衣多酚提取参照Zhang等<sup>[12]</sup>的方法并稍作修改。称取一定量脱脂核桃衣,以料液比1:20加入80%甲醇,于300 W、40℃下超声处理45 min后于4 000 × g离心10 min取上清,残渣重复提取3次,合并上清,在37℃下旋转蒸发至有机相完全挥发,将剩余液体经过AB-8大孔吸附树脂柱富集后冻干得到核桃衣多酚。

#### 1.2.2 植物蛋白-核桃衣多酚复合物的制备

参考Yang等<sup>[13]</sup>的方法制备植物蛋白-核桃衣多酚复合物。分别将1 g核桃蛋白、小麦蛋白、芝麻蛋白分散在90 mL去离子水中,用2 mol/L的氢氧化钠溶液调节pH至9.0,在20℃下搅拌1 h。将不同质量(0.025、0.05、0.075 g)的核桃衣多酚分别溶解在10 mL去离子水中,并将溶液的pH调节至9.0。将制备的3种植物蛋白溶液(90 mL)和核桃衣多酚溶液(10 mL)分别混合,并在室温、pH 9.0条件下搅拌90 min,然后将pH调节至7.0,得到植物蛋白-核桃衣多酚复合物。分别以核桃衣多酚添加量(以植物蛋白质量计)标记样品,即对照组(0 mg/g)、1号(25 mg/g)、2号(50 mg/g)和3号(75 mg/g)。以1 g植物蛋白溶于100 mL去离子水,搅拌使其充分溶解得到的样品为空白组。

#### 1.2.3 核桃衣多酚组成测定

总酚含量采用福林酚分光光度法<sup>[12]</sup>测定;糖含量参照GB 5009.7-2016采用直接滴定法测定;蛋白质含量参照GB 5009.5-2016采用凯氏定氮法测定。

#### 1.2.4 蛋白溶解度的测定

植物蛋白及其多酚复合物溶液在4℃下以10 000 × g离心20 min,用微量凯氏定氮法测定上清

液的蛋白质含量,并计算蛋白溶出率(溶出蛋白质质量与总蛋白质质量的比值),以此表征蛋白溶解度。采用蛋白溶出物进行后续性质表征。

### 1.2.5 抗氧化活性测定

采用 DPPH 自由基清除率和 ABTS 自由基清除率来表征抗氧化活性。DPPH 自由基清除率的测定参照 Galvez 等<sup>[14]</sup>的方法。ABTS 自由基清除率的测定参照 Siddhuraju<sup>[15]</sup>的方法。

### 1.2.6 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析

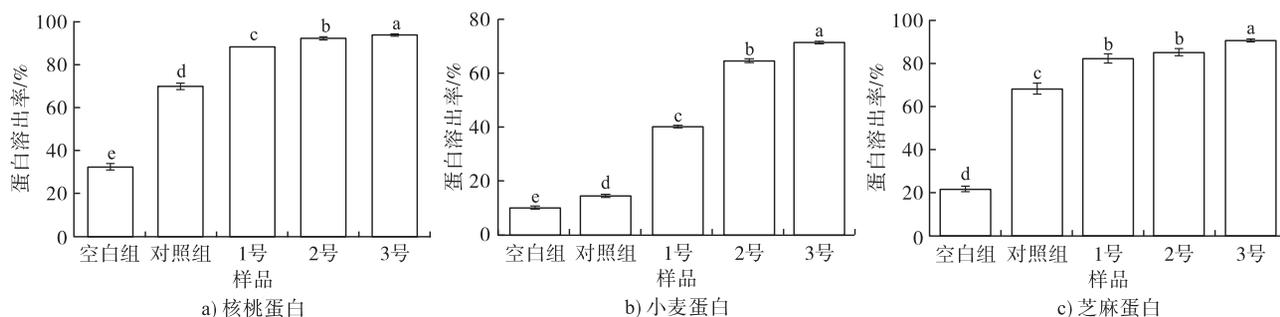
样品的 SDS-PAGE 分析参照 Laemmli<sup>[16]</sup>的方法。分离胶和浓缩胶浓度分别为 12.5% 和 3%。取 0.5 mL 植物蛋白及其多酚复合物溶液,加入等体积的样品溶解液(4% SDS、20% 甘油, pH 6.8、0.125 mol/L Tris-HCl 缓冲液)、20  $\mu$ L DTT (10%)、10  $\mu$ L 溴酚蓝指示剂,沸水浴加热 5 min 后上样。上样量 10  $\mu$ L,电泳条件为电流 13 mA、电压 260 V,电泳完成后,凝胶经固定、染色、脱色,采用凝胶成像仪扫描并保存图片,然后用 Image Lab 软件对电泳条带进行分析。

