

热处理和高速剪切对豌豆蛋白水解效率及其水解物性质的影响

夏易玄¹, 朱玲¹, 刘通通², 吴港城¹, 齐希光¹, 王立¹, 钱海峰¹, 张晖¹

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡214122; 2. 滨州中裕食品有限公司 农业农村部小麦加工重点实验室, 国家小麦加工产业技术创新中心, 渤海先进技术研究院, 山东滨州256600)

摘要:为提高豌豆蛋白的酶水解敏感性及其水解物的抗氧化活性,分别考察95℃、10 min的热处理和10 000×g、10 min的高速剪切对豌豆蛋白水解性能的影响并探究其改善原因。结果表明,热处理和高速剪切均提高了豌豆蛋白的水解度、氮回收率以及水解物的抗氧化活性($p < 0.05$),高速剪切提高了不溶性聚集体比例,而热处理使其降低,其中热处理优化效果更为明显,水解度和氮回收率分别增加了21.1%和9.6%,不溶性聚集体降低了27.7%。热处理和高速剪切使豌豆蛋白溶解度显著提高,使豌豆蛋白水解物氨基酸含量和小分子肽比例显著增加($p < 0.05$)。采用红外光谱和扫描电子显微镜观察预处理前后豌豆蛋白的二级结构和表观形貌的变化发现,两种预处理方式在不同程度上促使了豌豆蛋白紧密结构的展开,有助于实现豌豆蛋白的高效水解。综上,热处理相对于高速剪切更有利于提高豌豆蛋白的水解效率。

关键词:豌豆蛋白;热处理;高速剪切;水解效率;蛋白水解物

中图分类号:TS229;TQ936.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)03-0033-07

Effect of heat treatment and high-speed shear on the hydrolysis efficiency of pea protein and the properties of its hydrolysates

XIA Yixuan¹, ZHU Ling¹, LIU Tongtong², WU Gangcheng¹, QI Xiguang¹, WANG Li¹, QIAN Haifeng¹, ZHANG Hui¹

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China; 2. Bohai Advanced Technology Research Institute, National Technology Innovation Center for Wheat Processing Industry, Key Laboratory of Wheat Processing of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Binzhou Zhongyu Food Co., Ltd., Binzhou 256600, Shandong, China)

Abstract: To improve the enzymatic hydrolysis sensitivity of pea protein and antioxidant activity of pea protein hydrolysates, the effects of heat treatment at 95℃ for 10 min and high-speed shear at 10 000×g for 10 min on the hydrolysis performance of pea protein were investigated and the reasons for their improvement were investigated. The results showed that both heat treatment and high-speed shear improved the hydrolysis degree, nitrogen recovery, and antioxidant activity of pea protein after enzymolysis ($p < 0.05$). High-speed shear improved the proportion of insoluble aggregates, while heat treatment did the opposite. The improvement effect of heat treatment was more obvious, the hydrolysis degree increased by 21.1%, the nitrogen recovery increased by 9.6%, and the proportion of insoluble aggregates decreased by 27.7%. The heat treatment and high-speed shear increased significantly solubility of pea protein and increased obviously the amino acid content and the proportion of small-

收稿日期:2022-01-17;修回日期:2022-11-21

作者简介:夏易玄(1997),女,硕士研究生,研究方向为谷物营养与健康食品(E-mail)981583153@qq.com。

通信作者:张晖,教授(E-mail)zhanghui@jiangnan.edu.cn。

molecule peptides in the pea protein hydrolysate ($p < 0.05$). The changes in secondary structure and apparent morphology of pea protein before and after hydrolysis found by infrared spectroscopy and

scanning electron microscopy suggested that the two pretreatments contributed to the unfolding of the compact structure of pea protein to different degrees and helped to achieve efficient hydrolysis of pea protein. In conclusion, heat treatment is more favourable than high-speed shear to improve the hydrolysis efficiency of pea protein.

Key words: pea protein; heat treatment; high-speed shear; hydrolysis efficiency; protein hydrolysates

豌豆(*Pisum sativum* L.)蛋白因其来源丰富、成本低廉、营养组成均衡而备受消费者喜爱^[1]。酶水解简单、安全、环保,目前已被广泛用于将豌豆蛋白转化为更具商业价值和功能性的豌豆蛋白水解物。近年来,研究人员陆续从豌豆蛋白水解物中分离出具备显著抗氧化、增强免疫力和降血糖等功能活性的水解物^[2]。然而,豌豆蛋白的酶水解仍存在得率不高,水解过程中易产生沉淀,水解物活性不高等问题^[3-5],限制了豌豆蛋白的应用。此外,单独的酶水解不一定能改善蛋白的功能特性^[6]。因此,选择合适的预处理方式对于提高酶水解效率和改善水解物的功能特性至关重要。Elmalimadi等^[7]将小麦面筋在75℃下进行30 min的热处理后用碱性蛋白酶水解,发现水解度以及水解物的抗氧化活性提高。Kong等^[8]在碱性条件下对核桃蛋白高速剪切后进行酶水解,大幅提高了核桃蛋白的溶解度和水解效率。目前,对于热处理和高速剪切优化豌豆蛋白水解效果的系统比较鲜有报道。

