

## 棉籽多肽的制备工艺优化及功能特性

罗鑫<sup>1</sup>, 高盼<sup>1,2,3</sup>, 王澍<sup>3,4</sup>, 宁程茜<sup>1</sup>, 钟武<sup>1,2,3</sup>, 胡传荣<sup>1,2</sup>, 何东平<sup>1,2,3</sup>

(1. 武汉轻工大学食品科学与工程学院, 武汉 430023; 2. 大宗粮油精深加工教育部重点实验室, 武汉 430023; 3. 国家市场监督管理总局重点实验室(食用油质量与安全), 武汉 430012; 4. 武汉食品化妆品检验所, 武汉 430012)

**摘要:**为有效利用棉籽这一优质蛋白质资源,以棉籽蛋白水解度(DH)和水解液感官(色泽,气、滋味)为评价指标,对蛋白酶进行选择,再以棉籽蛋白DH为指标,利用单因素实验及响应面实验对复合蛋白酶水解棉籽蛋白制备棉籽多肽的工艺条件进行优化,并研究了棉籽多肽的氨基酸组成及功能特性。结果表明:选择碱性蛋白酶和风味蛋白酶按质量比2:1构成复合蛋白酶;最优工艺条件为水解pH 10、水解温度60℃、加酶量6 000 U/g、水解时间90 min,在此条件下棉籽蛋白DH为29.35%;棉籽多肽中有7种必需氨基酸,必需氨基酸总含量达到12.50 mg/100 mg,占氨基酸总量的26.25%;与棉籽蛋白相比,棉籽多肽的吸湿性有较大提升;在20℃时棉籽多肽的吸油性较好;在弱碱性时棉籽多肽的乳化性与乳化稳定性较好;棉籽蛋白DH与棉籽多肽的起泡性呈正相关,与泡沫稳定性呈负相关。采用该工艺制备的棉籽多肽氨基酸含量丰富,具有良好的功能特性。

**关键词:**棉籽蛋白;水解;多肽;功能特性

中图分类号:TS201.1;O629.73 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)05-0030-07

## Preparation process optimization and functional characteristics of cottonseed polypeptide

LUO Xin<sup>1</sup>, GAO Pan<sup>1,2,3</sup>, WANG Shu<sup>3,4</sup>, NING Chengxi<sup>1</sup>, ZHONG Wu<sup>1,2,3</sup>, HU Chuanrong<sup>1,2</sup>, HE Dongping<sup>1,2,3</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China; 2. Key Laboratory for Deep Processing of Major Grain and Oil (Wuhan Polytechnic University) of Ministry of Education in China, Wuhan 430023, China; 3. Key Laboratory of Edible Oil Quality and Safety for State Market Regulation, Wuhan 430012, China; 4. Wuhan Institute for Food and Cosmetic Control, Wuhan 430012, China)

**Abstract:** In order to effectively utilize cottonseed as a high-quality protein resource, the hydrolysis degree of cottonseed protein and hydrolysate sensory (color, aroma and taste) was used as indexes, and the protease was selected. With the hydrolysis degree of cottonseed protein as the evaluation index, the processing conditions of preparation of cottonseed polypeptide from cottonseed protein hydrolyzed by composite protease were optimized by single factor experiment and response surface experiment, and the amino acid composition and functional characteristics of cottonseed polypeptide were studied. The results showed that a composite protease was formed by selecting alkaline protease and flavour protease in the mass ratio of 2:1. The optimal process conditions were obtained as follows: hydrolysis pH 10, hydrolysis temperature 60℃, enzyme dosage 6 000 U/g, and hydrolysis time 90 min. Under these conditions, the hydrolysis degree of cottonseed protein was 29.35%. The cottonseed polypeptide contained seven essential amino acids, and the total content of essential amino acids was 12.5 mg/100 mg, accounting for 26.25% of the total amino acids. Compared with cottonseed protein, the hygroscopicity of

cottonseed polypeptide was greatly improved. The cottonseed polypeptide had good oil absorption at 20℃. At weak alkalinity, cottonseed polypeptide had good emulsification

收稿日期:2022-03-21;修回日期:2023-01-17

作者简介:罗鑫(1996),男,硕士研究生,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白(E-mail)1154832881@qq.com。

通信作者:高盼,讲师,博士(E-mail)gaopan925@163.com。

ability and emulsification stability, and the hydrolysis degree of cottonseed protein was positively correlated with foaming ability of cottonseed polypeptide and negatively correlated with foam stability. The cottonseed polypeptide prepared by this process is rich in amino acid and has good functional characteristics.

