

低温等离子体技术对青稞蛋白结构及功能特性的影响

刘永慧, 田亚凝, 张永琥, 李苓蕾, 苟国源, 石 丽, 曹汝鸽, 王丽丽

Effects of Cold Plasma Technology on the Structural and Functional Properties of Highland Barley Protein

LIU Yonghui, TIAN Yaning, ZHANG Yonghu, LI Linglei, GOU Guoyuan, SHI Li, CAO Ruge, and WANG Lili

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023120290>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

低温等离子体处理加速罗非鱼肌原纤维蛋白的氧化及结构改变

Cold Plasma Treatment Accelerated the Oxidation and Structural Changes of Myofibrillar in Tilapia

食品工业科技. 2023, 44(4): 88-95 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022050196>

低温等离子体对糙米蒸煮品质和物化特性的影响

Effects of Low Temperature Plasma on Cooking Quality and Physicochemical Properties of Brown Rice

食品工业科技. 2020, 41(2): 9-15 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.02.002>

低温等离子体处理对羊肉脂质与蛋白质氧化性质的影响

Effects of Cold Plasma Treatments on Lipids and Protein Oxidation Properties of Mutton

食品工业科技. 2022, 43(14): 85-93 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021100306>

冷等离子体处理的面筋蛋白对鸡肉糜凝胶品质特性的影响

Effect of Gluten Treated with Cold Plasma on Quality Properties of Chicken Gel

食品工业科技. 2024, 45(6): 84-90 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023050171>

冷等离子体技术对食品组分的影响及其作用机制

Effect and Action Mechanism of Cold Plasma Technology on Food Components

食品工业科技. 2023, 44(12): 445-454 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070119>

低温等离子体预处理对马铃薯薄层热风干燥特性的影响

Effect of Low-temperature Plasma Pretreatment on Hot-air with Thin-layer Drying Characteristics of Potatoes

食品工业科技. 2022, 43(9): 87-92 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080161>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

刘永慧, 田亚凝, 张永琥, 等. 低温等离子体技术对青稞蛋白结构及功能特性的影响 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 81–88. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120290

LIU Yonghui, TIAN Yaning, ZHANG Yonghu, et al. Effects of Cold Plasma Technology on the Structural and Functional Properties of Highland Barley Protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(22): 81–88. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120290

· 研究与探讨 ·

低温等离子体技术对青稞蛋白结构及功能特性的影响

刘永慧¹, 田亚凝², 张永琥³, 李苓蕾¹, 苟国源¹, 石 丽², 曹汝鸽^{1,*}, 王丽丽^{2,*}

(1. 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457;

2. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193;

3. 山东玉皇粮油食品有限公司, 山东临沂 276600)

摘 要: 本研究旨在通过采用低温等离子体技术对青稞蛋白进行改性, 探究不同处理条件对青稞蛋白结构特性和功能特性的影响。采用扫描电子显微镜 (SEM) 观察青稞蛋白微观结构的变化; 十二烷基琼脂糖凝胶电泳 (SDS-PAGE) 研究其一级结构的变化; 傅里叶红外光谱和荧光光谱分别研究其二级、三级结构的变化, 并分析了低温等离子体对青稞蛋白基本功能性质的影响。结果表明: 随着处理时间的增加, 样品表面形态被破坏, 孔洞增大且数量增多。低温等离子体处理后蛋白的一级结构未发生改变, 二级结构中 β -折叠含量显著增加 ($P < 0.05$), α -螺旋、无规卷曲含量显著降低 ($P < 0.05$)。此外, 三级结构中表面疏水性显著增加 ($P < 0.05$)、荧光强度下降。与未处理样品相比, 低温等离子体处理 40 min 后青稞蛋白的溶解度、持水性、乳化特性和起泡性能达到最佳。综上所述, 低温等离子体处理通过改变青稞蛋白的结构特性, 促进了功能性质的改善, 对青稞蛋白和青稞资源的利用具有重要指导意义。

关键词: 青稞蛋白, 低温等离子体, 结构特性, 功能特性

中图分类号: TS213.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)22-0081-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120290

本文网刊:



Effects of Cold Plasma Technology on the Structural and Functional Properties of Highland Barley Protein

LIU Yonghui¹, TIAN Yaning², ZHANG Yonghu³, LI Linglei¹, GOU Guoyuan¹, SHI Li²,
CAO Ruge^{1,*}, WANG Lili^{2,*}

(1. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2. Institute of Agro-products Processing Sciences and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences,
Beijing 100193, China;

3. Shangdong Yuhuang Cereals Oils and Foodstuffs Co., Ltd., Linyi 276600, China)

Abstract: To modify highland barley protein by low temperature plasma technology, and to explore the effects of different treatment conditions on the structural and functional properties of highland barley protein. Scanning electron microscopy (SEM) was used to observe changes in the microstructure of highland barley protein. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was employed to study changes in its primary structure. Fourier-transform infrared spectroscopy and fluorescence spectroscopy were utilized to analyze changes in its secondary and tertiary

收稿日期: 2023-12-27

基金项目: 国家重点研发专项项目 (2021YFD1600100); 拉萨市科技计划项目 (LSKJ202431); 中国农业科学院农产品加工研究所创新工程院所重点任务 (CAAS-ASTIP-G2022-IFST-04); 山东省重点研发计划-泰山领军人才 (LJNY202115); 临沂市创新领军人才项目。

作者简介: 刘永慧 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 谷物加工与营养研究, E-mail: 2328757327@qq.com。

* 通信作者: 曹汝鸽 (1987-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 谷物加工及其副产物增值化利用技术研究, E-mail: rgcao@tust.edu.cn。

王丽丽 (1983-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 营养健康谷物品质调控与产品开发研究, E-mail: wlland2013@163.com。

structures. Additionally, the impact of cold plasma on the basic functional properties of barley protein was analyzed. The results showed that with the increased treatment time, the surface morphology of the samples was disrupted, resulting in increased pore size and quantity. The primary structure of the protein remained unchanged after cold plasma treatment, while the β -sheet content in the secondary structure significantly increased ($P<0.05$), and the α -helix and random coil content significantly decreased ($P<0.05$). Moreover, the tertiary structure analysis revealed a significant increase in hydrophobicity ($P<0.05$) and a decrease in fluorescence intensity. Compared to untreated samples, after 40 min of cold plasma treatment, the solubility, water-holding capacity, emulsifying properties, and foaming properties of highland barley protein reached optimal levels. In conclusion, cold plasma treatment would improve the functional properties of highland barley protein by modifying its structural characteristics, offering important guidance for the utilization of highland barley protein and barley resources.

