

# 等离子体对鹰嘴豆分离蛋白溶解性和乳化特性的影响

李可<sup>1,2</sup>, 田金凤<sup>1,2</sup>, 郑思雨<sup>1,2</sup>, 贺雅玥<sup>1,2</sup>, 相启森<sup>1,2</sup>, 白艳红<sup>1,2\*</sup>

(1. 郑州轻工业大学食品与生物工程学院, 郑州 450001; 2. 河南省冷链食品质量安全控制重点实验室, 郑州 450001)

**摘要:** 鹰嘴豆作为植物蛋白的优质来源, 营养价值高, 但功能性质较差无法满足现代食品工业需求。该研究利用介质阻挡放电 (Dielectric Barrier Discharge, DBD) 等离子体对鹰嘴豆分离蛋白 (Chickpea Protein Isolates, CPI) 进行改性处理, 研究不同处理时间 (0、1、2、3、4 min) 对 CPI 溶解性、乳化特性、结构的影响及其之间的相关性。结果表明: 经等离子体处理后, 鹰嘴豆分离蛋白溶液的 pH 值降低, 电导率增加。溶解性、乳化活性和乳化稳定性得到显著的改善 ( $P < 0.05$ )。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析表明等离子体处理并未改变 CPI 的组成成分及种类, 但 7S 和 11S 等主要亚基条带强度增加。等离子体处理后  $\alpha$ -螺旋含量、自由巯基含量和表面疏水性显著增加 ( $P < 0.05$ ), 无规卷曲含量降低 ( $P < 0.05$ ), 表明蛋白的高级结构发生改变。扫描电镜显示随着处理时间的延长, 样品的尺寸减小, 表面结构变得更松散。利用 Pearson 相关性分析和主成分分析表明, 不同处理时间后, 蛋白结构的变化与功能性质的改善呈现较强的相关性。等离子体处理 4 min 后, CPI 的溶解性及乳化特性达到较优效果, 研究结果可为开发利用鹰嘴豆分离蛋白和指导实际生产实践提供技术支持。

**关键词:** 乳化性; 溶解性; 鹰嘴豆分离蛋白; 低温等离子体; 结构; 功能特性

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2021.04.005

中图分类号: TS214.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2021)-04-0031-09

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. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2021.04.005 <http://www.tcsae.org>

Li Ke, Tian Jinfeng, Zheng Siyu, et al. Effects of plasma on solubility and emulsifying properties of chickpea protein isolates[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2021, 37(4): 31-39. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2021.04.005 <http://www.tcsae.org>

## 0 引言

鹰嘴豆 (*Cicer arietinum* L.) 因外形似鹰嘴得名, 是世界第三大消费豆类, 营养含量丰富均匀, 相比动物蛋白而言价格低廉、方便储藏且具有可持续性<sup>[1]</sup>。目前鹰嘴豆在市面上被称为网红豆, 主要以原料进行售卖, 而鹰嘴豆相关深加工产品非常少, 因此, 加大鹰嘴豆制品特性及功能特性研究对于鹰嘴豆资源的开发与利用具有重要意义。鹰嘴豆中蛋白质含量丰富 (18%~30%), 是膳食蛋白的良好来源, 氨基酸组成均衡, 具有较高的生物利用率及良好的消化性<sup>[2-3]</sup>, 在膳食添加剂及功能性食品方面应用广泛, 但因其溶解性、乳化性能较差不能满足现代食品工业的需要, 限制了在实际生产加工中的应用<sup>[4-5]</sup>。近几年, 开发新型非热加工技术如超声波、微流化技术、等离子体等修饰蛋白质结构和改善其功能特性已成为农产品加工领域研究热点之一<sup>[6-10]</sup>, 然而, 关于鹰嘴豆分离蛋白功能特性的改性研究仍然较少<sup>[5]</sup>。