本文采用热处理和高速剪切对豌豆蛋白进行预处理,再进行酶水解制备水解物,研究了热处理和高速剪切对豌豆蛋白酶水解进程和效率的影响,并表征水解物的分子质量分布、氨基酸组成、体外抗氧化活性、溶解度,同时通过测定预处理前后豌豆蛋白表观形貌的变化,进一步了解热处理和高速剪切对豌豆蛋白水解性能改善的原因,以期对豌豆蛋白作为功能性食品成分的开发和高效利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

豌豆蛋白(凯氏定氮法测定蛋白质含量为91.2%),江苏荣海公司提供;Alcalase碱性蛋白酶(2.4 AU/g)、Protamax复合蛋白酶(1.2 AU/g),Novozymes公司;邻苯二甲醛(OPA),Sigma公司;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

Nicolet IS10傅里叶红外光谱仪,美国Nicolet公司;Agilent 1260自动氨基酸分析仪,美国安捷伦公司;高效液相色谱仪,美国Milford Waters公司;

SpectraMax酶标仪,美国Molecular Devices公司;SA402B电子舌,日本Insent公司;扫描电子显微镜,日本日立株式会社。

1.2 实验方法

1.2.1 豌豆蛋白的预处理

热处理参考Ashraf等^[9]的方法,将豌豆蛋白溶液(质量浓度为5 g/100 mL,pH 7.0)在95℃水浴中加热10 min进行预处理;高速剪切处理参考Kong等^[8]的方法,在10 000×g下高速剪切10 min进行预处理。

1.2.2 豌豆蛋白水解物的制备

用3%(以底物质量计)的Alcalase碱性蛋白酶和1%(以底物质量计)的Protamax复合蛋白酶分别在pH 8.5、55℃和pH 7.0、50℃的最适条件下对豌豆蛋白溶液进行2 h和1 h的顺序酶解,酶解过程中添加0.5 mol/L NaOH或HCl溶液以维持混合物的pH分别为8.5和7.0。酶解完成后,在100℃下灭酶10 min。冷却后,以9 800×g离心15 min,分离出上清液并在-20℃下冷冻干燥,备用。

1.2.3 水解效果的评价

以水解度、氮回收率和不溶性聚集体比例综合评价水解效果。水解度的测定采用OPA法^[10];氮回收率为水解后上清液和水解前底物蛋白中的氮含量之比,其中氮含量由凯氏定氮法测定;不溶性聚集体比例参照Liang等^[11]的方法计算,为水解离心后经蒸馏水水洗3次的烘干沉淀质量与底物蛋白的质量之比。

1.2.4 水解物组成的测定

氨基酸组成及含量测定参照Zhao等^[12]的方法;分子质量分布测定参照Zheng等^[13]的方法。

1.2.5 水解物体外抗氧化能力的测定

用谷胱甘肽作阳性对照,参照Agrawal等^[14]的方法并稍作修改测定水解物体外抗氧化能力。

1.2.5.1 DPPH自由基清除能力的测定

将2 mL样品溶液与2 mL 0.04 mg/mL的DPPH乙醇溶液混合后旋涡振荡30 s,在黑暗条件下孵育30 min后,于517 nm处测定吸光度。

DPPH 自由基清除率(Y_1)按公式(1)进行计算。测定不同质量浓度样品溶液的 DPPH 自由基清除率,绘制质量浓度与清除率的回归拟合曲线,计算 IC_{50} 值(IC_{50} 是清除率在 50% 时对应的样品质量浓度)。

$$Y_1 = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_0 为用去离子水代替样品溶液的吸光度; A_1 为加样品反应液的吸光度; A_2 为不含 DPPH 自由基的样品溶液及溶剂的吸光度。