Key words: highland barley protein; cold plasma; structure properties; function properties

青稞是青藏高原特有的粮食作物,富含 β -葡聚糖、膳食纤维、酚类化合物、维生素 E 和 γ -氨基丁酸等生物活性成分,具有“两高一低”(高膳食纤维、高蛋白、低血糖生成指数)的营养特性,已成为开发健康食品的理想原料^[1]。蛋白质是青稞中的重要营养成分,平均含量约为 12.43%,高于水稻蛋白或玉米蛋白^[2]。青稞蛋白是含有 18 种氨基酸的优质植物蛋白来源,其中人体必需的 8 种氨基酸含量较高,尤其富含限制性氨基酸如赖氨酸,含量高达 0.79%^[3]。但是青稞蛋白的功能特性并不理想,具有较低的溶解性、乳化性和成膜性,限制了其在食品基质中的应用。在食品加工过程中通常会使用酶、化学和物理法改善蛋白质的功能特性以满足实际生产的要求,然而传统改性方法通常需要较高的成本和能耗,其对环境不友好且可能对人体健康不利。因此,使用生态友好的非热物理方法修饰蛋白质结构并改善其功能特性已经成为当下食品科学领域的一个研究热点^[4]。低温等离子体技术是通过自身产生的活性氧(ROS)、活性氮(RNS)、自由基及高速电子打破蛋白质中共价键并引发各种化学反应对蛋白进行改性的一种新型非热技术,既能较好保持蛋白原有的营养价值,也能改善其功能特性^[5]。

近年来,低温等离子体技术在蛋白质分子结构修饰和功能化方面显示出巨大的潜力。李可等^[6]利用介质阻挡放电(DBD)等离子体对鹰嘴豆分离蛋白(CPI)进行改性处理,经等离子体处理后,CPI 溶液的溶解性、乳化活性和乳化稳定性得到显著的改善($P<0.05$)。Abarghoei 等^[7]采用低温等离子体对小麦胚芽蛋白(WGPI)进行改性,发现适当的功率和有限的时间(25 kV 和 5 min)可以有效地改善 WGPI 的功能性能,而不会产生明显的破坏作用。Sharafodin 等^[8]采用 DBD 等离子体对大豆分离蛋白(SPI)进行改性,结果表明,SPI 的乳化性能、溶解度、持水力和发泡性能均得到提高,且在 18 kV 处理 15 min 后达到最大值。青稞作为一种优质的植物蛋白资源,由于种植区域的限制,国内外对青稞蛋白功能特性的研究较少,在一定程度上限制了青稞的深加工与利用。而且近年来通过低温等离子体技术处理提高植物蛋白

功能的研究主要涉及 SPI、豌豆蛋白和花生蛋白,该技术对青稞蛋白的改性研究目前尚未见报道。

因此,本研究采用低温等离子体技术对青稞蛋白进行不同时间的处理,评价不同条件下等离子体处理的青稞蛋白形态、结构及溶解度、持水性、乳化性和起泡性等功能特性的影响,并进一步分析了等离子体处理下青稞蛋白结构与功能的相互联系,以期为扩大青稞蛋白在食品加工中的应用提供理论与技术依据,这对提高青稞蛋白的经济价值具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

青稞籽粒 西宁昆仑 18 号(由青海省农林科学院提供);氢氧化钠、盐酸均为分析纯 国药集团化学试剂有限公司;5,5'-二硫-2-硝基苯甲酸(DTNB) 上海少辛生物科技有限公司;8-苯胺基-1-萘磺酸(ANS) 北京伊诺凯科技有限公司;葵花籽油 北京广达恒益科技有限公司。

低温等离子体设备 中国农业科学院蜜蜂研究所(高压电源型号 YD(JZ)-1.5/50、控制器型号 KZX-1.5KVA);BF2000-2C 分析天平 北京赛欧华创科技有限公司;XHF-D 高速分散器、SCIENTZ-10N 冷冻干燥机 宁波新芝生物科技股份有限公司;MB-RC52 精米机 北京广达恒益有限公司;DM5-2200 破壁机 德玛仕(德国)有限公司;LXJ-B 型飞鸽离心机 上海安亭科学仪器厂;FE28 型 pH 计 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;Nexus470 傅里叶变换红外光谱仪 美国 NICOLET 公司;SU8010 扫描电子显微镜、F-2500 荧光分光光度计 日本东京日立有限公司;SP-Max2300A2 光吸收型全波长酶标仪 上海闪谱生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 青稞蛋白的提取 采用碱溶酸沉法^[9]提取青稞蛋白并做了一些修改。采用精米机碾磨青稞籽粒,去除青稞麸皮,然后去离子水浸泡过夜;以 1:15(w/v)的比例加入去离子水用破壁机打浆,高速搅打 4 个 1 min。用 2 mol/L NaOH 调节浆液 pH 至 10.5,4500 r/min 离心 10 min。取上清液用 2 mol/L HCl 调节 pH 至青稞蛋白等电点 4.5,水洗沉淀后取沉淀冷冻干燥,

样品存放-20 ℃ 冰箱备用。

1.2.2 青稞蛋白的低温等离子体处理 称取 2 g 青稞蛋白粉,平铺于直径 90 mm 的培养皿中,低温等离子体处理条件为:电压 30 kV、频率为 50 Hz,上下电极距离约 4 cm。样品分别处理 0、10、20、30、40 min,回收后置于-20 ℃ 冰箱中保存,分别记为 T0、T1、T2、T3 和 T4。

1.2.3 蛋白质结构特性测定

1.2.3.1 扫描电子显微镜(SEM)观察 各处理组青稞蛋白粉末用双面胶带固定在扫描镜的载物台上,并用离子溅射镀膜仪溅射镀金,电子枪加速电压为 10 kV,在 2000 倍下进行观察。