**Key words:** cottonseed protein; hydrolysis; polypeptide; functional characteristics

棉籽是棉花的种子,是最主要的油料之一。2021年,全球棉籽产量约4 380万t。棉籽粕是棉籽油提取过程中产生的副产品,其含有22%~56%的粗蛋白质,是优质的植物蛋白资源。全球棉籽蛋白产量约1 000万t,可满足超过50亿人的蛋白质需求,是可持续的蛋白质来源<sup>[1]</sup>。但目前棉籽蛋白利用率不高,造成了棉籽资源的浪费。

生物活性肽是蛋白质通过酶、酸、微生物发酵或胃肠消化处理释放出来的,发挥抗氧化<sup>[2]</sup>、抗高血压<sup>[3]</sup>、抗菌<sup>[4]</sup>、免疫调节和抗血栓形成<sup>[5]</sup>等生物活性作用的物质,是健康营养的保健品<sup>[6]</sup>。目前生物活性肽的生产多采用水酶法,其反应条件温和、安全性高,可以使蛋白质的功能特性得到大幅度的提高。在水酶法分解蛋白质的过程中,使用不同蛋白酶会释放不同的氨基酸序列的肽<sup>[7]</sup>,其本质就是使用蛋白酶将大分子蛋白质中的肽键切断,得到小分子的肽和氨基酸从而改变其功能特性<sup>[8]</sup>,不同蛋白酶之间具有协同性,而复合蛋白酶聚集了多种酶的活性。

目前生物活性肽主要从牛奶蛋白<sup>[9]</sup>、鸡蛋蛋白<sup>[10]</sup>、鱼蛋白<sup>[5]</sup>、小麦蛋白<sup>[11]</sup>和大豆蛋白<sup>[12]</sup>中获得,缺少从棉籽蛋白中提取生物活性肽的研究<sup>[13]</sup>。棉籽多肽的氨基酸谱及其吸湿性、吸油性、起泡性、泡沫稳定性、乳化性和乳化稳定性等功能特性是食品应用中的重要参数<sup>[1]</sup>。因此,本研究以棉籽蛋白为原料,采用复合酶法水解制备棉籽多肽,通过单因素实验对多种影响因素进行探究,通过响应面实验确定棉籽蛋白水解制备棉籽多肽的最优工艺条件,并对棉籽多肽的氨基酸组成和不同水解度(DH)棉籽多肽的功能特性进行分析,以期棉籽多肽在医药、食品等行业的应用提供理论依据及技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

棉籽蛋白,实验室自制;碱性蛋白酶( $2 \times 10^5$  U/g)、中性蛋白酶( $2 \times 10^5$  U/g),南宁庞博生物工程有限公司;木瓜蛋白酶( $1 \times 10^5$  U/g)、风味蛋白酶( $1 \times$

$10^5$  U/g),Biosharp公司;其他试剂均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

DF-101 S 集热式恒温加热磁力搅拌器,巩义市英峪予华仪器厂;K9840 自动凯氏定氮仪,济南海能仪器有限公司;FD-8 型冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;TD5A-WS 离心机,湖南省凯达科学仪器有限公司;pHS-3 C 型 pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司;pH-Stat 装置,上海亚荣生化仪器厂;XHF-DH-SPEED 均质器;600 高效液相色谱仪(配2487 紫外检测器和M 32 工作站),Waters 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 棉籽多肽的制备

将棉籽蛋白溶解在蒸馏水中得到50 g/L的蛋白溶液,并使用2 mol/L 氢氧化钠溶液调节溶液的pH,加入一定量的复合蛋白酶,在一定温度下水解一定时间,然后煮沸10 min 以使蛋白酶失活,再以5 000 r/min 离心20 min 后收集上清液,即为棉籽多肽液,冷冻干燥后得到棉籽多肽,在-20℃ 储存备用。

#### 1.2.2 感官评价

以色泽、气味、滋味为评价指标,挑选10位长期从事感官评价工作的人员组成感官分析品评小组对棉籽蛋白水解液进行感官评价。

#### 1.2.3 DH 的测定

参考Josemarg 等<sup>[14]</sup>的方法,采用pH-Stat 法测定DH。在棉籽水解过程中不断添加0.5 mol/L NaOH 溶液,第1 个小时每10 min 记录1 次消耗碱液的量,然后每30 min 记录1 次,水解完成后立即灭酶处理,按下式计算DH。