1.2.5.2 ABTS 自由基清除能力的测定

将 0.2 mL 7 mmol/L ABTS 溶液与 0.2 mL 2.45 mmol/L $K_2S_2O_8$ 溶液混合,在黑暗中放置 12 h 以充分产生 ABTS 自由基,得 ABTS 工作液。将 1 mL 样品溶液与 2 mL ABTS 工作液混合,避光反应 10 min 后,在 734 nm 处测定吸光度。ABTS 自由基清除率(Y_2)按公式(2)进行计算。按 1.2.5.1 计算 IC_{50} 值。

$$Y_2 = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_0 为用去离子水代替样品溶液的吸光度; A_1 为加样品反应液的吸光度; A_2 为不含 ABTS 自由基的样品溶液及溶剂的吸光度。

1.2.5.3 Fe^{2+} 结合能力的测定

将 2 mL 样品溶液与 0.02 mL 2 mol/L $FeCl_2 \cdot 6H_2O$ 溶液和 0.04 mL 5.0 mmol/L 的菲咯嗪溶液混合后旋涡振荡 30 s,室温下孵育 10 min 后,在 562 nm 处测定吸光度。 Fe^{2+} 结合能力(Y_3)按公式(3)进行计算。按 1.2.5.1 计算 IC_{50} 值。

$$Y_3 = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中: A_0 为用去离子水代替样品溶液的吸光度; A_1 为加样品反应液的吸光度。

1.2.6 溶解度的测定

参考 ISO 15323 的方法,将豌豆蛋白样品溶于去离子水中配成 1 g/100 mL 的溶液,在 25℃ 下搅拌 30 min,在 4℃ 下以 4 000 × g 离心 15 min,取上清液。采用凯氏定氮法测定上清液中可溶性氮含量(x_1)和样品中总氮含量(x_0)。用氮溶指数(I_{NS})来反映溶解度,按公式(4)进行计算。

$$I_{NS} = x_1/x_0 \times 100\% \quad (4)$$

1.2.7 二级结构的测定

采用傅里叶红外光谱仪和 Peak Fit 4.12 分析软件测定豌豆蛋白的二级结构。称取 10 mg 样品与 1 g 溴化钾混匀后充分研磨,并压成半透明薄片进

行扫描。扫描条件:扫描波长 800 ~ 4 000 cm^{-1} ,扫描次数 32 次,分辨率 2 cm^{-1} 。

1.2.8 表观形貌的测定

将未经预处理和经过两种不同方式预处理后的豌豆蛋白冻干粉末均匀固定于导电胶上,喷金后用扫描电子显微镜(SEM)于加速电压 3.0 kV 和放大倍数 1 000 倍下观察。

1.2.9 数据处理

本研究中所有实验均至少重复 3 次,数据采用 SPSS 19.0 软件分析,使用 Origin 2017 制图。数据表示为“平均值 ± 标准偏差”,以 $p < 0.05$ 为显著性指标。

2 结果与讨论

2.1 热处理和高速剪切对豌豆蛋白水解进程和效率的影响

水解度通常用作蛋白水解程度的监测参数^[7]。热处理和高速剪切对豌豆蛋白水解进程的影响见图 1。

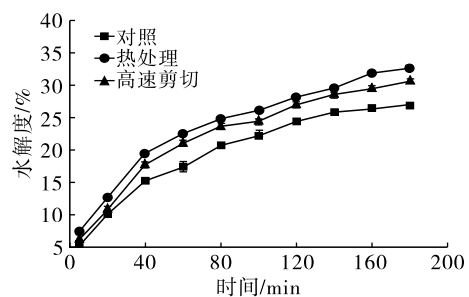
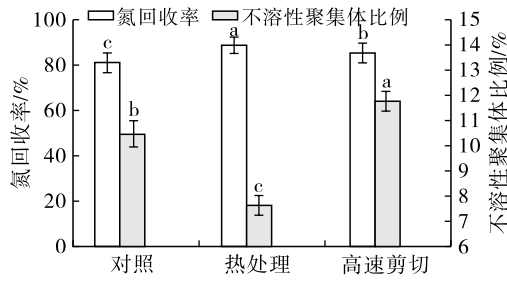


图 1 热处理和高速剪切对豌豆蛋白水解进程的影响

由图 1 可知:在前 40 min 内,随水解时间的延长,对照组(豌豆蛋白未经预处理)和预处理组样品的水解度增幅均较大;当水解进行到 180 min 时,水解反应趋于平衡,这可能归因于底物蛋白中容易被酶水解的肽键消耗殆尽,也可能是因为水解物会抑制酶的活力^[15];热处理和高速剪切预处理豌豆蛋白水解度均有所增加,在 180 min 时水解度分别达到 32.7% 和 30.7%,较对照分别增加 21.1% 和 13.6%。两种预处理方式可能导致氨基酸天然序列之间的相互作用被破坏,豌豆蛋白结构进一步展开,使更多的酶结合位点在更大范围内暴露,更多的肽键被水解,因此水解度增加^[16]。