1.2.3.2 十二烷基琼脂糖凝胶电泳(SDS-PAGE)分析

采用 12% 分离胶、5% 浓缩胶对青稞蛋白进行 SDS-PAGE 分析。称量 50 mg 蛋白加入 2 mL 1 mol/L pH8.8 Tris-HCl 充分涡旋混匀后,离心取其上清液,上清液与 5×蛋白上样缓冲液按 4:1 比例混匀后沸水浴中加热 5 min,静置冷却至室温后,吸取 10 μL 上样;运行电压为 90 V。凝胶分别用考马斯亮蓝快速染色液和脱色液进行染色和脱色。非还原型电泳的方法同上,但是使用的上样缓冲液中不含 DTT 且操作时不用沸水浴加热。

1.2.3.3 衰减全反射傅立叶红外光谱(ATR-FTIR)分析

吸取 1 mg/mL 蛋白浓度的上清液约 20 μL 于 ATR 附件上,扫描条件为波数 500~4000 cm⁻¹,设置分辨率为 4 cm⁻¹,共扫描 64 次。记录红外光谱图。采用 Omnic 对各谱图进行自动基线校正、去卷积、二阶求导,然后采用 Peakfit 4.12 软件对红外光谱图的酰胺 I 带(1600~1700 cm⁻¹)进行分析并计算蛋白二级结构的相对含量。

1.2.3.4 表面疏水性(H₀)测定

采用 ANS 疏水荧光探针法^[10]测定不同处理时间下青稞蛋白的 H₀。用 0.01 mol/L pH7.0 磷酸盐缓冲液(PBS)制备浓度分别为 0.01、0.05、0.1、0.2、0.4 mg/mL 的蛋白溶液,取 15 μL ANS(8 mmol/L)溶液加入到 3 mL 蛋白溶液中,在黑暗下反应 10 min 后在激发波长 390 nm,发射波长 470 nm,狭缝 5 nm 条件下迅速测定混合液的荧光强度。通过线性回归分析将荧光强度和青稞蛋白浓度的初始斜率作为 H₀。

1.2.3.5 荧光光谱测定 将浓度为 1 mg/mL 的蛋白溶液稀释 100 倍后采用 F-2500 荧光分光光度计进行测定。测量条件为:激发波长为 280 nm,在 5 nm 的恒定狭缝下发射波长为 300~500 nm,扫描速率为 1500 nm/min。

1.2.3.6 游离巯基含量测定 将 0.2 g 蛋白加入到 10 mL Tris-Gly-8 mol/L 尿素溶液中充分搅拌溶解后,4500 r/min 离心 15 min,取上清液 3 mL 加入 20 μL DTNB,然后 25 ℃ 下反应 30 min,用分光光度计在 412 nm 处测定其吸光度值。游离巯基(-SH)含量按

下式进行计算:

$$\text{巯基含量}(\mu\text{mol/g}) = \frac{73.53 \times A_{412} \times D}{C} \quad \text{式 (1)}$$

式中:73.53 为 DTNB 的摩尔吸光系数;A₄₁₂ 为样品在 412 nm 处吸光度;D 为样品稀释倍数,取 6.04;C 为样品质量浓度(mg/mL)。

1.2.4 蛋白质功能特性测定

1.2.4.1 溶解度 参考 Du 等^[11]的方法并稍作修改。

取 0.2 g 不同处理时间的青稞蛋白溶于 10 mL 0.01 mol/L pH7.0 PBS 中,在室温下磁力搅拌 2 h,放入 4 ℃ 冰箱中过夜以完全水合。将得到的蛋白溶液在 3000×g 上离心 3 min,用酶标仪测定溶液在 595 nm 下的吸光度。根据考马斯亮蓝 G-250 与蛋白质结合的 Bradford 法绘制的牛血清蛋白(BSA)标准曲线测定上清液中的蛋白质含量。溶解度的计算公式如下:

$$\text{溶解度}(\%) = C_1/C_0 \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中:C₁ 为上清液中的蛋白浓度(mg/mL);C₀ 为初始蛋白浓度(mg/mL)。

1.2.4.2 持水性 称取 50 mg 左右蛋白于 5 mL 离心管中,

在离心管中加入 2.5 mL 去离子水,涡旋 5 min 使其充分混匀后在室温下静置 30 min,4500 r/min 离心 15 min,弃去上清液,用滤纸吸干离心管壁的水分,称重并记录其质量。持水性按每克样品吸附水的质量(g/g)表示。持水性按下式进行计算:

$$\text{持水性}(\text{g/g}) = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \quad \text{式 (3)}$$

式中:M₀ 为样品质量(g);M₁ 为试管质量加样品质量(g);M₂ 为吸水离心后试管质量加样品质量(g)。

1.2.4.3 乳化性(EAI)和乳化稳定性(ESI) 参考陈

王玉等^[12]的方法。取 6 mL 浓度为 2%、pH7.0 的蛋白质上清液,加入 2 mL 葵花籽油在 1000 r/min 下高速分散 1 min,立即从底部取 50 μL 于离心管中,加入 5 mL 0.1% SDS,混匀后在 500 nm 下测定吸光度。室温下静置 30 min 后,重复上述操作,均以 0.1% SDS 溶液作为空白对照。根据以下公式计算乳化性和乳化稳定性。

$$\text{EAI}(\text{m}^2/\text{g}) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{C \times \phi \times 10^4} \quad \text{式 (4)}$$

$$\text{ESI}(\%) = \frac{\text{EAI}_{30}}{\text{EAI}} \times 100 \quad \text{式 (5)}$$

式中:A₀ 为样品吸光度值;N 为稀释倍数;C 为样品质量浓度(g/mL);φ 为乳液中油相所占比例,0.25;EAI、EAI₃₀ 为 0 min 和 30 min 的乳化能力。

1.2.4.4 起泡性和泡沫稳定性 用 0.01 mol/L pH7.0 PBS 制备 2% 青稞蛋白悬浮液,室温下搅拌过夜以完全水化。取 8 mL 悬浮液在直径 20 mm,高 100 mm 的 25 mL 量筒中,高速分散器下 10000 r/min 搅打 1 min,