### 1.2.7 圆二色光谱分析

圆二色光谱测定参考 Tang 等<sup>[17]</sup>的方法。将植物蛋白及其多酚复合物溶液用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液稀释至 0.2 mg/mL,置于 2 mm 厚度石英比色皿中,以 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液作为空白对照,在 190 ~ 260 nm 测定吸收值,测量温度 25  $^{\circ}$ C,扫描速度 1 s/nm。测量 3 次取平均值,通过 Dichroweb 程序估算蛋白质二级结构含量。

### 1.2.8 荧光光谱分析

荧光光谱测定参考 Guimarães 等<sup>[18]</sup>的方法并作



注:不同小写字母表示具有显著性差异( $p < 0.05$ )

图 1 核桃衣多酚改性前后 3 种植物蛋白溶解度的变化

由图 1 可知,3 种植物蛋白(核桃蛋白、小麦蛋白、芝麻蛋白)在未添加核桃多酚且未经过 pH 调节的情况下(空白组)蛋白溶出率均较低,分别为 32.43%、10.21% 和 21.61%。在不添加核桃衣多

相应改动。将植物蛋白及其多酚复合物样品分散在 10 mmol/L pH 7.5 的 PBS 缓冲液中,使其蛋白质质量浓度为 0.15 mg/mL。在激发波长 280 nm 和发射波长 290 ~ 500 nm 处记录荧光光谱,测量 3 次取平均值。

### 1.2.9 统计分析

所有实验均重复 3 次,数据以“平均值  $\pm$  标准差”的形式表示。使用 SPSS 22.0 统计分析软件进行显著性分析。采用单因素方差分析中的 Duncan 检验各组数据间的显著性差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 核桃衣多酚的组成

按 1.2.3 方法测定核桃衣多酚的组成,结果见表 1。

表 1 核桃衣多酚的组成

| 蛋白质含量/%         | 总酚含量/(mg/g)        | 糖含量/(mg/g)        |
|-----------------|--------------------|-------------------|
| 1.61 $\pm$ 0.18 | 681.23 $\pm$ 13.06 | 314.25 $\pm$ 1.14 |

注:糖含量以葡萄糖计

由表 1 可以看出,核桃衣多酚的主要组成为多酚类物质和糖类。经鉴定核桃衣多酚中的多酚类物质主要是鞣花单宁,与 Medic 等<sup>[10]</sup>研究结果一致。对核桃衣多酚采用乙醇沉淀法进行检测,并结合本实验中核桃衣多酚的提取方法(多糖在 80% 甲醇溶液中会沉淀,被除去)分析,确认所制备的核桃衣多酚中不含多糖,同时,采用斐林试剂检测发现核桃衣多酚中几乎不含还原糖,故测得核桃衣多酚中的糖主要来自鞣花单宁结构中鞣花酰基相连的糖苷。

### 2.2 植物蛋白溶解度变化

核桃衣多酚改性前后 3 种植物蛋白溶解度的变化见图 1。

酚调节 pH 的情况下(对照组),3 种植物蛋白溶解度有所提升,其中核桃蛋白和芝麻蛋白的溶解度均达到 65% 左右,这可能与植物蛋白的组成有关。据报道,芝麻蛋白主要由 80% 的  $\alpha$ -球蛋白和 20% 的