豌豆蛋白深度水解过程中,已形成的肽段之间产生疏水相互作用并发生聚集,不可避免地产生一些难溶性沉淀而影响蛋白质利用率^[17]。因此,本文考察了水解完成后氮回收率和不溶性聚集体比例的变化,结果如图 2 所示。



注:同一指标不同小写字母表示差异显著($p < 0.05$)。下同

图2 热处理和高速剪切对氮回收率和不溶性聚集体比例的影响

由图2可知,热处理和高速剪切使氮回收率由

80.9%分别增加到88.7%和85.3% ($p < 0.05$),分别增加了9.6%和5.4%。相比于对照组,热处理组不溶性聚集体比例降低了27.7%,高速剪切组不溶性聚集体比例增加了12.7%,说明高速剪切对可溶性水解物的得率有不利影响。这可能是由于高强度的剪切力造成部分蛋白质过度变性,进而引发蛋白质聚集,对酶水解产生抵抗而形成沉淀^[8]。

2.2 热处理和高速剪切对豌豆蛋白水解物分子量分布的影响

表1为豌豆蛋白及其水解物的分子量分布。

表1 豌豆蛋白及其水解物的分子量分布

样品	占比/%						
	> 10 kDa	5 ~ 10 kDa	3 ~ 5 kDa	2 ~ 3 kDa	1 ~ 2 kDa	0.5 ~ 1 kDa	0.18 ~ 0.5 kDa
豌豆蛋白	48.80 ± 0.56 ^a	36.40 ± 0.46 ^a	6.87 ± 0.15 ^a	5.57 ± 0.06 ^a	1.07 ± 0.06 ^c	1.40 ± 0.10 ^b	-
对照	0.70 ± 0.04 ^b	0.30 ± 0.03 ^b	0.80 ± 0.01 ^b	2.00 ± 0.10 ^b	10.17 ± 0.25 ^a	27.30 ± 0.60 ^a	52.93 ± 0.42 ^b
热处理	0.09 ± 0.01 ^c	0.07 ± 0.01 ^b	0.52 ± 0.01 ^c	1.09 ± 0.04 ^c	8.07 ± 0.15 ^b	27.90 ± 0.36 ^a	56.63 ± 0.55 ^a
高速剪切	0.09 ± 0.00 ^c	0.07 ± 0.05 ^b	0.75 ± 0.02 ^b	2.00 ± 0.14 ^b	10.08 ± 0.06 ^a	27.50 ± 0.26 ^a	53.37 ± 0.15 ^b

注:未列出分子量0.18 kDa以下的占比

由表1可知,水解前的豌豆蛋白分子量超过10 kDa的部分占48.80%,水解后的豌豆蛋白分子量主要集中在3 kDa以下。这表明豌豆蛋白在水解过程中大部分被水解为小分子肽段。经过热处理和高速剪切后,超过5 kDa的肽段被更彻底地分解,生成了更多中间范围和低分子质量的水解物。

2.3 热处理和高速剪切对豌豆蛋白水解物氨基酸组成的影响

水解物的氨基酸组成通常与原料蛋白种类、水解度、酶种类、酶解时间等因素有关。经过预处理后获得的豌豆蛋白水解物的氨基酸组成及含量见表2。

表2 热处理和高速剪切对豌豆蛋白水解物

氨基酸	氨基酸组成及含量的影响		
	对照	热处理	高速剪切
Asp	8.36 ± 0.22 ^c	9.70 ± 0.08 ^a	9.18 ± 0.04 ^b
Glu	12.24 ± 0.09 ^c	13.78 ± 0.12 ^a	13.01 ± 0.11 ^b
Ser	2.38 ± 0.06 ^c	3.01 ± 0.05 ^a	2.65 ± 0.13 ^b
His	1.41 ± 0.04 ^c	1.67 ± 0.03 ^a	1.53 ± 0.03 ^b
Gly	2.41 ± 0.05 ^c	2.99 ± 0.07 ^a	2.51 ± 0.09 ^b
Thr ^c	1.89 ± 0.04 ^c	2.09 ± 0.06 ^b	2.20 ± 0.06 ^a
Arg	5.18 ± 0.06 ^c	6.42 ± 0.10 ^a	6.14 ± 0.07 ^b
Ala ^h	2.53 ± 0.06 ^c	3.19 ± 0.07 ^a	2.88 ± 0.09 ^b
Tyr ^h	1.37 ± 0.08 ^c	2.03 ± 0.09 ^a	1.76 ± 0.04 ^b
Cys - s ^h	0.06 ± 0.01 ^c	0.19 ± 0.01 ^a	0.11 ± 0.02 ^b
Val ^{e,h}	3.31 ± 0.03 ^c	4.03 ± 0.12 ^a	3.78 ± 0.07 ^b
Met ^{e,h}	0.48 ± 0.02 ^c	0.63 ± 0.01 ^a	0.59 ± 0.03 ^b
Phe ^{e,h}	3.14 ± 0.15 ^c	4.19 ± 0.14 ^a	3.73 ± 0.05 ^b