快速读取其体积。30 min 后再次读取泡沫体积计算泡沫稳定性。起泡性(FC)和泡沫稳定性(FS)用下式进行计算:

$$\text{起泡性}(\%) = \frac{V_1 - V_0}{V_0} \times 100 \quad \text{式 (6)}$$

$$\text{泡沫稳定性}(\%) = \frac{V_{30}}{V_1} \times 100 \quad \text{式 (7)}$$

式中: V_1 为搅拌后泡沫体积(mL); V_{30} 为泡沫保存 30 min 后的体积(mL); V_0 为溶液的初始体积(mL)。

1.3 数据处理

所有实验至少进行三次,用 SPSS 20.0 和 Origin 2021 对数据进行统计分析和作图处理,运用方差分析法(ANOVA)对数据进行显著性分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 低温等离子体处理对青稞蛋白微观结构的影响

采用 SEM 研究了不同处理时间对青稞蛋白微观结构的影响。由图 1 对照组可见,青稞蛋白表面较平整且呈大块状。这与李涛^[13]的研究结果相一致,青稞蛋白颗粒的外形比较完整,且呈不规则的球形。随着处理时间的增加,青稞蛋白表面被蚀刻且孔洞增大,20 min 时,蛋白质表面的裂纹孔洞明显增加,40 min 时,蛋白质表面基本全部被破坏,这可能是由于长时间的等离子体处理过程中产生的高能电子、离子和其他类型的活性物质的存在,这些活性物质会轰击蛋白表面,改变其形态^[14]。

2.2 低温等离子体处理对青稞蛋白一级结构的影响

青稞蛋白包含清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白、谷蛋白 4 种组分,其中含量最多的蛋白为醇溶蛋白和谷

蛋白^[15]。采用 SDS-PAGE 方法分析低温等离子体处理后青稞蛋白亚基的变化。由图 2A 还原型电泳图可知,青稞蛋白分子量主要分布在 11~22 kDa、35~50 kDa、55~65 kDa 和 75~100 kDa 的范围内,由 Du 等^[16]的研究结果可知,醇溶蛋白的分子量在 10~110 kDa 范围内,主要亚基为 35~60 kDa,谷蛋白的两个主要亚基分布在 30~45 kDa 和 50~60 kDa(低分子量亚基),综上,11~22 kDa 的条带应为清蛋白和球蛋白。与未处理的青稞蛋白相比,处理后的青稞蛋白在还原型和非还原型图谱上都没有差异,这表明,低温等离子体处理并未改变青稞蛋白的一级结构。该结果与季慧等^[17]的研究结果相同,低温等离子处理花生分离蛋白粉末并没有改变花生蛋白的一级结构。

2.3 低温等离子体处理对青稞蛋白二级结构的影响

各处理组青稞蛋白的红外光谱图如图 2B 所示。酰胺 I 带(1600~1700 cm^{-1})是蛋白质主链中最突出、最敏感的振动带,与蛋白质的二级结构有关,由 α -螺旋(1645~1662 cm^{-1})、 β -折叠(1613~1637 cm^{-1})、 β -转角(1682~1696 cm^{-1})和无规卷曲(1662~1682 cm^{-1})^[18]组成,因此选择它进行详细研究。

不同处理时间下青稞蛋白二级结构含量的拟合结果如表 1 所示。与未处理的青稞蛋白样品相比, β -折叠含量从最初 $36.67\% \pm 1.09\%$ 显著增加到 $42.33\% \pm 0.34\%$ ($P < 0.05$), α -螺旋从 $18.31\% \pm 0.42\%$ 显著下降到 $14.32\% \pm 0.46\%$ ($P < 0.05$),无规卷曲的含量也从 $14.77\% \pm 0.42\%$ 下降到 $13.18\% \pm 0.57\%$, β -转角的含量则无显著变化($P > 0.05$)。该结果与 Wang 等^[19]处理 CPI 二级结构变化趋势一致。此外, Ji 等^[20]报告也称,在 DBD 等离子体处理后,花生分离蛋白 β -折叠含量增加, α -螺旋含量下降。经过低温等离子体处

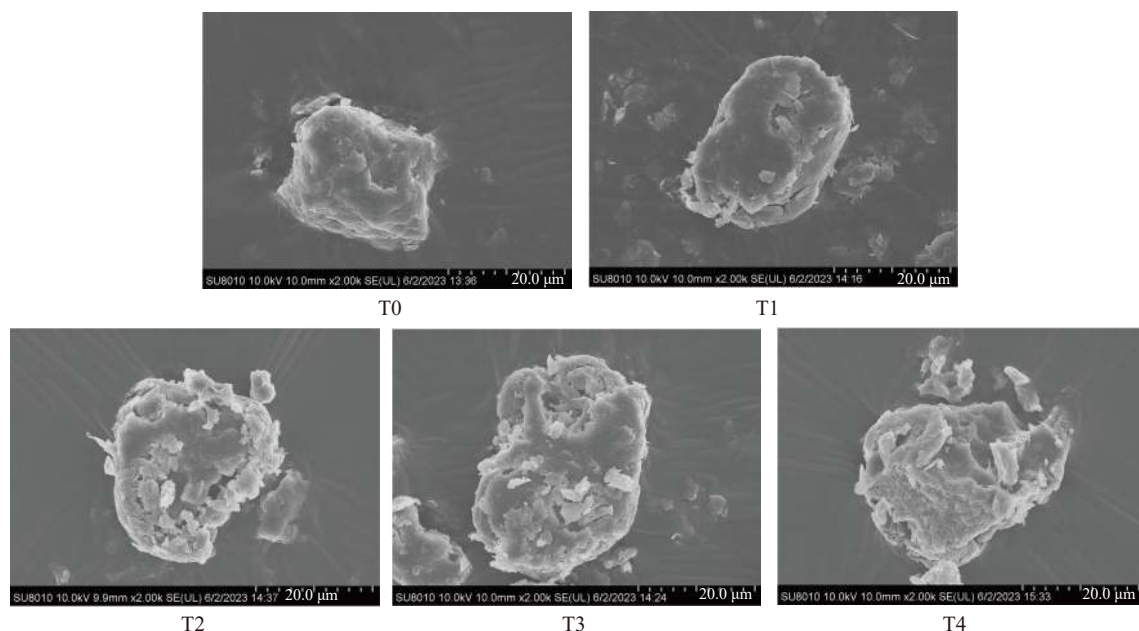


图 1 低温等离子体处理对青稞蛋白微观结构的影响(20 μm)