低温等离子体 (Cold Plasma, CP) 通常被称为物质的第四种状态, 可利用不同载气系统 (空气、氮气、氩气

等), 经大气压射流放电、介质阻挡放电、微波放电、滑动电弧等不同方式放电产生, 是一种整体呈电中性的电离气体, 包括处于基本态和激发态的电子、离子和中性粒子等, 活性粒子之间发生碰撞产生活性物质, 进而引发各种化学反应以修饰改善食品的功能特性<sup>[9-12]</sup>。季慧等<sup>[13-14]</sup>使用低温等离子体技术对花生蛋白进行改性, 其中研究发现处理后花生蛋白的  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠含量减小, 有序结构被破坏, 与未处理组相比, 溶解度及持水性分别提高了 24.8%及 79.6%<sup>[13]</sup>; Sharifian 等<sup>[15]</sup>利用介质阻挡放电等离子体对牛肉肌原纤维蛋白处理 0、10、15、20 min 后发现, 短时间的处理会使蛋白质分子展开, 表面疏水性增加, 乳化活性及乳化稳定性在处理 10 min 时达到最大值, 但随着时间的延长, 自由巯基含量减少、羰基含量增加, 起泡性能变差; Nadia 等<sup>[16]</sup>发现经等离子体技术处理乳清蛋白 15 min 后, 蛋白的二、三级结构发生改变, 明显改善了乳清蛋白的起泡能力及起泡稳定性。上述研究表明, 等离子体技术在修饰改善蛋白理化及加工性能方面表现出巨大潜力, 且蛋白不同, 作用效果存在明显差异。目前关于等离子体处理对鹰嘴豆分离蛋白结构和功能性质以及它们之间相关性的研究未有报道, 因此本文利用介质阻挡放电 (Dielectric Barrier Discharge, DBD) 等离子体处理鹰嘴豆分离蛋白 (Chickpea Protein Isolates, CPI), 研究等离子体处理对 CPI 溶解性、乳化特性和结构的影响, 并进一步分析等离子体处理后 CPI 结构与功能的相互联系, 为拓宽豆类在食品加工中的应用前景提供理论支撑。

收稿日期: 2020-12-24 修订日期: 2021-02-03

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目 (2018YFD0401200)

作者简介: 李可, 博士, 副教授, 研究方向为食品蛋白质化学与功能特性。

Email: like@zzuli.edu.cn

\*通信作者: 白艳红, 博士, 教授, 研究方向为肉品加工与质量安全控制。

Email: baiyanhong212@163.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

卡布里鹰嘴豆, 购于宁夏自治区固原市; 金龙鱼大豆油, 益海嘉里金龙鱼粮油食品有限公司; 磷酸盐缓冲液 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )、二硫苏糖醇 (DL-Dithiothreitol, DTT)、8-苯胺-1-萘磺酸 (8-Anilino-1-Naphthalenesulfonic acid, ANS)、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸) (5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoic Acid), DTNB)、乙二胺四乙酸 (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA)、十二烷基硫酸钠 (Sodium Dodecyl Sulfate, SDS) 和三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 等试剂均为分析纯及以上。

### 1.2 仪器与设备

APM-400 低温等离子体杀菌机, 韩国 PSM 公司; JA3003N 电子分析天平, 上海菁海仪器有限公司; TU-1810 紫外分光光度计, 北京普析通用仪器设备有限公司; LE438PH 计, 梅特勒-托利多仪器有限公司; DF-101S 磁力搅拌器, 河南省予华仪器有限公司; Lab-1-50 冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司; F-7000 荧光光度计, 日本日立公司; BIO-RAD 凝胶成像仪, 美国伯乐公司; Chirascan 圆二色谱仪, 英国应用光学物理公司; Regulus 8100 冷场发射扫描电镜, 日本日立有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 鹰嘴豆分离蛋白的制备

参考 Wang 等<sup>[5]</sup>方法, 将鹰嘴豆在 50 °C 下烘干至质量恒定, 含水率为 3.91%, 粉碎过 80 目筛, 将鹰嘴豆原粉与正己烷按照质量体积比 1:10 混合均匀, 搅拌 2~3 h 获得沉淀, 重复上述步骤后将收集的沉淀置于通风橱 12 h 后得脱脂粉。将脱脂粉与去离子水按照质量体积比 1:8 混合, 用 2 mol/L 的 NaOH 将 pH 值调至 9.0, 在 6 000 r/min 下离心 15 min, 取上清液后用 1 mol/L 的 HCl 将 pH 值调至 4.9, 在 6 000 r/min 下离心 15 min, 获取沉淀后将 pH 值调至 7.0, 透析。将透析后的样品置于冷冻干燥机预冻 3 h, 后抽真空至箱体真空度达约 40 Pa 后, 拧紧阀门, 继续冷冻干燥 15 h 后即获得鹰嘴豆分离蛋白 (Chickpea Protein Isolates, CPI) 样品。