续表2

氨基酸	g/100 g		
	对照	热处理	高速剪切
Ile ^{e,h}	3.11 ± 0.06 ^c	3.95 ± 0.12 ^a	3.71 ± 0.13 ^b
Leu ^{e,h}	5.02 ± 0.20 ^c	6.51 ± 0.39 ^a	5.65 ± 0.12 ^b
Lys ^c	4.58 ± 0.21 ^c	5.35 ± 0.04 ^a	5.15 ± 0.07 ^b
Pro ^h	2.71 ± 0.07 ^c	3.94 ± 0.09 ^a	3.14 ± 0.10 ^b
必需氨基酸	21.53 ± 0.39 ^c	26.75 ± 0.42 ^a	24.81 ± 0.37 ^b
疏水性氨基酸	21.73 ± 0.31 ^c	28.66 ± 0.59 ^a	25.35 ± 0.41 ^b
氨基酸总量	60.31 ± 0.58 ^c	73.67 ± 1.22 ^a	67.73 ± 0.38 ^b

注:e表示必需氨基酸,h表示疏水性氨基酸

由表2可知:豌豆蛋白水解物氨基酸含量丰富,可以补充人类膳食需求;经过热处理和高速剪切后获得的水解物中氨基酸含量较对照分别增加了22.2%和12.3%,必需氨基酸含量由21.53 g/100 g分别提高到26.75 g/100 g和24.81 g/100 g。

2.4 热处理和高速剪切对豌豆蛋白水解物体外抗氧化活性的影响

经过预处理后获得的豌豆蛋白水解物的体外抗氧化活性见表3。

表3 热处理和高速剪切对豌豆蛋白水解物体外抗氧化活性的影响

样品	IC ₅₀ /(mg/mL)		
	DPPH 自由基清除能力	ABTS 自由基清除能力	Fe ²⁺ 结合能力
谷胱甘肽	0.18 ± 0.01 ^d	0.07 ± 0.01 ^d	0.04 ± 0.01 ^c
对照	2.96 ± 0.05 ^a	1.05 ± 0.02 ^a	0.90 ± 0.01 ^a
热处理	1.88 ± 0.03 ^c	0.55 ± 0.02 ^c	0.72 ± 0.01 ^b
高速剪切	2.25 ± 0.02 ^b	0.74 ± 0.02 ^b	0.74 ± 0.03 ^b

由表3可知,热处理和高速剪切作用后的水解物中各 IC_{50} 值相比对照显著降低,即对应的自由基清除能力和 Fe^{2+} 结合能力有所增强。水解物的抗氧化活性通常与水解度有关^[18],热处理和高速剪切加深了豌豆蛋白的水解程度,产生更多的肽或小分子蛋白,可作为氢供体与自由基反应转化为更稳定的产物,从而达到清除自由基的效果^[19]。蛋白质水解物的抗氧化活性主要来自于其中的疏水性氨基酸和分子质量在1 kDa以下的短肽^[20],豌豆蛋白水解物抗氧化活性的提高与表1和表2中预处理后疏水性氨基酸和小分子肽比例的增加结果一致。研究发现,低分子质量的肽对于水解物抗氧化活性起重要作用^[21];另外,抗氧化活性的差异还与氨基酸种类和氨基酸之间的相互作用有关^[22],如Montone等^[23]研究发现,在C端具有芳香族、两亲性和极性氨基酸以及在N端具有疏水性氨基酸的肽可能具有更好的抗氧化活性。