Fig.1 Effects of cold plasma treatment on the microstructure of highland barley protein (20 μm)

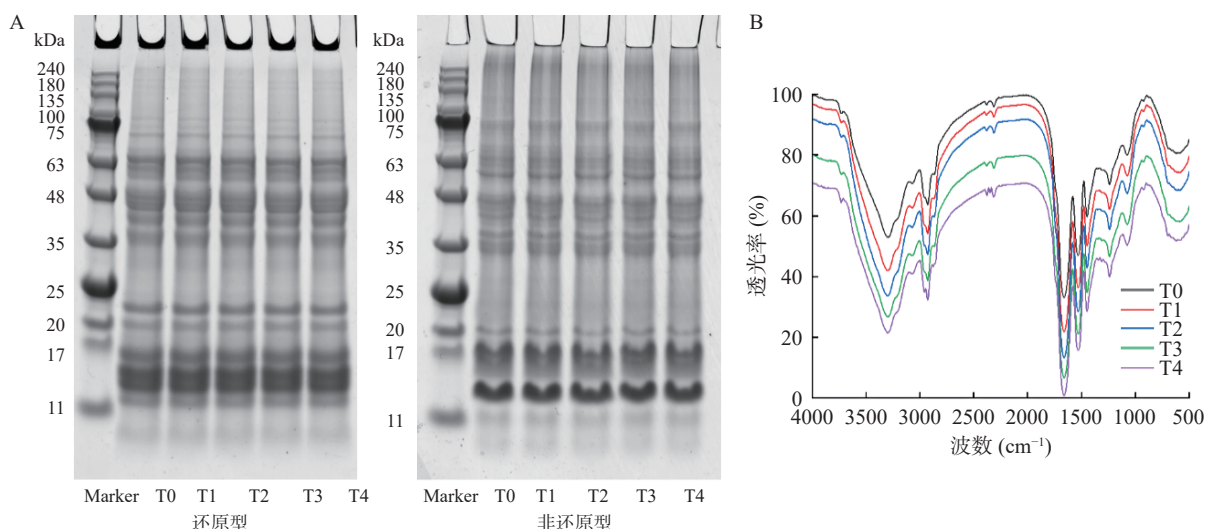


图 2 低温等离子体处理对青稞蛋白一级和二级结构的影响

Fig.2 Effects of cold plasma treatment on the primary and secondary structure of highland barley protein

注: A.电泳图谱; B.红外光谱图。

理后,蛋白质二级结构发生变化可能包含以下原因: β -折叠的存在是蛋白质疏水的原因,等离子体处理导致蛋白质展开,从而增加了 β -折叠的含量^[21]。 α -螺旋表示酰胺和水分子间氢键相互作用增加,低温等离子体处理降低了 α -螺旋结构,破坏了氢键,使蛋白质分子变得更具有弹性,从而导致蛋白质展开^[22]。这些结果表明,等离子体处理破坏了青稞蛋白的二级结构,使其由 α -螺旋和无规则卷曲转变为 β -折叠,形成有部分无序结构的松散有序状态^[23]。

表 1 低温等离子体处理对青稞蛋白二级结构的影响
Table 1 Effects of cold plasma treatment on the secondary structure of highland barley protein

处理时间	β -折叠(%)	α -螺旋(%)	β -转角(%)	无规则卷曲(%)
T0	36.67 $\pm$ 1.09 ^b	18.31 $\pm$ 0.42 ^a	30.26 $\pm$ 0.63 ^a	14.77 $\pm$ 0.42 ^a
T1	40.51 $\pm$ 0.69 ^a	16.30 $\pm$ 0.67 ^b	29.40 $\pm$ 0.73 ^a	13.45 $\pm$ 0.21 ^c
T2	41.36 $\pm$ 0.56 ^a	16.20 $\pm$ 0.19 ^b	28.24 $\pm$ 0.76 ^a	14.12 $\pm$ 0.46 ^b
T3	41.97 $\pm$ 0.28 ^a	15.87 $\pm$ 0.75 ^b	28.60 $\pm$ 0.39 ^a	13.18 $\pm$ 0.57 ^c
T4	42.33 $\pm$ 0.34 ^a	14.32 $\pm$ 0.46 ^c	29.39 $\pm$ 0.33 ^a	13.26 $\pm$ 1.22 ^c

注: 同一列中不同小写字母表示显著性差异($P<0.05$); 表2~表3同。

2.4 低温等离子体处理对青稞蛋白三级结构的影响

表面疏水性是衡量蛋白质分子表面疏水基团数量的重要指标,与蛋白质的功能性质密切相关,反映了蛋白质三级结构的变化^[24]。表面疏水性的变化如图 3A 所示。与对照组相比,随着处理时间的增加,青稞蛋白的疏水能力增加, H_0 从 7752 $\pm$ 303 显著增加到 8944 $\pm$ 203($P<0.05$)。这可能是由于等离子体处理过程中产生的活性自由基会氧化蛋白质,使蛋白质聚集体或亚基结构解离,埋藏在内部的疏水基团更易暴露出来与 ANS 结合,从而增加蛋白表面疏水性^[6];此外,由于高能粒子轰击后,蛋白分子结构展开,分子间疏水性也会增加^[17],而蛋白质疏水性的提高有利于蛋白质分子更牢固地吸附在油滴表面,促进蛋白质乳化能力的提高^[25]。

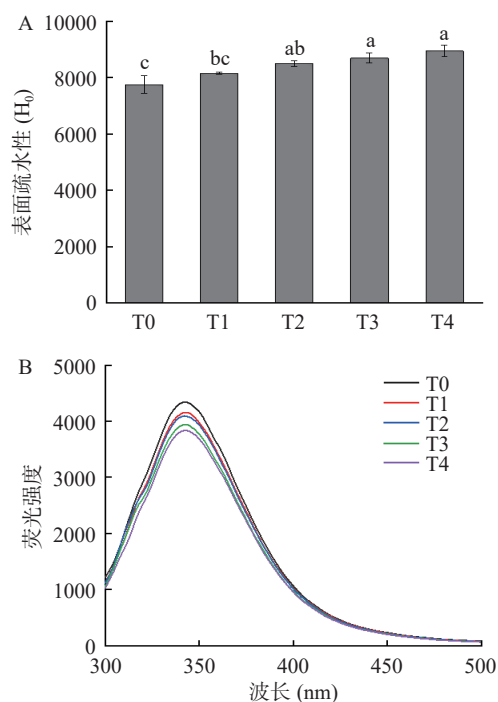


图 3 低温等离子体处理对青稞蛋白三级结构的影响

Fig.3 Effects of cold plasma treatment on the tertiary structure of highland barley protein