$\beta$ -球蛋白组成<sup>[19]</sup>,而脱皮的核桃蛋白主要来自核桃 11S 和 7S 球蛋白<sup>[20]</sup>。由于球蛋白的溶解度受盐离子影响较大,在 pH 调节中引入的盐离子可能是蛋白质溶解度升高的原因。除此之外,虽然核桃经过了脱皮处理,但核桃仁中仍有部分多酚类物质,例如鞣花甙 A<sup>[10,21]</sup>,推测这些物质在碱性条件下与蛋白质结合,促进了溶解度的进一步提升。而小麦蛋白在经过 pH 调节后溶解度提高较少,这主要是由于小麦蛋白中醇溶蛋白占 40%~50%,谷蛋白占 35%~45%,这些蛋白组分的溶解度受盐离子影响较小<sup>[22]</sup>。

添加核桃衣多酚改性后,3 种植物蛋白的溶解度都有显著提升,且溶解度随着多酚添加量的增加而增加,当多酚添加量达到 75 mg/g 时,核桃蛋白、小麦蛋白和芝麻蛋白的溶解度分别达到了 93.97%、71.44% 和 90.86%,相比未处理的原蛋白分别增加了 61.54、61.23 个百分点和 69.25 百分点。

### 2.3 植物蛋白抗氧化活性变化

核桃衣多酚改性前后 3 种植物蛋白抗氧化活性变化分别见表 2、表 3。

由表 2、表 3 可以看出,空白组核桃蛋白 DPPH 自由基清除率的  $IC_{50}$  最低,说明其 DPPH 自由基清除能力最强,而在 ABTS 自由基清除体系中则是小麦蛋白清除能力最强。对照组 3 种植物蛋白样品 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除能力均有所下降,说明仅调节 pH 至碱性并回调 pH 至中性并不能提高 3 种植物蛋白的抗氧化活性。核桃衣多酚改性后,

3 种植物蛋白的 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除率  $IC_{50}$  均显著降低,证明其抗氧化活性得到大幅改善,并且  $IC_{50}$  随着核桃衣多酚添加量增加而显著降低,可见随着核桃衣多酚添加量的增加抗氧化活性显著提高,这也与前人研究结果<sup>[23-25]</sup> 相似。

表 2 核桃衣多酚改性前后 3 种植物蛋白 DPPH 自由基清除活性变化

| 样品  | $IC_{50}/(mg/mL)$ |                |                 |
|-----|-------------------|----------------|-----------------|
|     | 核桃蛋白              | 小麦蛋白           | 芝麻蛋白            |
| 空白组 | 1.410 ± 0.124b    | 2.527 ± 0.051b | 2.685 ± 0.111a  |
| 对照组 | 1.989 ± 0.243a    | 2.843 ± 0.136a | 2.740 ± 0.084a  |
| 1 号 | 0.330 ± 0.015c    | 0.406 ± 0.042c | 0.474 ± 0.009b  |
| 2 号 | 0.282 ± 0.005d    | 0.115 ± 0.029d | 0.275 ± 0.047c  |
| 3 号 | 0.127 ± 0.021e    | 0.079 ± 0.011e | 0.232 ± 0.013cd |