2.5 热处理和高速剪切对豌豆蛋白溶解度的影响

由于热处理和高速剪切后的酶水解是在pH 8.5和pH 7.0的条件下进行的,因此本研究着重对这两个条件下豌豆蛋白的溶解度进行对比分析,结果见图3。

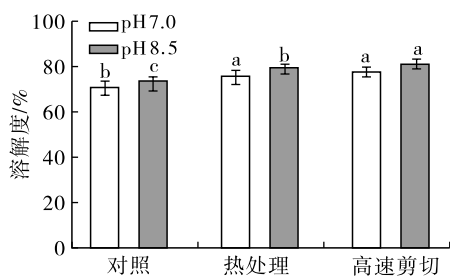


图3 热处理和高速剪切对豌豆蛋白溶解度的影响

由图3可知,与对照(未经预处理的豌豆蛋白)比较,热处理和高速剪切均能够起到增加豌豆蛋白

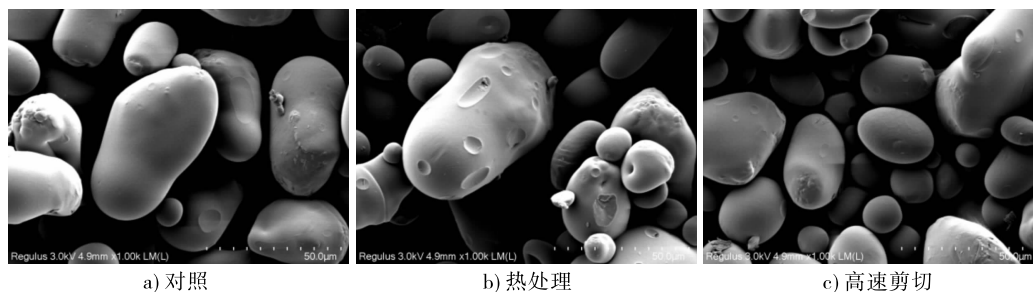


图4 热处理和高速剪切对豌豆蛋白表现形貌的影响

由图4可知,经过热处理后,样品表面由较为光滑的椭球形结构变得粗糙且破裂,有明显的裂缝和孔洞,同时不规则凸形增加,这是由于热处理增加了游离巯基和疏水基团在分子表面的暴露而形成蛋白

溶解度的作用。热处理可能一方面破坏了蛋白质结构中的氨基和邻近羧基间的次级键,使得溶解度提高;另一方面造成了蛋白质高级结构的破坏,形成了易溶的非共价分子^[11]。相比热处理,高速剪切处理后的样品溶解度较高,这是由于高强度的剪切力导致豌豆蛋白颗粒之间产生强烈的剪切、拉伸和挤压作用,增加了与水相互作用的表面积^[8]。

2.6 热处理和高速剪切对豌豆蛋白二级结构的影响

二级结构的组成能够反映蛋白质分子的有序性和松散程度^[24]。经过预处理后获得的豌豆蛋白的二级结构组成及含量见表4。

表4 热处理和高速剪切对豌豆蛋白二级结构的影响

样品	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规卷曲
对照	23.90 ± 0.40 ^a	34.80 ± 0.36 ^c	19.90 ± 0.40 ^a	18.53 ± 0.32 ^c
热处理	20.53 ± 0.41 ^c	40.90 ± 0.30 ^a	15.33 ± 0.25 ^c	23.53 ± 0.33 ^a
高速剪切	22.05 ± 0.42 ^b	38.13 ± 0.25 ^b	18.33 ± 0.30 ^b	21.10 ± 0.34 ^b

由表4可知,经过热处理和高速剪切后,豌豆蛋白中 α -螺旋和 β -转角的含量显著下降, β -折叠和无规卷曲含量显著上升($p < 0.05$)。这可能是经过预处理后豌豆蛋白的分子结构由有序向无序转化,其紧密的二级结构被打开,构象的稳定性降低,这有利于暴露更多的酶切位点,增强酶水解的敏感性。Fadimu等^[25]研究超声预处理对羽扇豆蛋白水解物的结构影响时也观察到类似的现象,并发现蛋白质中的 α -螺旋和 β -转角比例与抗氧化活性呈负相关。

2.7 热处理和高速剪切对豌豆蛋白表观形貌的影响

未经处理、经加热和高速剪切预处理后冷冻干燥的豌豆蛋白表观形貌见图4。

质聚集体^[11]。经过高速剪切后,样品表面总体变化不明显,样品的结构变得较为松散,在剪切力的作用下蛋白质团块被分解成许多小的团块。总体而言,热处理和高速剪切均在一定程度上展开了蛋白质内

部的封闭结构,增强了蛋白质与酶的可及性,因此水解效率提高。

3 结论

通过热处理和高速剪切预处理制备出性能显著改善的豌豆蛋白水解物。与未预处理的豌豆蛋白相比,热处理和高速剪切有利于豌豆蛋白的溶解,破坏了豌豆蛋白的完整性和紧密度,使蛋白质与酶的接触更充分。热处理和高速剪切使水解度分别增加了 21.1% 和 13.6%,氮回收率分别增加了 9.6% 和 5.4%,不溶性聚集体比例分别降低了 27.7% 和增加了 12.7%,氨基酸含量分别增加了 22.2% 和 12.3%,分子质量主要集中在 3 kDa 以下。综上,相对于高速剪切,热处理对于提高豌豆蛋白水解效率更加简单有效。