注: A.表面疏水性; B.荧光光谱; 不同小写字母表示显著性差异($P<0.05$); 图 4~图 5 同。

荧光光谱也可以用于揭示蛋白质三级结构的变化。一些芳香氨基酸,如色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和苯丙氨酸(Phe)残基,负责蛋白质的发光,它们对周围微环境的变化非常敏感,常被用来监测蛋白质三级构象的变化^[26]。

青稞蛋白的荧光发射光谱如图 3B 所示。不同处理时间下样品荧光发射峰最大吸收波长($\lambda_{\max}$)均为 342 nm,荧光强度的下降未伴随着 $\lambda_{\max}$ 蓝移红移等现象。样品荧光强度随处理时间的增加而下降,40 min 时下降最为明显。这与 Ji 等^[27]得研究结论相

同,常压低温等离子体处理前后花生蛋白荧光发射峰值波长($\lambda_{\max}=331\text{ nm}$)均无偏移。色氨酸残基对周围环境的极性非常敏感,更倾向于被埋没在疏水蛋白核心中。低温等离子体处理使氨基酸侧链展开,使色氨酸残基暴露在极性环境中,从而导致荧光强度降低^[28]。

2.5 低温等离子体处理对青稞蛋白游离巯基含量的影响

巯基是蛋白质类产品中一个重要的官能团,巯基的减少或增加表明蛋白质结构的改变。因此,巯基是反映蛋白质功能性质的重要活性基团^[8]。各组游离巯基含量变化如图 4 所示。处理 10 min 时,游离巯基含量(17.42 ± 0.08) $\mu\text{mol/g}$ 与未处理组间含量(17.12 ± 0.57) $\mu\text{mol/g}$ 无显著差异($P>0.05$),当处理时间为 20 min 时,巯基含量开始显著增加($P<0.05$),到 40 min 时达到最大值(33.50 ± 1.24) $\mu\text{mol/g}$ 。Dong 等^[29]采用低温等离子体处理玉米醇溶蛋白粉末也显示了类似的结果,与未处理样品($6.684\text{ }\mu\text{mol/g}$)相比,处理 7 min 时游离巯基含量显著增加至 $7.554\text{ }\mu\text{mol/g}$ ($P<0.05$)。游离巯基含量的增加可能归因于处理过程中蛋白质链的展开和蛋白质表面隐藏巯基的出现。此外,处理过程中产生的高能离子可以使二硫键断裂,形成游离巯基基团^[20]。

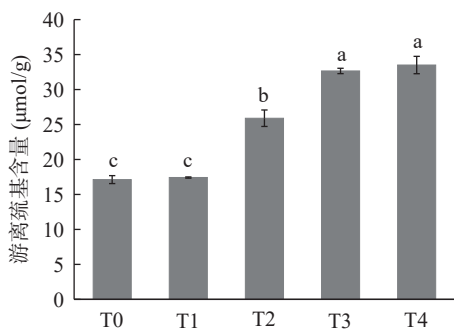


图 4 低温等离子体处理对青稞蛋白游离巯基含量的影响
Fig.4 Effects of cold plasma treatment on the free sulfhydryl content of highland barley protein

2.6 低温等离子体处理对青稞蛋白溶解度和持水性的影响

溶解性是蛋白质功能特性的基础,在食品加工中为了获得更好的乳化性或起泡性,通常需要蛋白质具有较高的溶解性。表 2 是溶解度随着处理时间延长的变化,溶解度随处理时间的延长而增加,对照组青稞蛋白的溶解度为 $6.25\%\pm0.30\%$,处理时间 40 min 时溶解度达到了 $10.97\%\pm0.10\%$ 。可溶性蛋白浓度的增加可能是由于以下两个方面原因:高能等离子体粒子轰击引起的蚀刻反应(图 1);处理过程中产生的 ROS 和 RNS 对蛋白质进行轰击,两者都可以使蛋白质表面的活性位点暴露出来,增强蛋白质与水分子的相互作用,从而增加溶解度^[17,19]。

持水性与蛋白质的溶解度密切相关,对蛋白质的发泡性能起着至关重要的作用^[30]。持水性的变化

表 2 低温等离子体处理对青稞蛋白溶解度和持水性的影响

Table 2 Effects of cold plasma treatment on solubility and water holding capacity of highland barley protein

处理时间	溶解度(%)	持水性(g/g)
T0	6.25±0.30 ^e	2.47±0.03 ^d
T1	6.74±0.22 ^d	2.52±0.01 ^d
T2	9.21±0.36 ^c	2.62±0.01 ^c
T3	10.25±0.08 ^b	2.72±0.05 ^b
T4	10.97±0.10 ^a	2.84±0.04 ^a

如表 2 所示,处理时间对青稞蛋白的持水性有显著影响($P<0.05$),处理 20 min 时,青稞蛋白的持水性开始显著增加($P<0.05$),到 40 min 时与 0 min 相比,青稞蛋白的持水性增加了 14.98% ($P<0.05$)。这与溶解度的变化趋势相一致。Mehr 等^[31]发现低温等离子体在 9.4 和 18.6 kV 下分别处理 30 s 和 60 s 时,山豆蛋白的持水力和溶解度呈正相关。由 2.3 结果可知,等离子体处理诱导青稞蛋白质的空间结构发生改变,从而增强其吸收和保留水分子的能力^[30];此外,等离子体活性物质与蛋白质分子的相互作用导致表面刻蚀和粗糙度增加(图 1),使蛋白质能够吸收更多的水,这些都可能增加青稞蛋白的持水性。