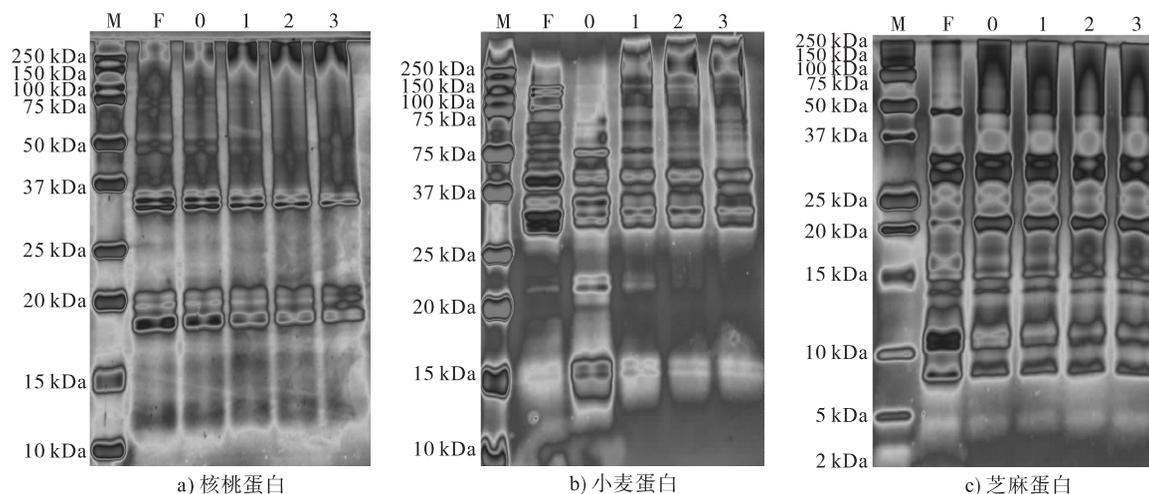
注:同列不同小写字母表示具有显著性差异( $p < 0.05$ )。下同

表 3 核桃衣多酚改性前后 3 种植物蛋白 ABTS 自由基清除活性变化

| 样品  | $IC_{50}/(mg/mL)$ |                 |                 |
|-----|-------------------|-----------------|-----------------|
|     | 核桃蛋白              | 小麦蛋白            | 芝麻蛋白            |
| 空白组 | 0.100 ± 0.012b    | 0.071 ± 0.003b  | 0.081 ± 0.010ab |
| 对照组 | 0.123 ± 0.003a    | 0.079 ± 0.002a  | 0.094 ± 0.002a  |
| 1 号 | 0.073 ± 0.010c    | 0.044 ± 0.015c  | 0.065 ± 0.011b  |
| 2 号 | 0.059 ± 0.004d    | 0.038 ± 0.001cd | 0.040 ± 0.007c  |
| 3 号 | 0.038 ± 0.003e    | 0.027 ± 0.004d  | 0.033 ± 0.001cd |

### 2.4 SDS-PAGE 分析

为了探究添加核桃衣多酚后制备的蛋白质-多酚复合物中蛋白质的组成情况,分别对其进行 SDS-PAGE 分析,结果如图 2 所示。



注:M 为 Marker;F 为植物蛋白;0~3 分别为对照组及 1 号、2 号、3 号样品的溶出蛋白

图 2 核桃衣多酚改性前后 3 种植物蛋白 SDS-PAGE 图谱

由图 2a 可知,核桃蛋白与对照组溶出蛋白条带相差不大,证明整体蛋白和其溶出成分组成基本相似。其中对照组溶出蛋白有 3 个主要区域,分子质

量分别为 18~21 kDa、31~35 kDa 和 50~72 kDa,与 Mao 等<sup>[26]</sup>的研究结果类似。添加核桃衣多酚改性后,出现了分子质量大于 150 kDa 聚集体条带,并

且随着核桃衣多酚添加量的增加,聚集体的条带颜色变得更深、更宽。相比之下,18~21 kDa 和 31~35 kDa 的条带显著减弱,说明这些分子质量的肽段参与了蛋白质聚集体的形成。由于 SDS-PAGE 实验中氢键和疏水相互作用等非共价相互作用已被破坏,由此可以说明核桃衣多酚诱导的蛋白质聚集主要是由共价相互作用驱动的。

由图 2b 可知,小麦蛋白与对照组溶出蛋白的条带相差很大,可见小麦蛋白可溶性部分和整体蛋白质组成有很大差异。而添加核桃衣多酚改性后表现出与核桃蛋白相似的趋势,即大分子聚集条带增

加,小分子条带减弱。与核桃蛋白相似,由于蛋白质与多酚相互作用,核桃衣多酚的添加改变了溶出小麦蛋白的结构。

由图 2c 可知,芝麻蛋白与对照组溶出蛋白条带差别不大,而核桃衣多酚改性导致大分子聚集条带增加,同时 25~35 kDa 和 15 kDa 以下的条带减弱,这也与核桃蛋白的变化情况类似,说明这些条带可能参与形成了大分子聚集体。