#### 1.3.2 介质阻挡放电等离子体处理

将鹰嘴豆分离蛋白溶解在去离子水中, 质量浓度为 0.03 g/mL, 室温搅拌 2~3 h 后将溶液放置在 4 °C 下储存过夜 (保证完全水合), 利用低温等离子体设备 APM-400M 处理 (图 1), 载气为氮气 (流速为 350 L/min) 电极温度 75 °C, 电压 8 kV。取 20 mL 溶液于等离子体设备下处理 0、1、2、3、4 min, 温度控制在 (25±2) °C。CPI 溶液经等离子体处理后, 一部分溶液平衡温度后直接进行指标测定, 剩余溶液冷冻干燥备用。

### 1.4 pH 值、电导率、粒径

等离子体处理后的溶液置于 4 °C 冰箱平衡 20 min, 保证温度均匀一致后利用 pH 计、电导率仪分别测定样品的 pH 值和电导率。利用去离子水将 CPI 溶液稀释至 1 mg/mL, 用粒度仪测定样品粒径, 每个样品测量 3 次。

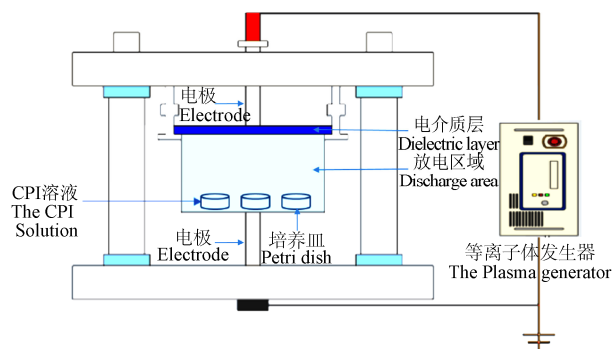


图 1 介质阻挡放电等离子体设备示意图

Fig.1 Schematic diagram of dielectric barrier discharge plasma

### 1.5 功能特性

#### 1.5.1 溶解性

样品溶解性的测定参考 Wang 等<sup>[5]</sup>的方法, 稍作修改, 配置 10 mg/mL 的 CPI 溶液, 在 10 000 r/min 离心 15 min, 将 1 mL 上清液加入到 4 mL 双缩脲试剂中, 经涡旋充分混合后避光反应 30 min 后, 用紫外分光光度计在 540 nm 处测定 CPI 溶液的吸光度。

#### 1.5.2 乳化特性

参考 Nadia 等<sup>[16]</sup>的方法, 利用去离子水配制 0.01 g/mL 的 CPI 溶液, 加入 5 mL 的大豆油, 在高速分散器下以 10 000 r/min, 分散 2 min 后从底部吸取 50  $\mu\text{L}$  乳液加到 0.001 g/mL, 5 mL SDS 溶液中, 涡旋均匀后在 500 nm 处测得吸光度  $A_0$ , 乳液静置 10 min 后, 再次从底部吸取 50  $\mu\text{L}$  乳液加到 SDS 溶液中, 混合均匀后在 500 nm 处测得吸光度  $A_{10}$ 。按公式 (1)、(2) 计算 CPI 的乳化活性指数 (Emulsion Ability Index, EAI) 及乳化稳定性指数 (Emulsion Stability Index, ESI)

$$\text{EAI}(\text{m}^2/\text{g}) = \frac{2 \times 2.303 \cdot N \cdot A_0}{10\,000 \cdot \omega \cdot C} \quad (1)$$

$$\text{ESI}(\text{min}) = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} \times 10 \times 100\% \quad (2)$$

式中  $N$  为稀释倍数;  $C$  为鹰嘴豆分离蛋白质量浓度, mg/mL;  $\omega$  为油体积分数, 本文取 20%。

### 1.6 结构指标

#### 1.6.1 SDS-PAGE

制备质量分数为 12% 分离胶和 5% 浓缩胶, 将 20  $\mu\text{L}$ 、2 mg/mL 的 CPI 溶液分别加至 20  $\mu\text{L}$  还原液 (含 DTT)、非还原液 (含 DTT) 中, 100 °C 下水浴 5 min。上样量为 10  $\mu\text{L}$ , 在 80 V 下电泳 20 min, 110 V 电泳 1.2 h, 利用考马斯亮蓝 R-250 染色 30 min, 置于脱色液中脱色至背景透明, 利用凝胶成像仪成像。