2.7 低温等离子体处理对青稞蛋白乳化特性的影响

乳化性是表征蛋白质乳化能力的重要指标,其数值越高,表明蛋白质可快速吸附在油滴表面,形成油水界面。乳化稳定性则反映了蛋白质防止乳液分离的能力^[32]。图 5 显示了低温等离子体处理后青稞蛋白乳化性和乳化稳定性的变化。青稞蛋白的乳化性在处理 30 min 时达到最大值 $7.66\text{ m}^2/\text{g}$,相比于对照组 $6.04\text{ m}^2/\text{g}$ 增加了 26.82% ($P<0.05$);乳化稳定性也观察到类似的趋势,随着处理时间的延长而增加,从 19.56% 增加到 25.44% ($P<0.05$)。

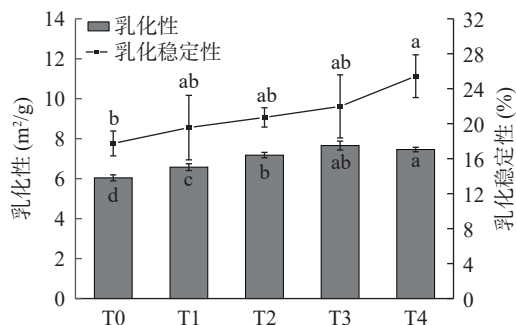


图 5 低温等离子体处理对青稞蛋白乳化特性的影响
Fig.5 Effects of cold plasma treatment on the emulsification properties of highland barley protein

乳化特性的提高可能是由于以下两个方面原因:低温等离子体处理产生的 ROS 和 RNS 不断轰击蛋白质,暴露蛋白质内部存在的疏水性基团(图 3A)和氨基酸,增加了蛋白质与油滴的结合能力;同时,溶解度的增加(表 2)使蛋白质在乳化过程中能够更好地进入水-油界面,从而提高了乳化活性^[33]。Wang 等^[19]研究也发现在 30 s 的常压低温等离子体处理下, CPI

的乳化性和乳化稳定性得到了很好的改善。

2.8 低温等离子体处理对青稞蛋白起泡特性的影响

未处理和处理的青稞蛋白的起泡性和泡沫稳定性见表 3。与对照组相比, 低温等离子体处理显著提高了青稞蛋白的起泡性和泡沫稳定性, 且随着处理时间的增加而增加 ($P<0.05$)。起泡性从 $30.42\pm0.72\%$ 增加到 $43.75\pm1.25\%$ ($P<0.05$); 泡沫稳定性从 $60.28\pm2.10\%$ 提高到 $74.77\pm3.35\%$ ($P<0.05$)。Acharjee 等^[34]也得到了相同的研究结果, 在 230 V、15 min 的等离子体处理下, 豌豆蛋白的起泡性和稳定性分别提高了 57.28% 和 6.06%。由 2.3 和 2.4 结果可知, 等离子体处理产生的 ROS 和 RNS, 促使蛋白质氧化和氨基酸侧链展开, 形成更灵活的结构, 从而在空气-水界面更好地产生泡沫^[31]。此外, 表面疏水性的增加可以通过增加气-水界面的吸附程度对发泡能力产生积极的影响^[35]。

表 3 低温等离子体处理对青稞蛋白起泡特性的影响
Table 3 Effects of cold plasma treatment on the foaming properties of highland barley protein

处理时间	起泡性(%)	泡沫稳定性(%)
T0	30.42±0.72 ^c	60.28±2.10 ^c
T1	32.71±1.58 ^{bc}	63.77±3.66 ^{bc}
T2	35.00±1.08 ^b	65.83±2.38 ^{bc}
T3	42.71±1.80 ^a	66.69±2.08 ^b
T4	43.75±1.25 ^a	74.77±3.35 ^a

3 结论

本文研究了低温等离子体技术对青稞蛋白结构及功能特性的影响。SEM、ATR-FTIR、荧光光谱结果表明低温等离子体处理后蛋白质分子不仅表面形态被破坏, 分子结构也发生了显著变化 ($P<0.05$), β -折叠增加, α -螺旋、无规卷曲降低, 这导致了青稞蛋白游离巯基含量和表面疏水性提高。随着处理时间的增加, 青稞蛋白的溶解度、持水性、乳化性和起泡性显著 ($P<0.05$) 提高, 处理 40 min 时青稞蛋白的功能特性指标均达到最佳。综上所述, 低温等离子体技术通过改变青稞蛋白质的形态与分子结构促进了功能性质的进一步改善, 这为青稞蛋白的综合利用奠定了理论基础。此外, 低温等离子体技术对青稞蛋白在凝胶化与乳液稳定性等方面的影响还有待深入, 这也是青稞蛋白在食品领域功能应用的重要拓展。

© The Author(s) 2024. 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] GE X Z, JING L Z, ZHAO K, et al. The phenolic compounds profile, quantitative analysis and antioxidant activity of four naked barley grains with different color[J]. Food Chemistry, 2021, 335(2): 127655.
[2] GUO H, FENG K L, ZHOU J, et al. Carboxymethylation of Qingke β -glucans and their physicochemical properties and biological activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 147(6): 200–208.