$$D_H = (BN_b) / (\alpha M_p h_{tot}) \times 100\% \quad (1)$$

式中: $D_H$  为水解度; $B$  为水解过程中NaOH 消耗量,mL; $N_b$  为水解所用NaOH 浓度,mol/L; $M_p$  为被水解的棉籽蛋白质量,g; $h_{tot}$  为单位质量原料蛋白中肽键的总数,取 $h_{tot}$  为7.21,mmol/g; $\alpha$  为棉籽蛋白氨基的平均解离度,采用下式计算。

$$\alpha = 10^{a-b} / (1 + 10^{a-b}) \quad (2)$$

式中: $a$ 为酶解过程中反应液的pH; $b$ 为 $\alpha - \text{NH}_3^+$ 的解离常数(通常取数值7)。

#### 1.2.4 棉籽多肽氨基酸组成与含量的测定

参考 GB 5009.124—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》测定棉籽多肽的氨基酸组成与含量。

#### 1.2.5 吸湿性和吸油性的测定

参考 Ajibola 等<sup>[8]</sup>的方法测定吸湿性。将 10.0 g 棉籽多肽样品装入 50 mL 烧杯,在 25 °C 下放置 8 d,样品吸收水增加的质量与初始棉籽多肽质量的比值为样品的吸湿性。

先称取 2.0 g 棉籽多肽样品置于 10 mL 离心管中,再向离心管中加入 5 mL 大豆油,涡旋振荡 5 min,然后分别置于不同温度下水浴 0.5 h,最后以 3 500 r/min 离心 10 min,除去离心管上层未被吸附的油脂,样品吸收油增加的质量与初始棉籽多肽质量的比值为样品的吸油性。

#### 1.2.6 乳化性和乳化稳定性的测定

取 3.0 g 棉籽多肽样品放入烧杯中,配制质量分数为 3% 的样品溶液,再将其 pH 分别调至 3、5、7、9,加入 33 mL 大豆油,在 10 000 r/min 下均质 2 min,然后在 2 000 r/min 下离心 4 min,离心管中乳化层高度与离心管中液体总高度的比值为样品的乳化性。

将测完乳化性的样品在 80 °C 条件下水浴 0.5 h,冷却后在 2 000 r/min 下离心 5 min,0.5 h 水浴后乳化层高度与初始时乳化层高度的比值为样品的乳化稳定性。

#### 1.2.7 起泡性和泡沫稳定性的测定

参考 Timilsena 等<sup>[15]</sup>的方法测定起泡性和泡沫稳定性。将 0.5 g 棉籽多肽样品分散在 50 mL 蒸馏水中,调节 pH 为 7。在 20 000 r/min 下均质 2 min 形成泡沫,样品起泡后在离心管的总高度与样品在离心管中的原始高度的比值为样品的起泡性。

将测定完泡沫体积的离心管在室温条件下静置 30 min,剩余的泡沫体积与原始泡沫体积的比值为泡沫稳定性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 蛋白酶的选择

选取碱性蛋白酶、中性蛋白酶、风味蛋白酶和木瓜蛋白酶 4 种酶制剂,在 4 种酶的最适温度与 pH (碱性蛋白酶 50 °C、pH 8.5,中性蛋白酶 45 °C、pH 7.0,风味蛋白酶 50 °C、pH 7.0,木瓜蛋白酶 50 °C、pH 7.0)、水解时间 90 min、加酶量 4 000 U/g、底物质量分数 3% 条件下对棉籽蛋白进行水解,测定水

解液的 DH,并进行感官评价,结果见表 1。

表 1 蛋白酶种类对水解度及感官评价的影响

蛋白酶	DH/%	感官评价
碱性蛋白酶	15.5	溶液澄清,呈褐色,无异味
中性蛋白酶	9.3	溶液澄清,呈浅黄色,轻微苦味
风味蛋白酶	2.4	溶液澄清,无色,具有香味
木瓜蛋白酶	5.7	溶液澄清,无色,无异味

由表 1 可知,4 种蛋白酶水解棉籽蛋白的 DH 有较大差别,其中碱性蛋白酶的 DH 最高,为 15.5%。原因可能是碱性蛋白酶主要含有内肽酶,可切割多肽链内的肽键,释放中小型肽,并且碱性蛋白酶处理可以提高棉籽蛋白水解液的抗氧化活性<sup>[14]</sup>。风味蛋白酶是内肽酶和外肽酶的混合物,可产生小分子肽和游离氨基酸,其是 4 种蛋白酶中唯一使水解液具有香味的蛋白酶。为了既提高 DH 又保留香味,选用碱性蛋白酶为主酶与风味蛋白酶按质量比 2:1 构成复合蛋白酶,用于制备棉籽多肽。