#### 1.6.2 圆二色谱

利用磷酸盐缓冲液 (10 mmol/L, pH 值为 7.0) 将 CPI 溶液稀释至 0.1 mg/mL, 磷酸盐缓冲液作为空白组, 光谱测量范围 190~260 nm, 带宽 1.0 nm 下对 CPI 进行测定, 每个样品重复 3 次。利用 CDNN 软件对  $\alpha$ -螺旋,  $\beta$ -折叠,  $\beta$ -转角和无规卷曲具体含量进行分析。

#### 1.6.3 表面疏水性

参考 Sharifian 等<sup>[15]</sup>的方法, 稍加修改, 利用磷酸盐

缓冲液 (10 mmol/L, pH 值为 7.0) 将 CPI 溶液稀释至 1 mg/mL, 而后分别稀释至 0.200, 0.100, 0.050, 0.025, 0.005 mg/mL。用磷酸盐缓冲液 (0.01 mol/L, pH 值为 7.0) 配置 8 mmol/L ANS 荧光探针溶液, 取 30  $\mu$ L ANS 溶液加至不同浓度梯度 CPI 溶液中, 用荧光分光光度计测量荧光值。激发波长 385 nm, 发射波长 490 nm。通过线性回归分析将荧光强度和蛋白浓度的初始斜率作为表面疏水性。

#### 1.6.4 自由巯基

利用 Tris-HCl 缓冲液 (0.086 mol/L Tris, 0.09 mol/L 甘氨酸和 0.004 mol/L EDTA, 后用 1 mol/L HCl 将上述混合液调至 pH 值为 8.0) 配置 2 mg/mL 的 CPI 溶液, 10 000 r/min 下离心 15 min, 取 50  $\mu$ L、4 mg/mL 的 DTNB 加到 5 mL 的 CPI 上清液中, 混匀避光反应 15 min 后, 以 Tris-HCl 缓冲液为空白, 在 412 nm 处测定吸光度  $A_s$ <sup>[5,15]</sup>。计算公式如下

$$\text{自由巯基 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{73.35 \times D \cdot A}{C} \quad (3)$$

式中  $D$  为溶液稀释倍数;  $A$  为  $A_s - A_1$  所得数值;  $A_1$  为 CPI 溶液在 412 nm 处的吸光度;  $A_s$  为 CPI 加入 DTNB 后在 412 nm 处的吸光度;  $C$  为鹰嘴豆分离蛋白质量浓度, mg/mL。

#### 1.6.5 微观结构

鹰嘴豆分离蛋白经等离子体处理后, 在 4  $^{\circ}$ C 冰箱平衡后置于冷冻干燥机, 运行 18 h 对样品进行冷冻干燥。将样品通过导电胶带粘附在扫描电镜样品台上, 喷金处理 60 s 后在 5 kV 电压下观察 CPI 的微观形貌。

#### 1.7 数据处理

所有试验重复 3 次, 结果用平均值 $\pm$ 标准差表示。利用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析 (ANONA)、Pearson's 相关性分析对数据进行统计分析, 采用 Duncan's 检验方法作多重比较, 字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); 利用 Origin 2019 软件对数据进行主成分分析。

## 2 结果与分析

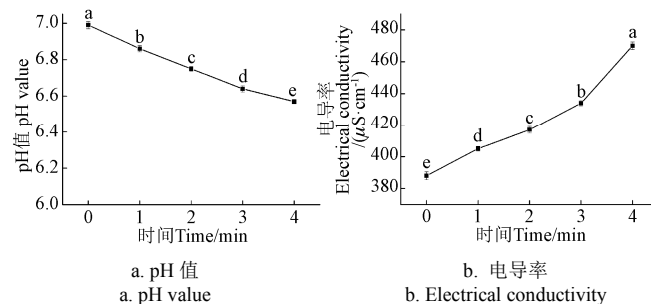
### 2.1 DBD 等离子体对 CPI 的 pH 值及电导率的影响

等离子体处理对鹰嘴豆分离蛋白 pH 值及电导率影响如图 2 所示, 等离子体处理后溶液的 pH 值明显下降, 经等离子体处理 4 min 后, 蛋白溶液的 pH 值由 6.98 降至 6.58 ( $P < 0.05$ )。这是由于等离子体产生的活性物质如活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 及活性氮 (Reactive Nitrogen Species, RNS) 等会直接或间接参与氧化营造酸性环境<sup>[17]</sup>, 如 NO 氧化 NO<sub>2</sub> 进而氧化生成 HNO<sub>2</sub>、HNO<sub>3</sub> 等, 此外活性物质通过水分子与空气或液体中产生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反应生成 H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, 也是导致 pH 值降低的一个重要因素<sup>[13]</sup>。与未处理样品相比, 电导率由 388 上升至 470  $\mu$ S/cm ( $P < 0.05$ ), 电导率的上升是因为分子受到高能辐射、放电时会发生电离, 在这些过程中, 大量带电粒子, 如离子、电子和自由基在样品系统或溶液上方的气相中被电离, 导致电导率提高<sup>[18]</sup>。