[3] 王恒良. 西藏青稞资源利用评价及其青稞提取物 β -葡聚糖的生理功效研究[D]. 拉萨: 西藏大学, 2008. [WANG H L. The evaluation of resource using and the research of distilling components β -glucan physiological efficacy for Qingke in Tibet[D]. Lhasa: Tibet University, 2008.]
[4] MIRMOGHATAIE L, ALIABADI S S, HOSSEINI S M. Recent approaches in physical modification of protein functionality[J]. Food Chemistry, 2016, 199(10): 619–627.
[5] 李琦, 支爱, 何学明, 等. 低温等离子体改性粮油植物蛋白结构的研究进展[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(11): 305–313. [LI Q, ZHI A, HE X M, et al. Research progress of structure modification of grain and oil plant protein by cold plasma[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2022, 37(11): 305–313.]
[6] 李可, 田金凤, 郑思雨, 等. 等离子体对鹰嘴豆分离蛋白溶解性和乳化特性的影响[J]. 农业工程学报, 2021, 37(4): 31–39. [LI K, TIAN J F, ZHENG S Y, et al. Effects of plasma on solubility and emulsifying properties of chickpea protein isolates[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2021, 37(4): 31–39.]
[7] ABARGHOEI M, GOLI M, SHAHI S. Investigation of cold atmospheric plasma effects on functional and physicochemical properties of wheat germ protein isolate[J]. LWT, 2023, 177(5): 154585.
[8] SHARAFODIN H, SOLTANIZADEH N. Potential application of DBD plasma technique for modifying structural and physicochemical properties of soy protein isolate[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 122(1): 107077.
[9] 吴桂玲, 刘立品, 李文浩, 等. 碱溶酸沉法提取青稞蛋白质的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(5): 19–24. [WU G L, LIU L P, LI W H, et al. Research on technology for extraction of highland barley protein by alkaline extraction and acid precipitation method[J]. Food Research and Development, 2015, 36(5): 19–24.]
[10] GAO C F, JIA J Q, YANG Y, et al. Structural change and functional improvement of wheat germ protein promoted by extrusion[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 137(4): 108389.
[11] DU Y, LIANG F, CHEN Z X, et al. Effects of decolorization on aggregation behavior of highland barley proteins: Comparison with wheat proteins[J]. Food Research International, 2022, 160(10): 111712.
[12] 陈玉玉, 石梦梦, 王月琴, 等. 超声对青稞蛋白理化性质和消化特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(8): 68–75. [CHEN Y Y, SHI M M, WANG Y Q, et al. Effect of ultrasound on physicochemical properties and digestive characteristics of barley protein[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(8): 68–75.]
[13] 李涛. 青稞蛋白质的提取及其特性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2010. [LI T. The studies on extraction and properties of hulless barley protein[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2010.]
[14] YU X, HUANG S S, NIE C Z, et al. Effects of atmospheric pressure plasma jet on the physicochemical, functional, and antioxidant properties of flaxseed protein[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(7): 2010–2019.
[15] 王洪伟, 武菁菁, 阚建全. 青稞和小麦醇溶蛋白和谷蛋白结构性质的比较研究[J]. 食品科学, 2016, 37(3): 43–48. [WANG H W, WU J J, KAN J Q. Comparison of structure characteristics of gliadin and glutenin in highland barley and wheat[J]. Food Science, 2016, 37(3): 43–48.]

- [16] DU Y, CHEN Z X, LIANG F, et al. Effects of solidoside on functional and structural changes in highland barley proteins[J]. LWT, 2022, 160(8): 113310.
- [17] 季慧, 陈野. 常压低温等离子处理提高花生分离蛋白水合性质的研究[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(8): 61–65, 72. [JI H, CHEN Y. Improved hydrated properties of peanut protein isolate powders treated by atmospheric pressure cold plasma treatment[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2019, 34(8): 61–65, 72.]
- [18] DONG X, WANG J, RAGHAVAN V. Impact of microwave processing on the secondary structure, *in vitro* protein digestibility and allergenicity of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) proteins[J]. Food Chemistry, 2021, 337(4): 127811.
- [19] WANG J, ZHOU X Y, JU S L, et al. Influence of atmospheric pressure plasma jet on the structural, functional and digestive properties of chickpea protein isolate[J]. Food Research International, 2023, 174(12): 113565.
- [20] JI H, DONG S, HAN F, et al. Effects of dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma treatment on physicochemical and functional properties of peanut protein[J]. Food and Bioprocess Technology, 2018, 11(2): 344–354.
- [21] SHARIFIAN A, SOLTANIZADEH N, ABBASZADEH R. Effects of dielectric barrier discharge plasma on the physicochemical and functional properties of myofibrillar proteins[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2019, 54(4): 1–8.
- [22] EKEZIE F C, CHENG J H, SUN D W. Effects of atmospheric pressure plasma jet on the conformation and physicochemical properties of myofibrillar proteins from king prawn (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Food Chemistry, 2019, 276(7): 147–156.
- [23] CHEN Y, YAO M Y, YANG T Y, et al. Changes in structure and emulsifying properties of coconut globulin after the atmospheric pressure cold plasma treatment[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 136(3): 108289.
- [24] HU H, WU J H, LI-CHAN E C, et al. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(2): 647–655.
- [25] JIANG J, CHEN J, XIONG Y L. Structural and emulsifying properties of soy protein isolate subjected to acid and alkaline pH-shifting processes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(16): 7576–83.
- [26] ZHANG Y, CHEN S, QI B K, et al. Complexation of thermally-denatured soybean protein isolate with anthocyanins and its effect on the protein structure and *in vitro* digestibility[J]. Food Research International, 2018, 106(4): 619–625.
- [27] JI H, HAN F, PENG S L, et al. Behavioral solubilization of peanut protein isolate by atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment[J]. Food and Bioprocess Technology: An International Journal, 2019, 12(4): 2018–2027.
- [28] LI J G, XIANG Q S, LIU X F, et al. Inactivation of soybean trypsin inhibitor by dielectric-barrier discharge (DBD) plasma[J]. Food Chemistry, 2017, 232(19): 515–522.
- [29] DONG S, GAO A, XU H, et al. Effects of dielectric barrier discharges (DBD) cold plasma treatment on physicochemical and structural properties of zein powders[J]. Food and Bioprocess Technology, 2017, 10(3): 434–444.
- [30] REN X, LI C Z, YANG F, et al. Comparison of hydrodynamic and ultrasonic cavitation effects on soy protein isolate functionality[J]. Journal of Food Engineering, 2020, 265(2): 109697.
- [31] MEHR H M, KOOCHKEI A. Effects of short-term and long-term cold plasma treatment on the color, structure, and pickering foaming properties of grass pea protein particles[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 143(10): 108846.
- [32] GUPTA A, SHARMA S, SURASANI V K R. Quinoa protein isolate supplemented pasta: Nutritional, physical, textural and morphological characterization[J]. LWT, 2021, 135(1): 110045.
- [33] SEGAT A, MISRA N, CULLEN P, et al. Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of whey protein isolate model solution[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2015, 29(3): 247–254.
- [34] ACHARJEE A, DABADE A, KAHAR S, et al. Effect of atmospheric pressure non-thermal pin to plate cold plasma on structural and functional properties of pea protein isolate[J]. Journal of Agriculture and Food Research, 2023, 14(4): 100821.
- [35] DELAHAIJE R J, GRUPPEN H, GIUSEPPIN M L, et al. Quantitative description of the parameters affecting the adsorption behaviour of globular proteins[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2014, 123(11): 199–206.