### 2.2 复合蛋白酶水解棉籽蛋白的单因素实验

#### 2.2.1 水解 pH 对棉籽蛋白 DH 的影响

在水解温度 60 °C、加酶量 6 000 U/g、水解时间 120 min 的条件下,选择 pH 为 8、9、10、11 进行实验,考察水解 pH 对棉籽蛋白 DH 的影响,结果如图 1 所示。

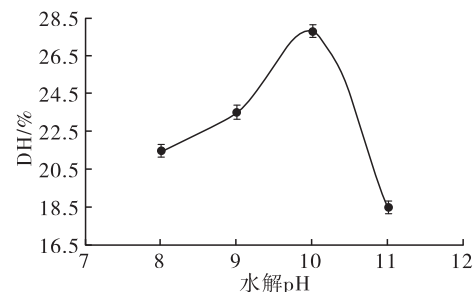


图 1 水解 pH 对棉籽蛋白 DH 的影响

由图 1 可知,随着水解 pH 的增大,棉籽蛋白的 DH 先从 21.48% 上升到 27.75%,随后又下降到 18.51%,在 pH 为 10 时棉籽蛋白 DH 最大,这一结果与 Ma 等<sup>[16]</sup>的实验结果相符。pH 过大或过小时 DH 较低,可能是由于蛋白质和水之间的相互作用减少,而增强了蛋白质与蛋白质的相互作用,导致蛋白质聚集和沉淀,从而影响 DH<sup>[17]</sup>。因此,最佳水解 pH 为 10。

#### 2.2.2 水解温度对棉籽蛋白 DH 的影响

在水解 pH 9、加酶量 6 000 U/g、水解时间 120 min 的条件下,选择水解温度为 45、50、55、60、65 °C 进行实验,考察水解温度对棉籽蛋白 DH 的影响,结果如图 2 所示。

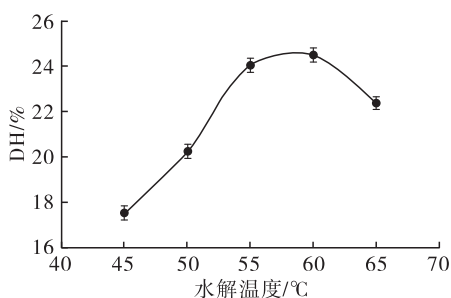


图2 水解温度对棉籽蛋白 DH 的影响

由图2可知,水解温度从45℃升高到55℃,棉籽蛋白DH从17.51%上升到24.05%,水解温度在55~65℃时,DH先上升到24.49%再下降到22.36%,这是因为反应温度55~60℃接近酶的最适温度,升高温度使酶的活性变高,水解反应速度加快,DH增大,继续升高温度破坏了酶的结构,使酶的活性降低,水解反应速率下降,DH降低。因此,最佳水解温度为60℃。

### 2.2.3 加酶量对棉籽蛋白 DH 的影响

在水解pH 9、水解温度60℃、水解时间120 min的条件下,选择加酶量为2 000、4 000、6 000、8 000 U/g进行实验,考察加酶量对棉籽蛋白DH的影响,结果如图3所示。

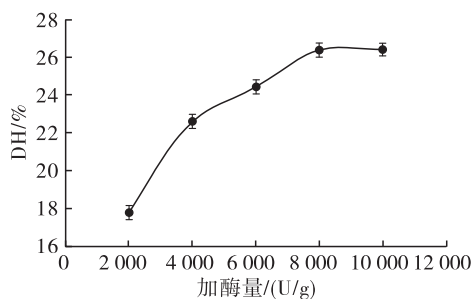


图3 加酶量对棉籽蛋白 DH 的影响

由图3可以看出,在加酶量为2 000~6 000 U/g时,棉籽蛋白DH为17.81%~24.45%,酶促反应速度和加酶量呈线性关系,说明这一阶段影响酶促反应速度的主要因素是加酶量。加酶量超过6 000 U/g后,DH曲线趋于平缓,这可能是加酶量较大,而底物浓度不够,影响了反应速度。因此,考虑到经济成本等因素,最佳加酶量为6 000 U/g。

### 2.2.4 水解时间对棉籽蛋白 DH 的影响

在水解pH 9、水解温度60℃、加酶量6 000 U/g的条件下,选择水解时间为10、30、50、70、90、110、130 min进行实验,考察水解时间对棉籽蛋白DH的影响,结果如图4所示。

由图4可以看出,在水解时间为10~90 min时,随着水解时间的延长,DH从13.80%上升到

28.49%,说明水解反应快速进行。在水解时间为90~130 min时,DH从28.49%上升到29.12%,DH曲线趋于平缓,表明随着水解时间的延长,蛋白质水解达到相对平衡。因此,考虑到经济效益,最佳水解时间为90 min。