### 2.2 DBD 等离子体处理对 CPI 粒径的影响

图 3 是不同等离子体处理时间对 CPI 粒径的影响,

由图 3 可以看出, 随着等离子体处理时间的延长, CPI 溶液的平均粒径从 477 nm 降至 418 nm ( $P < 0.05$ ), 在 4 min 时粒径最小, 这可能是因为等离子体作用于蛋白溶液的过程中, 高能粒子会削弱蛋白分子胶束间的作用力, 裂解大的胶束聚集体, 使蛋白质间聚集度下降, 粒径减小<sup>[16,18]</sup>。另外, 等离子体产生的冲击波也是造成蛋白溶液粒径减小的一个原因<sup>[19]</sup>。



注: 图中不同小写字母表示显著差异 ( $P < 0.05$ ), 下同。  
Note: Different lowercase letters in the figure indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). The same as below.

图 2 DBD 等离子体处理对鹰嘴豆分离蛋白 pH 值及电导率的影响

Fig.2 Effects of DBD plasma treatment on pH value and electrical conductivity of chickpea protein isolates

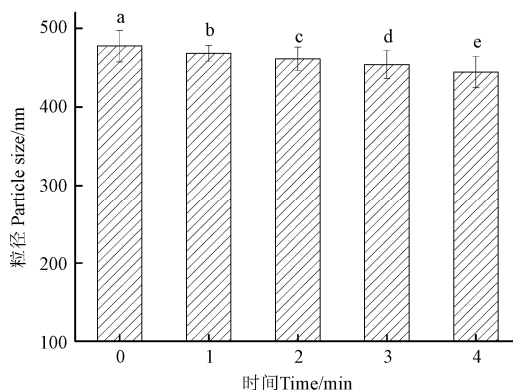


图 3 DBD 等离子体处理对鹰嘴豆分离蛋白粒径的影响

Fig.3 Effects of DBD plasma treatment on particle size of chickpea protein isolates

### 2.3 DBD 等离子体对 CPI 溶解性和乳化特性的影响

溶解性是研究蛋白质功能特性的前提基础, 在现代食品工业中发挥着重要作用, 溶解性一方面依赖于蛋白质自身特定结构, 另一方面会受到外界环境因素如 pH 值、温度及离子强度等的影响<sup>[18,20]</sup>。表 1 是等离子体处理不同时间下鹰嘴豆分离蛋白溶解性变化, 随着处理时间的延长, 溶解性从 75.60% 增加到 92.90% ( $P < 0.05$ ), 与未处理组相比, 溶解度提高了 22.88%, 这与 Ji 等<sup>[21]</sup>研究结果类似, 等离子体处理 1.5 min 后, 花生蛋白浓度从 3.41 mg/mL 增加到 4.17 mg/mL, 增加了 22.28%。本研究中, 鹰嘴豆分离蛋白经等离子体处理不同时间后, pH 值从 6.98 下降到 6.58 (图 2a), 虽然 pH 值趋势是下降, 但相比鹰嘴豆分离蛋白的等电点 (pH 值为 5.0) 而言, 等离子体处理 4 min 后, 溶液的 pH 值仍是远离蛋白等电点的状态。当 pH 值远高于等电点时, 蛋白质带足够负电荷, 带电氨基酸残基的静电排斥和水合作用保证了蛋白质的溶解, 本文中等离子体



处理引起的 pH 值略微下降对溶解性的影响较小。另一方面,除了 pH 值,影响蛋白溶解度还有其他因素,如粒径、表面性质<sup>[19]</sup>。等离子体处理后,蛋白粒径减小(图 3),这说明蛋白分子在等离子体放电过程中解聚展开,蛋白胶束表面的活性位点暴露的更多,增强了与水分子间的相互作用。鹰嘴豆蛋白电导率增加(图 2b),蛋白表面极性发生改变,静电排斥和水化作用会促进蛋白质的溶解<sup>[21]</sup>,此外,等离子体作用产生的活性物质在蛋白表面形成新的含氧及含氮基团也会影响蛋白溶解性<sup>[19]</sup>。