## 2.5 蛋白质二级结构变化

通过圆二色光谱(CD)表征植物蛋白二级结构的变化,结果如图 3 所示,二级结构拟合结果如表 4 所示。

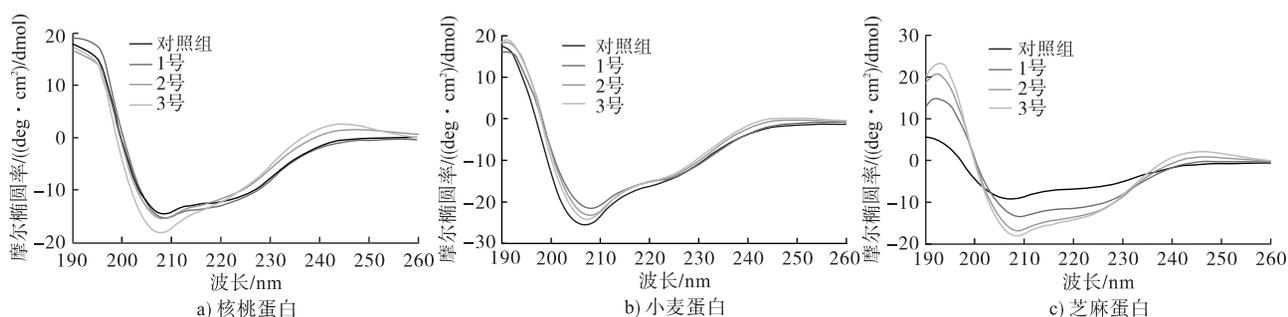


图 3 核桃衣多酚改性前后 3 种植物蛋白 CD 图谱

由图 3a 可见,核桃衣多酚添加量较少的 1 号样品和未添加多酚的对照组样品图谱基本相似。随着核桃衣多酚添加量的增加,2 号和 3 号样品图谱形状产生较大差异。

表 4 核桃衣多酚改性前后 3 种植物蛋白质二级结构含量

| 样品   | 蛋白质二级结构含量    |             |             | %    |
|------|--------------|-------------|-------------|------|
|      | $\alpha$ -螺旋 | $\beta$ -折叠 | $\beta$ -转角 |      |
| 核桃蛋白 |              |             |             |      |
| 对照组  | 14.1         | 46.5        | 19.1        | 26.9 |
| 1 号  | 14.9         | 45.6        | 19.4        | 26.7 |
| 2 号  | 14.9         | 45.7        | 19.7        | 27.2 |
| 3 号  | 15.2         | 43.2        | 21.0        | 28.0 |
| 小麦蛋白 |              |             |             |      |
| 对照组  | 15.7         | 35.2        | 23.0        | 30.0 |
| 1 号  | 15.8         | 37.3        | 22.4        | 29.6 |
| 2 号  | 16.1         | 37.0        | 22.9        | 29.2 |
| 3 号  | 16.2         | 36.6        | 22.4        | 29.3 |
| 芝麻蛋白 |              |             |             |      |
| 对照组  | 6.9          | 50.9        | 17.3        | 29.2 |
| 1 号  | 12.8         | 45.9        | 18.9        | 27.9 |
| 2 号  | 15.5         | 42.3        | 19.6        | 28.0 |
| 3 号  | 16.7         | 40.3        | 20.1        | 28.2 |

由表 4 可知,随着核桃衣多酚添加量的增加,总体来看  $\alpha$ -螺旋含量增加, $\beta$ -折叠含量减少, $\beta$ -转角含量和无规卷曲含量增加。 $\alpha$ -螺旋含量增加说明蛋白质内部肽链收缩<sup>[27]</sup>。这种变化与表没食子