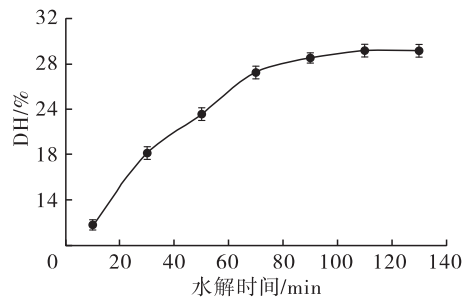


图4 水解时间对棉籽蛋白 DH 的影响

### 2.3 复合蛋白酶水解棉籽蛋白的响应面实验

在单因素实验的基础上,固定水解时间90 min,利用Design-Expert 10.0.4软件,以水解pH(A)、水解温度(B)和加酶量(C)为因素,以棉籽蛋白的DH(Y)为指标进行Box-Behnken响应面实验优化,响应面实验因素及水平见表2,响应面实验设计及结果见表3。

表2 响应面实验因素及水平

水平	水解 pH	水解温度/°C	加酶量/(U/g)
-1	9	55	4 000
0	10	60	6 000
1	11	65	8 000

表3 响应面实验设计及结果

实验号	A	B	C	Y/%
1	-1	-1	0	23.03
2	1	-1	0	22.45
3	-1	1	0	23.90
4	1	1	0	24.61
5	-1	0	-1	20.60
6	1	0	-1	22.17
7	-1	0	1	23.89
8	1	0	1	22.88
9	0	-1	-1	24.87
10	0	1	-1	23.94
11	0	-1	1	24.55
12	0	1	1	27.10
13	0	0	0	29.31
14	0	0	0	29.29
15	0	0	0	28.98
16	0	0	0	29.25
17	0	0	0	28.96

通过分析复合蛋白酶水解棉籽蛋白的响应面实验结果,对表2数据建立响应面二次回归模型如下:

$$Y = 29.158 + 0.086A + 0.581B + 0.855C + 0.322AB - 0.645AC + 0.870BC - 4.195A^2 - 1.465B^2 - 2.578C^2。$$

进一步对该回归模型进行方差分析,结果见表4。

表4 方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F	p
模型	135.25	9	15.03	187.95	<0.000 1**
A	0.06	1	0.06	0.74	0.416 9
B	2.70	1	2.70	33.80	0.000 7**
C	5.85	1	5.85	73.14	<0.000 1**
AB	0.42	1	0.42	5.20	0.056 6
AC	1.66	1	1.66	20.81	0.002 6**
BC	3.03	1	3.03	37.86	0.000 5**
A <sup>2</sup>	74.11	1	74.11	926.81	<0.000 1**
B <sup>2</sup>	9.04	1	9.04	113.06	<0.000 1**
C <sup>2</sup>	27.98	1	27.98	349.91	<0.000 1**
残差	0.56	7	0.08		
失拟项	0.44	3	0.15	4.89	0.079 6
纯误差	0.12	4	0.03		
总和	135.81	16			

注:\*\*为极显著( $p < 0.01$ )

由表4可知,模型极显著( $p < 0.000 1$ ),失拟项不显著,表示构建的回归模型拟合度较好,模型可靠。模型相关系数( $R^2$ )为99.59%,调整系数( $R^2_{adj}$ )为99.06%,说明该模型相关度好,实验误差小,信噪比为38.544,大于4,说明该模型适合预测棉籽蛋白DH。3个因素对棉籽蛋白DH的影响大小顺序为加酶量>水解温度>水解pH。

应用响应面寻优分析方法对回归模型进行分析,得到最优工艺条件为水解pH 10、水解温度61.31℃、加酶量6 419.90 U/g,在此条件下理论DH为29.32%。考虑到实验的可行性和易操作性,将最优工艺条件修正为pH 10、水解温度60℃、加酶量6 000 U/g、水解时间90 min,在该优化条件下重复3次验证实验,测得棉籽蛋白的DH为29.35%,与预测值基本一致,表明该模型有效,基于该响应面法所得到的优化工艺条件准确可靠,具有实际意义。