参考文献:

- [1] DAHL W J, FOSTER L M, TYLER R T. Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.) [J]. *Brit J Nutr*, 2012, 108(S1): S3 - S10.
- [2] GE J, SUN C X, CORKE H, et al. The health benefits, functional properties, modifications, and applications of pea (*Pisum sativum* L.) protein: current status, challenges, and perspectives[J]. *Compr Rev Food Sci F*, 2020, 19(4): 1835 - 1876.
- [3] TONG X H, LIAN Z T, MIAO L M, et al. An innovative two - step enzyme - assisted aqueous extraction for the production of reduced bitterness soybean protein hydrolysates with high nutritional value [J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2020, 134: 110151 [2022 - 01 - 17]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110151>.
- [4] KLOST M, DRUSH S. Functionalisation of pea protein by tryptic hydrolysis - characterisation of interfacial and functional properties [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 86: 134 - 140.
- [5] LU Z X, HE J F, ZHANG Y C, et al. Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2020, 60(15): 2593 - 2605.
- [6] AVRAMENKO N A, LOW N H, NICKERSON M T. The effects of limited enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsifying properties of a lentil protein isolate [J]. *Food Res Int*, 2013, 51(1): 162 - 169.
- [7] ELMALIMADI M B, STEFANIOVIC A B, SEKULJICA N Z, et al. The synergistic effect of heat treatment on Alcalase - assisted hydrolysis of wheat gluten proteins: functional and antioxidant properties [J/OL]. *J Food Process Pres*, 2017, 41(5): e13207 [2022 - 01 - 17]. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13207>.
- [8] 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 - 01 - 17]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108500>.
- [9] ASHRAF J, AWAIS M, LIU L Y, et al. Effect of thermal processing on cholesterol synthesis, solubilisation into micelles and antioxidant activities using peptides of *Vigna angularis* and *Vicia faba* [J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2020, 129: 109504 [2022 - 01 - 17]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109504>.
- [10] NIELSEN P M, PETERSEN D, DAMBMANN C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis [J]. *J Food Sci*, 2001, 66(5): 642 - 646.
- [11] LIANG G J, CHEN W P, QIE X J, et al. Modification of soy protein isolates using combined pre - heat treatment and controlled enzymatic hydrolysis for improving foaming properties [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 105: 105764 [2022 - 01 - 17]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105764>.
- [12] ZHAO X L, ZHAO Q, CHEN H B, et al. Distribution and effects of natural selenium in soybean proteins and its protective role in soybean *beta* - conglycinin (7S globulins) under AAPH - induced oxidative stress [J]. *Food Chem*, 2019, 272: 201 - 209.
- [13] ZHENG L, REN J Y, SU G W, et al. Comparison of in vitro digestion characteristics and antioxidant activity of hot - and cold - pressed peanut meals [J]. *Food Chem*, 2013, 141(4): 4246 - 4252.
- [14] AGRAWAL H, JOSHI R, GUPTA M. Isolation, purification and characterization of antioxidative peptide of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) protein hydrolysate [J]. *Food Chem*, 2016, 204: 365 - 372.
- [15] AHMADIFARD N, MURUETA J H C, KENARI A, et al. Comparison the effect of three commercial enzymes for enzymatic hydrolysis of two substrates (rice bran protein concentrate and soy - been protein) with SDS - PAGE [J]. *J Food Sci Tech Mys*, 2016, 53(2): 1279 - 1284.
- [16] BRUNO S F, KUDRE T G, BHASKAR N. Effects of different pretreatments and proteases on recovery, umami taste compound contents and antioxidant potentials of *Labeo rohita* head protein hydrolysates [J]. *J Food Sci Tech Mys*, 2019, 56(4): 1966 - 1977.
- [17] ZHANG Y H, ZHOU F B, ZHAO M M, et al. Soy peptide aggregates formed during hydrolysis reduced protein extraction without decreasing their nutritional value [J]. *Food Funct*, 2017, 8(12): 4384 - 4395.
- [18] NOMAN A, JIANG Q X, XU Y S, et al. Effects of ultrasonic, microwave, and combined ultrasonic -