表 1 DBD 等离子体处理对 CPI 溶解性、乳化活性及乳化稳定性的影响

Table 1 Effects of DBD plasma treatment on solubility, emulsifying activity and stability of CPI

时间 Time/min	溶解性 Solubility/%	乳化活性 Emulsion ability ( $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ )	乳化稳定性 Emulsion stability /min
0	75.60±0.18 <sup>c</sup>	29.61±1.48 <sup>c</sup>	15.47±0.32 <sup>c</sup>
1	82.43±0.12 <sup>d</sup>	31.67±0.23 <sup>b</sup>	16.21±0.06 <sup>b</sup>
2	87.97±0.23 <sup>c</sup>	32.05±0.74 <sup>b</sup>	16.12±0.39 <sup>b</sup>
3	91.97±0.14 <sup>b</sup>	33.70±0.55 <sup>a</sup>	16.27±0.13 <sup>b</sup>
4	92.90±0.16 <sup>a</sup>	34.58±0.48 <sup>a</sup>	17.68±0.03 <sup>a</sup>

注: 同列上标小写字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

Note: Different superscript lowercase letters in the same column mean significant difference ( $P < 0.05$ ), the same as below.

乳化特性是表征蛋白质形成及稳定乳液能力的一种度量方式,在乳化过程中,蛋白质的疏水区域聚集于油相(疏水相),亲水区域聚集于水相<sup>[22]</sup>。由表 2 可以看出,等离子体处理 4 min 后,乳化活性指数从最初的  $29.61 \text{ m}^2/\text{g}$  增加到  $34.58 \text{ m}^2/\text{g}$  ( $P < 0.05$ ),乳化稳定性也显著增加 ( $P < 0.05$ )。等离子体处理会解离蛋白质聚集体,使得粒径较小(图 3)的蛋白质更容易吸附在油水界面,提高乳化活性。Sharifian 等<sup>[15]</sup>研究表明,肌原纤维蛋白经等离子体处理 10 min 后,乳化活性及乳化稳定性都得到了明显的改善,但随着处理时间延长到 20 min,乳化性能下降,表明短时间的处理可以改善蛋白的功能性质。

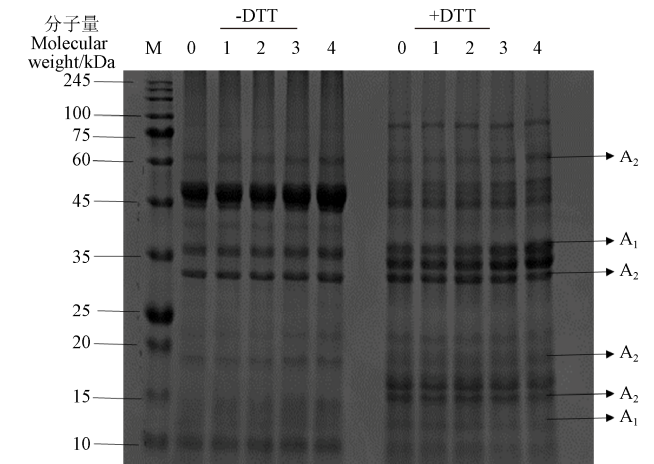
## 2.4 DBD 等离子体对 CPI 的 SDS-PAGE 结果分析

鹰嘴豆分离蛋白的 11S 球蛋白亚基主要出现在 10~14 kDa、40~41 kDa,7S 球蛋白亚基主要在 15~18 kDa、30~34 kDa、64~72 kDa<sup>[23-24]</sup>。由图 4 可以看出,在还原和非还原条件下等离子体处理后蛋白的主要条带未发生变化,说明等离子体处理并未改变蛋白质亚基的组成成分、种类<sup>[25]</sup>,但从图中可以明显看出,7S 和 11S 球蛋白亚基条带强度增加,这表明等离子体处理主要影响了 CPI 中 7S 和 11S 球蛋白性质,这也与蛋白溶解性增加(表 1)有关。此外,与非还原相比,在还原条件下,由于 DTT 的加入破坏了二硫键,使蛋白质聚集体及聚合物被解聚成较小的多肽,造成条带增多<sup>[5]</sup>。