#### 2.4 棉籽多肽的氨基酸组成及含量

在最优工艺条件下经复合蛋白酶水解得到棉籽多肽,其氨基酸组成及含量见表5。

由表5可知,复合蛋白酶水解得到的棉籽多肽氨基酸含量丰富,总氨基酸含量达47.61 mg/100 mg,包含人体7种必需氨基酸,总含量为12.50 mg/100 mg,占氨基酸总量的26.25%,并且棉籽多肽富含酸性氨基酸(谷氨酸12.19 mg/100 mg、天冬氨酸5.56

mg/100 mg)、碱性氨基酸(赖氨酸1.57 mg/100 mg、组氨酸1.14 mg/100 mg、精氨酸5.38 mg/100 mg)以及芳香族氨基酸(酪氨酸1.35 mg/100 mg、苯丙氨酸2.59 mg/100 mg),这可能有助于提高其抗氧化能力<sup>[18]</sup>。食物中蛋白质营养价值的高低主要取决于所含必需氨基酸的种类、含量及其比例是否与人体所需要的相近,棉籽多肽的氨基酸组成及含量较为理想,可作为人类营养的可持续替代蛋白质来源。

表5 棉籽多肽的氨基酸组成及含量 mg/100 mg

氨基酸	含量	氨基酸	含量
天冬氨酸(Asp)	5.56	苏氨酸(Thr)*	1.76
丝氨酸(Ser)	2.58	谷氨酸(Glu)	12.19
甘氨酸(Gly)	2.04	丙氨酸(Ala)	2.19
胱氨酸(Cys)	0.84	缬氨酸(Val)*	2.01
蛋氨酸(Met)*	0.71	异亮氨酸(Ile)*	1.23
亮氨酸(leu)*	2.63	酪氨酸(Tyr)	1.35
苯丙氨酸(Phe)*	2.59	赖氨酸(Lys)*	1.57
组氨酸(His)	1.14	精氨酸(Arg)	5.38
脯氨酸(Pro)	1.84	总和	47.61

注:\*表示必需氨基酸

#### 2.5 棉籽多肽的功能特性

在最佳工艺条件下对棉籽蛋白进行水解,控制棉籽蛋白的水解时间分别得到DH为0%(棉籽蛋白)、9%、18%、27%的棉籽多肽,对不同DH棉籽多肽的功能特性进行测定。

##### 2.5.1 吸湿性和吸油性

放置时间对不同DH棉籽多肽吸湿性的影响如图5所示。

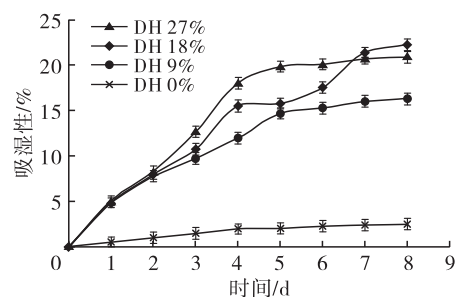


图5 放置时间对不同DH棉籽多肽吸湿性的影响

由图5可知,随着放置时间的延长,在0~5 d时棉籽多肽的吸湿性呈较快的上升趋势,在6~8 d时吸湿性曲线逐步趋于平稳达到饱和状态,8 d时,DH 27%的棉籽多肽的吸湿性上升到20.94%,DH 18%的上升到22.28%,DH 9%的上升到16.33%,而棉籽蛋白(DH 0%)的吸湿性上升到2.52%,棉籽蛋白与棉籽多肽的吸湿性差别较大。棉籽多肽良好的吸湿性可使其广泛应用到各类食品加工中,解决



烘焙食品干燥失水等问题,从而改善食品的口感和风味。

温度对不同 DH 棉籽多肽吸油性的影响如图 6 所示。

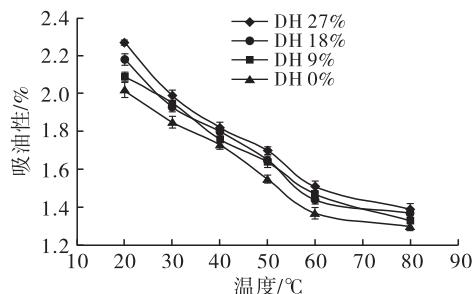


图 6 温度对不同 DH 棉籽多肽吸油性的影响

由图 6 可知,当温度从 20℃ 升高到 80℃, DH 27% 的棉籽多肽的吸油性从 2.27% 下降到 1.39%, DH 18% 的从 2.18% 下降到 1.37%, DH 9% 的从 2.09% 下降到 1.33%, DH 0% 的从 2.02% 下降到 1.30%。不同 DH 棉籽多肽的吸油性均随温度的升高呈线性下降趋势,原因可能是温度的升高改变了油脂的黏度,从而影响了油脂与蛋白的结合能力。随着 DH 的升高,吸油性增强,这可能是因为水解作用改变了蛋白质的分子构象,使蛋白质表面的疏水性基团充分暴露,从而提高了吸油性。将棉籽多肽加入到肉制品中,能形成乳状液和凝胶基质,防止脂肪向表面移动,因而起着促进脂肪吸收或脂肪结合的作用。利用棉籽多肽具有吸油性这一特性,还可使曲奇具有柔软、膨松的口感,并且能够有效降低脂肪、热量。