儿茶素没食子酸酯(EGCG)和大豆蛋白、脂肪酶共价结合时变化趋势<sup>[28]</sup>相同。另外,这种变化可能与蛋白质形成大分子聚集体有关。

由图 3b 可见,小麦蛋白的 CD 图谱变化趋势在 230 nm 后与核桃蛋白相似。由表 4 可知,随着核桃衣多酚添加量的增加, $\alpha$ -螺旋含量呈现增加的趋势, $\beta$ -折叠含量则是先增后减, $\beta$ -转角和无规卷曲含量变化较小。

由图 3c 可见,随着核桃衣多酚添加量的增加,芝麻蛋白 CD 图谱 200 nm 前响应值逐渐变强,200 nm 后逐渐变小,240 nm 后又逐渐增强。由表 4 可知,随着核桃衣多酚添加量的增加, $\alpha$ -螺旋含量及  $\beta$ -转角含量逐渐增加, $\beta$ -折叠含量逐渐减少,无规卷曲含量差别不大,变化趋势与核桃蛋白相似,可能与形成大分子聚集体有关。

## 2.6 蛋白质三级结构变化

蛋白质三级结构的变化由内源性荧光光谱进行表征,结果如图 4 所示。

由图 4 可见,核桃衣多酚改性后,核桃蛋白、小麦蛋白和芝麻蛋白内源性荧光光谱响应值均小于对照组,证明核桃多酚对蛋白内源性荧光产生了猝灭<sup>[29]</sup>。从光谱形态上看,核桃蛋白与芝麻蛋白光谱变化更为相似,证明二者所含蛋白变化具有一定相似性。而小麦蛋白的荧光图谱中最大吸收峰蓝移,证明蛋白质发生了聚集<sup>[29]</sup>,生成大分子聚集体。

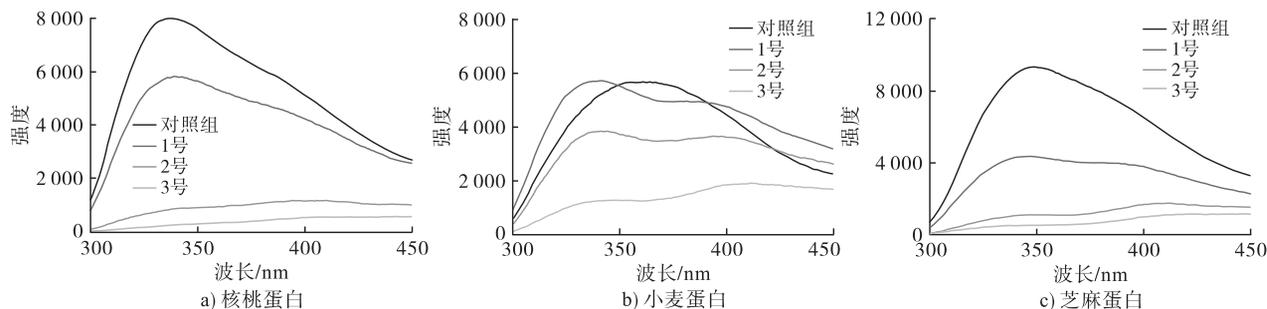


图4 核桃衣多酚改性前后3种植物蛋白荧光图谱

### 3 结论

从核桃衣中提取的核桃衣多酚通过在碱性条件下与蛋白质相互作用,能够有效提升蛋白质的溶解性和抗氧化活性。添加 75 mg/g 核桃衣多酚可以使核桃蛋白、小麦蛋白和芝麻蛋白中性条件下的溶解度分别达到 93.97%、71.44% 和 90.86%。通过 SDS-PAGE、圆二色光谱和荧光光谱分析初步表征了蛋白质溶解度提升的机制,主要是由于植物蛋白与核桃衣多酚的共价结合形成了大分子可溶性聚集体导致溶解度的改变。本研究为油料加工副产物脱脂粕的加工利用提供了新的发展方向,即在核桃粕加工中通过保留富含多酚类物质的核桃衣或其他脱脂粕中加入核桃衣多酚的方式,制备溶解度高的天然来源功能性植物蛋白产品。