- microwave pretreatments on the enzymatic hydrolysis process and protein hydrolysate properties obtained from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) [J/OL]. *J Food Biochem*, 2020, 44 (8): e13292 [2022 - 01 - 17]. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13292>.
- [19] KITTPHATTANABAWON P, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, et al. Gelatin hydrolysate from blacktip shark skin prepared using papaya latex enzyme: antioxidant activity and its potential in model systems[J]. *Food Chem*, 2012, 135(3): 1118 - 1126.
- [20] RAHIMI R, GAVLIGHI H A, SARTESHNIZI R A, et al. In vitro antioxidant activity and antidiabetic effect of fractionated potato protein hydrolysate via ultrafiltration and adsorption chromatography[J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2022, 154: 112765 [2022 - 01 - 17]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112765>.
- [21] ZHENG Z J, SI D Y, AHAMD B, et al. A novel antioxidative peptide derived from chicken blood corpuscle hydrolysate[J]. *Food Res Int*, 2018, 106: 410 - 419.
- [22] ZOU T B, HE T P, LI H B, et al. The structure - activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins[J/OL]. *Molecules*, 2016, 21(1): 72 [2022 - 01 - 17]. <https://doi.org/10.3390/molecules21010072>.
- [23] MONTONE C M, CAPRIOTTI A L, CAVALIERE C, et al. Peptidomic strategy for purification and identification of potential ACE - inhibitory and antioxidant peptides in *Tetrademus obliquus* microalgae[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(15): 3573 - 3586.
- [24] LEE S H, LEFEVRE T, SUBIRADE M, et al. Changes and roles of secondary structures of whey protein for the formation of protein membrane at soy oil/water interface under high - pressure homogenization[J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(26): 10924 - 10931.
- [25] FADIMU G J, GILL H, FARAHNAKY A, et al. Investigating the impact of ultrasound pretreatment on the physicochemical, structural, and antioxidant properties of Lupin protein hydrolysates [J]. *Food Bioproc Technol*, 2021, 14 (11): 2004 - 2019.

(上接第24页)

成、极性组分含量可用于对煎炸油稳定性进行快速评价,其中脂肪酸组成可作为提前预判油品煎炸性能的指标;3种油品的总生育酚氧化速度偏差并不大;一次、二次精炼的18℃棕榈油在煎炸稳定性和风险因子的变化方面没有明显区别,虽然二次精炼可以除去部分多环芳烃,但损失了有益的微量营养成分,同时还伴生出新的风险因子,如增加了3-MCPDE、反式脂肪酸。对食用油加工业而言,应倡导适度加工,以降低精炼过程营养成分的损失,避免风险因子的生成。

参考文献:

- [1] 李阳,钟海雁,李晓燕,等.煎炸用油品质变化及测定方法研究进展[J].*食品与机械*, 2008(6): 148 - 151.
- [2] 宋丽娟,于修焯,张建新,等.煎炸油在薯片煎炸过程中的品质变化[J].*食品科学*, 2011, 32(5): 70 - 74.
- [3] 刘玉兰.油脂煎炸过程质量安全风险研究进展[J].*中国油脂*, 2017, 42(11): 103 - 107.
- [4] 章海风,周晓燕,李辉,等.3种食用油在油条煎炸过程中的品质变化比较[J].*食品科学*, 2013, 34(22): 160 - 164.
- [5] 刘立萍,王彦志,王文敏,等.以大豆油棕榈油为原料的调和油的脂肪酸分析[J].*化工管理*, 2016(20): 52 - 53.
- [6] 张铁英.煎炸油在煎炸过程中脂肪酸组成的变化[J].*食品科学*, 2013, 34(5): 132 - 136.
- [7] 王霞,金青哲,王兴国.大豆油精炼过程中生育酚的损失[J].*中国油脂*, 2009, 34(7): 4 - 7.
- [8] 胡浩宇,刘晓宇,高政,等.菜籽油脱臭馏出物中提取V_E的研究进展[J].*农产品加工:学刊*, 2008(3): 8 - 10, 15.
- [9] 刘玉兰,温运启,马宇翔,等.大豆油精炼过程中多环芳烃的迁移规律[J].*食品科学*, 2018, 39(22): 263 - 268.
- [10] DINGEL A, MATISSEK R. Esters of 3 - monochloropropane - 1,2 - diol and glycidol: no formation by deep frying during large - scale production of potato crisps[J]. *Eur Food Res Technol*, 2015, 241: 719 - 723.
- [11] ARISSETO A P, MARCOLINO P F C, AUGUSTI A C, et al. Contamination of fried foods by 3 - monochloropropane - 1,2 - diol fatty acid esters during frying[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2017, 94: 449 - 455.
- [12] 胡本伦,孙靖雯,赵元元,等.煎炸油中极性化合物和3-MCPDE的形成及控制研究进展[J].*中国油脂*, 2022, 47(1): 119 - 125.