### 2.5.2 乳化性及乳化稳定性

乳化性是指油和水形成乳化液的能力,乳化稳定性是指乳化液保持明显稳定状态并且不发生两相分层不稳定现象的特性。pH 对不同 DH 棉籽多肽乳化性和乳化稳定性的影响分别如图 7 和图 8 所示。

由图 7 和图 8 可知,棉籽多肽的乳化性为 10.09% ~ 55.55%, 乳化稳定性为 10.02% ~ 55.27%。在 pH 为 5 时乳化性和乳化稳定性均达到最小值,其原因可能是 pH 为 5 时接近棉籽蛋白的等电点,在等电点附近的乳化性及乳化稳定性最差。在 pH 9 时乳化性 (39.37% ~ 55.55%) 和乳化稳定性 (35.23% ~ 55.27%) 最高,这可能是弱碱性的环境中电解质中的阴离子和蛋白质结合,使蛋白质所带负电荷增加,蛋白质结合水分子的能力增强,从而溶解度增大,使乳化性及乳化稳定性提高,这与单因素实验中弱碱环境棉籽蛋白 DH 增大相符

合。由于棉籽多肽具有较高的乳化性和乳化稳定性,因此棉籽多肽多用于制造烘焙产品、香肠、甜食和其他乳化产品<sup>[17]</sup>。

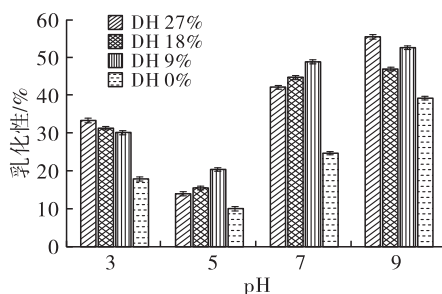


图 7 pH 对不同 DH 棉籽多肽乳化性的影响

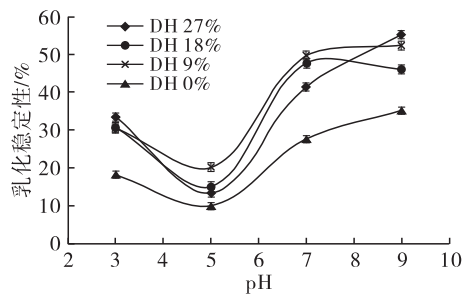


图 8 pH 对不同 DH 棉籽多肽乳化稳定性的影响

### 2.5.3 起泡性及泡沫稳定性

起泡性和泡沫稳定性是食品系统中搅打和充气的首选功能特性。不同 DH 棉籽多肽起泡性和泡沫稳定性如图 9 所示。

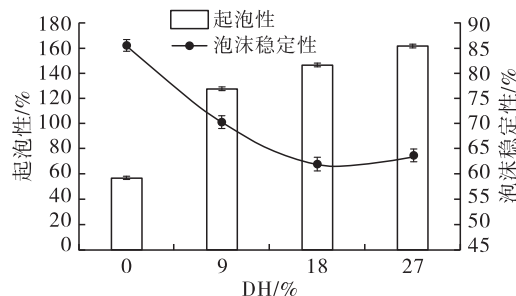


图 9 不同 DH 棉籽多肽起泡性和泡沫稳定性

由图 9 可知:棉籽多肽的起泡性与 DH 呈正相关,随着 DH 的上升,棉籽多肽的起泡性从 56.66% 上升到 161.07%;泡沫稳定性与之相反,其随 DH 的上升从 85.42% 下降到 63.13%。这可能是因为棉籽蛋白的分子较大,其分子间作用力强,故泡沫稳定性较高,但不利于产生泡沫,而随着 DH 的加大,分子间作用力减小,泡沫稳定性降低,有利于起泡。

## 3 结论

本研究采用碱性蛋白酶和风味蛋白酶按质量比 2:1 构成复合蛋白酶,对棉籽蛋白进行水解,通过单因素实验以及响应面实验对复合蛋白酶水解棉籽蛋白的工艺条件进行优化,得到最优工艺条件为水解 pH 10、水解温度 60℃、加酶量 6 000 U/g、水解时间