### 参考文献:

- [1] KONG X Z, ZHANG L N, LU X, et al. Effect of high-speed shearing treatment on dehulled walnut proteins[J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2019, 116: 108500 [2022-03-05]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108500>.
- [2] LABUCKAS D, MAESTRI D, LAMARQUE A. Effect of different oil extraction methods on proximate composition and protein characteristics of walnut (*Juglans regia* L.) flour[J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2014, 59(21):794-799.
- [3] SUN Q, MA Z F, ZHANG H, et al. Structural characteristics and functional properties of walnut glutelin as hydrolyzed: effect of enzymatic modification[J]. *Int J Food Prop*, 2019, 22(1):265-279.
- [4] 焦晓波,王高杨,李锦红,等. 芝麻渣中蛋白提取方法的比较研究[J]. *生物技术通报*, 2021, 37(4):273-281.
- [5] 张森,文芬,邵雪梅,等. 响应面法优化芝麻饼粕中芝麻蛋白的提取工艺[J]. *粮食与油脂*, 2020, 33(12):49-52.
- [6] MA T, WANG Q, WU H. Optimization of extraction conditions for improving solubility of peanut protein concentrates by response surface methodology[J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2010, 43(9):1450-1455.
- [7] 李传雯,袁江兰,柳旺,等. 大米谷蛋白碱法脱酰胺条件优化[J]. *食品科技*, 2016, 41(10):143-146.
- [8] 聂小华,龚燕丹,许丹,等. 酸法脱酰胺处理对大米蛋白功能特性的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(5):85-88.
- [9] LABUCKAS D O, MAESTRI D M, PERELLÓ M, et al. Phenolics from walnut (*Juglans regia* L.) kernels: antioxidant activity and interactions with proteins[J]. *Food Chem*, 2008, 107(2):607-612.
- [10] MEDIC A, JAKOPIC J, HUDINA M, et al. Identification and quantification of the major phenolic constituents in *Juglans regia* L. peeled kernels and pellicles, using HPLC-MS/MS [J/OL]. *Food Chem*, 2021, 352: 129404 [2022-03-05]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129404>.
- [11] ZHANG M W, CUI S M, MAO B Y, et al. Ellagic acid and intestinal microflora metabolite urolithin A: a review on its sources, metabolic distribution, health benefits, and biotransformation[J/OL]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022: 2036693 [2022-03-05]. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2036693>.
- [12] ZHANG Y, KAN H, CHEN S, et al. Comparison of phenolic compounds extracted from *Diaphragma juglandis* fructus, walnut pellicle, and flowers of *Juglans regia* using methanol, ultrasonic wave, and enzyme assisted-extraction [J/OL]. *Food Chem*, 2020, 321: 126672 [2022-03-05]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126672>.
- [13] YANG C, WANG B, WANG J, et al. Effect of pyrogallol acid (1,2,3-benzenetriol) polyphenol-protein covalent conjugation reaction degree on structure and antioxidant properties of pumpkin (*Cucurbita* sp.) seed protein isolate [J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2019, 109:443-449.
- [14] GALVEZ M, MARTIN-CORDERO C, HOUGHTON P J, et al. Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species[J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(6):1927-1933.
- [15] SIDDHURAJU P. The antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of phenolics of raw and dry heated moth bean (*Vigna aconitifolia*) (Jacq.) Marechal seed extracts[J]. *Food Chem*, 2006, 99(1):149-157.
- [16] LAEMMLI U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. *Nature*, 1970, 227(5259):680-685.
- [17] TANG C H, SUN X A. Comparative study of physicochemical and conformational properties in three vicilins from *Phaseolus* legumes: implications for the structure-function relationship[J]. *Food Hydrocolloid*,