## 2.5 DBD 等离子体对 CPI 二级结构的影响

表 2 所示是等离子体处理不同时间对鹰嘴豆分离蛋白二级结构的影响,与对照组相比,随着处理时间的延长, $\alpha$ -螺旋含量从 39.37%逐渐增加到 42.45%, $\beta$ -折叠含量从 12.34%减小至 10.58%, ( $P < 0.05$ ),无规卷曲含量减小 ( $P > 0.05$ )。 $\beta$ -折叠是由肽链间的氢键维持, $\beta$ -折叠含量

的降低可能是因为等离子体作用破坏了部分氢键,导致肽链展开,构象变得疏松,水分子更易进入蛋白质分子内部,增强了蛋白质与水分子之间的相互作用,同时  $\beta$ -折叠含量的降低表明分子内的疏水位点暴露<sup>[26-27]</sup>,导致表面疏水性增加(图 5)。松散的构象易使水分子进入蛋白质分子内部形成氢键,导致  $\alpha$ -螺旋含量发生变化<sup>[28-29]</sup>,另外 CPI 自身含有高含量的谷氨酸、亮氨酸等,这些氨基酸有利于  $\alpha$ -螺旋的形成,使得 CPI 构象向更加有序、稳定的二级结构进行转变<sup>[29]</sup>。Dong 等<sup>[30-31]</sup>研究等离子体处理玉米醇溶蛋白,认为活性物质通过氧化蛋白质,改变了蛋白质的二级结构,从而提高了玉米醇溶蛋白的水溶性。



注: M、0、1、2、3、4 分别代表 Marker、空白组及等离子体处理 1 min、2 min、3 min、4 min。A<sub>1</sub>: 11S 球蛋白亚基 A<sub>2</sub>: 7S 球蛋白亚基。-DTT 为未加入二硫苏糖醇 (DL-Dithiothreitol, DTT), +DTT 为加入二硫苏糖醇 (DL-Dithiothreitol, DTT)

Note: M, 0, 1, 2, 3, and 4 represent Marker, blank group, and plasma treatment for 1 min, 2 min, 3 min, and 4 min, respectively. A<sub>1</sub>: 11S globulin subunit A<sub>2</sub>: 7S globulin subunit. -DTT means no DL-Dithiothreitol added, +DTT for adding DL-Dithiothreitol.

图 4 DBD 等离子体处理后非还原及还原条件下鹰嘴豆分离蛋白的 SDS-PAGE 图谱

Fig.4 SDS-PAGE of chickpea protein isolates under non-reduction and reduction conditions after DBD plasma treatment

表 2 DBD 等离子体处理对 CPI 二级结构的影响

Table 2 Effects of DBD plasma treatment on the secondary structure of CPI

时间 Time/min	$\alpha$ -螺旋 $\alpha$ -helix/%	$\beta$ -折叠 $\beta$ -sheet/%	$\beta$ -转角 $\beta$ -turn/%	无规卷曲 Random coil/%
0	39.37±0.66 <sup>c</sup>	12.34±1.72 <sup>a</sup>	15.51±1.39 <sup>a</sup>	34.51±1.45 <sup>a</sup>
1	39.95±0.45 <sup>c</sup>	11.07±0.13 <sup>ab</sup>	14.64±0.15 <sup>a</sup>	34.35±0.45 <sup>ab</sup>
2	40.38±0.97 <sup>bc</sup>	10.91±0.42 <sup>ab</sup>	14.59±0.18 <sup>a</sup>	34.15±0.55 <sup>ab</sup>
3	42.13±1.50 <sup>ab</sup>	10.59±0.34 <sup>b</sup>	14.84±0.15 <sup>a</sup>	32.08±0.87 <sup>bc</sup>
4	42.45±1.18 <sup>a</sup>	10.58±0.29 <sup>b</sup>	14.77±0.07 <sup>a</sup>	32.49±1.22 <sup>c</sup>

## 2.6 DBD 等离子体对 CPI 表面疏水性的影响

表面疏水性是表征蛋白质三级结构变化的重要指标,研究表明,大多数疏水性残基埋藏于蛋白质的内部,少部分则暴露在分子表面<sup>[32]</sup>。等离子体处理不同时间对蛋白表面疏水性的影响如图 5 所示,与空白组相比,随着处理时间的延长,表面疏水性从 1 536 显著增加至 1 777 ( $P < 0.05$ )。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<sup>[32-33]</sup>,埋藏在内