90 min,在此条件下棉籽蛋白的水解度为 29.35%。采用复合蛋白酶制备的棉籽多肽必需氨基酸含量丰富,为 12.50 mg/100 mg,占氨基酸总量的 26.25%,且棉籽多肽中富含酸性氨基酸、碱性氨基酸以及芳香族氨基酸,这可能有助于提高其抗氧化能力。棉籽多肽具有良好的功能特性,这对棉籽多肽的多元开发利用具有重要的意义。

#### 参考文献:

- [1] KUMAR M, TOMAR M, PUNIA S, et al. Cottonseed: a sustainable contributor to global protein requirements[J]. Trends Food Sci Tech, 2021(12): 100–113.
- [2] AJIBOLA C F, FASHAKIN J B, FAGBEMI T N, et al. Effect of peptide size on antioxidant properties of African yam bean seed (*Sphenostylis stenocarpa*) protein hydrolysate fractions[J]. Int J Mol Sci, 2011, 12(10): 6685–6702.
- [3] ISSOUFOU A, GUO W, AMZA T, et al. Purification and characterization of foxtail millet – derived peptides with antioxidant and antimicrobial activities[J]. Food Res Int, 2013, 51(1):422–428.
- [4] JING A, BO L. Amino acid composition and antioxidant activities of hydrolysates and peptide fractions from porcine collagen[J]. Food Sci Technol Int, 2012, 18(5): 425–434.
- [5] SILA A, BOUGATEF A. Antioxidant peptides from marine by-products: isolation, identification and application in food systems. A review[J]. J Funct Foods, 2016, 21:10–26.
- [6] SONG W G, KONG X Z, HUA Y F, et al. Antioxidant and antibacterial activity and in vitro digestion stability of cottonseed protein hydrolysates[J/OL]. LWT – Food Sci Technol, 2021, 118:108724 [2022–03–21]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108724>.
- [7] THAMNARATHIP P, JANGCHUD K, NITISINPRASERT S, et al. Identification of peptide molecular weight from rice bran protein hydrolysate with high antioxidant activity [J]. J Cereal Sci, 2016, 69:329–335.
- [8] AJIBOLA C F, MALOMO S A, FAGBEMI T N, et al. Polypeptide composition and functional properties of African yam bean seed (*Sphenostylis stenocarpa*) albumin, globulin and protein concentrate [J]. Food Hydrocolloid, 2016, 56:189–200.
- [9] NONGGONIERMA A B, FITZGERALD R J. Strategies for the discovery, identification and validation of milk protein – derived bioactive peptides [J]. Trends Food Sci Tech, 2016,50:26–43.
- [10] YU Z P, YIN Y G, ZHAO W Z, et al, Application and bioactive properties of proteins and peptides derived from hen eggs: opportunities and challenges[J]. J Sci Food Agric, 2014, 94: 2839–2845.
- [11] EGOROV T A, ODINTSOVA T I, PUKHALSKV V A, et al. Diversity of wheat anti – microbial peptides [J]. Peptides, 2005, 26(11):2064–2073.
- [12] LI – CHAN E C Y. Bioactive peptides and protein hydrolysates: research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients[J]. Curr Opin Food Sci, 2015, 1:28–37.
- [13] SONG W, KONG X, HUA Y, et al. Identification of antibacterial peptides generated from enzymatic hydrolysis of cottonseed proteins[J/OL]. LWT – Food Sci Technol, 2020, 125:109199 [2022–03–21]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109199>.
- [14] JOSEMARG D O F, JULIANA M R, ANNA C F A, et al. Bioactive properties of protein hydrolysate of cottonseed byproduct: antioxidant, antimicrobial, and angiotensin – converting enzyme (ACE) inhibitory activities [J/OL]. FASEB J, 2020, 34(1):1 [2022–03–21]. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01066-6>.
- [15] TIMILSENA Y P, ADHIKARI R, BARROW C J, et al. Physicochemical and functional properties of protein isolate produced from Australian chia seeds [J]. Food Chem, 2016, 212:648–656.
- [16] MA M, REN Y, XIE W, et al. Physicochemical and functional properties of protein isolate obtained from cottonseed meal[J]. Food Chem, 2018, 240:856–862.
- [17] IVANOVA P, CHALOVA V, KOLEVA L, et al. Optimization of protein extraction from sunflower meal produced in Bulgaria [J]. Int Food Res J, 2013, 20(6):2995–3000.
- [18] WANG L Y, MA M, YU Z P, et al. Preparation and identification of antioxidant peptides from cottonseed proteins[J/OL]. Food Chem, 2021, 352(7):129399 [2022–03–21]. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.129399>.