- 2011, 25(3):315–324.
- [18] GUIMARÃES DRUMMOND E SILVA F, MIRALLES B, HERNÁNDEZ-LEDESMA B, et al. Influence of protein-phenolic complex on the antioxidant capacity of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) products [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(4):800–809.
- [19] KOTECKA-MAJCHRZAK K, SUMARA A, FORMAL E, et al. Oilseed proteins – properties and application as a food ingredient [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2020, 106:160–170.
- [20] YAN C, ZHOU Z. Walnut pellicle phenolics greatly influence the extraction and structural properties of walnut protein isolates [J/OL]. *Food Res Int*, 2021, 141:110163 [2022-03-05]. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110163>.
- [21] REGUEIRO J, SÁNCHEZ-GONZÁLEZ C, VALLVERDÚ-QUERALT A, et al. Comprehensive identification of walnut polyphenols by liquid chromatography coupled to linear ion trap-orbitrap mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2014, 152:340–348.
- [22] DAY L. Proteins from land plants – potential resources for human nutrition and food security [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2013, 32(1):25–42.
- [23] DAI T, CHEN J, MCCLEMENTS D J, et al. Protein-polyphenol interactions enhance the antioxidant capacity of phenolics: analysis of rice glutelin-procyanidin dimer interactions [J]. *Food Funct*, 2019, 10(2):765–774.
- [24] ALU'DATT M H, RABABAH T, ALHAMAD M N, et al. Occurrence, types, properties and interactions of phenolic compounds with other food constituents in oil-bearing plants [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2018, 58(18):3209–3218.
- [25] ZOU Y, WU C, MA C, et al. Interactions of grape seed procyanidins with soy protein isolate: contributing antioxidant and stability properties [J/OL]. *LWT – Food Sci Technol*, 2019, 115:108465 [2022-03-05]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108465>.
- [26] MAO X, HUA Y. Chemical composition, molecular weight distribution, secondary structure and effect of NaCl on functional properties of walnut (*Juglans regia* L.) protein isolates and concentrates [J]. *J Food Sci Technol*, 2014, 51(8):1473–1482.
- [27] SUI X, SUN H, QI B, et al. Functional and conformational changes to soy proteins accompanying anthocyanins: focus on covalent and non-covalent interactions [J]. *Food Chem*, 2018, 245:871–878.
- [28] ZHOU S, LIN Y, XU X, et al. Effect of non-covalent and covalent complexation of (–)-epigallocatechin gallate with soybean protein isolate on protein structure and in vitro digestion characteristics [J/OL]. *Food Chem*, 2020, 309:125718 [2022-03-05]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125718>.
- [29] KANAKIS C D, HASNI I, BOURASSA P, et al. Milk  $\beta$ -lactoglobulin complexes with tea polyphenols [J]. *Food Chem*, 2011, 127(3):1046–1055.
- .....
- (上接第 111 页)
- [58] SARABI V, ARJMAND-GHAJUR E. Exogenous plant growth regulators/plant growth promoting bacteria roles in mitigating water-deficit stress on chicory (*Cichorium pumilum* Jacq.) at a physiological level [J/OL]. *Agric Water Manage*, 2021, 245:106439 [2022-01-25]. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106439>.
- [59] YOON A, OH H E, KIM S Y, et al. Plant growth regulators and rooting substrates affect growth and development of *Salix koriyanagi* cuttings [J/OL]. *Rhizosphere*, 2021, 20:100437 [2022-01-25]. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100437>.
- [60] ZHAO P, WANG Y, LIN Z, et al. The alleviative effect of exogenous phytohormones on the growth, physiology and gene expression of *Tetraselmis cordiformis* under high ammonia-nitrogen stress [J]. *Bioresour Technol*, 2019, 282:339–347.
- [61] LIU T, LUO F, WANG Z, et al. The enhanced biomass and lipid accumulation in *Coccomyxa subellipsoidea* with an integrated treatment strategy initiated by brewery effluent and phytohormones [J/OL]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2018, 34(2):25 [2021-01-25]. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2408-9>.
- [62] DONG X, ZHAO Y, LI T, et al. Enhancement of lipid production and nutrient removal of *Monoraphidium* sp. FXY-10 by combined melatonin and molasses wastewater treatment [J]. *J Taiwan Inst Chem Eng*, 2019, 99:123–131.
- [63] QIAO T, ZHAO Y, HAN B, et al. Myo-inositol promotes lipid production and nutrients removal by microalga under molasses wastewater [J]. *Renew Energ*, 2021, 172:327–335.