部的疏水基团暴露出来,更易与 8-苯胺-1-萘磺酸(8-Anilino-1-Naphthalenesulfonic acid, ANS)结合增加蛋白表面疏水性<sup>[34-35]</sup>。蛋白疏水性的增加有利于蛋白分子更加牢固的吸附在油滴表面,促进蛋白乳化稳定性的提高(表1)。另外,蛋白表面疏水性增加,并不影响蛋白溶解性的升高。等离子体处理后,蛋白质结构会发生变化,并不仅仅是埋藏在内部的疏水基团暴露出来,亲水性基团也会增加,同时粒径减小与电导率增加,促进蛋白质与水分子之间的相互作用,进而有利于溶解度的提高。Hamed 等<sup>[19]</sup>研究表明等离子体处理增加了蛋白的表面疏水性,同时随着等离子时间延长,溶解性显著增加。相比表面疏水性对溶解性的作用,蛋白质粒径在促进溶解性上占主导作用<sup>[19]</sup>。Dong 等<sup>[18]</sup>也发现类似结果。

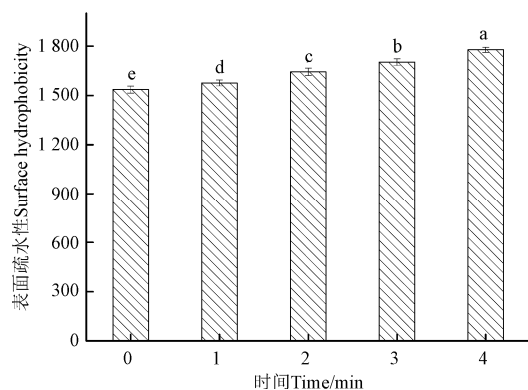


图5 DBD 等离子体对 CPI 表面疏水性的影响

Fig.5 Effects of DBD plasma on surface hydrophobicity of CPI

## 2.7 DBD 等离子体对 CPI 自由巯基的影响

自由巯基是蛋白质表达功能性质的重要活性基团,巯基和二硫键之间的转换可以用来描述蛋白质构象的变化<sup>[35-37]</sup>。由图 6 可以看出,与未处理相比,等离子体处理后自由巯基的含量显著增加( $P < 0.05$ ),等离子体处理改变了 CPI 分子粒径大小(图 3),蛋白分子间作用力

减弱,等离子体放电过程中产生的羟基自由基及氧自由基等高能粒子作用在蛋白质溶液表面时,蛋白分子结构变得更为松散,内部隐藏的一些巯基逐渐暴露,造成自由巯基含量的增加<sup>[37-38]</sup>。Ji 等<sup>[21]</sup>等研究等离子体处理蛋白后,自由巯基先降低再升高,产生不同结果的原因可能是设备条件(时间、电压)差异及不同载气系统所产生活性氧、活性氮的差别。

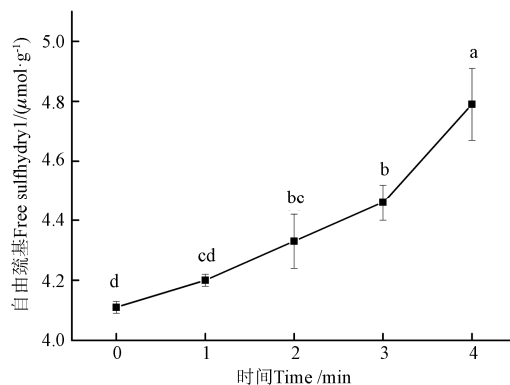


图6 DBD 等离子体对 CPI 自由巯基的影响

Fig.6 Effects of DBD plasma on free sulfhydryl groups of CPI

## 2.8 DBD 等离子体对 CPI 微观结构的影响

等离子体处理后 CPI 微观结构如图 7 所示。未处理组以片状形式存在,表面更为平整均匀,这与 Wang 等<sup>[5]</sup>研究结果类似。经等离子体处理后,样品虽仍以片状形式存在,但表面出现了不同程度的破碎且随着时间的增加表现出较强的松散及破裂程度,处理 4 min 时样品的表面破裂程度最大,等离子体对 CPI 微观结构的影响与上述粒径变化(图 3)吻合。这是由于等离子体在放电过程中产生的电子、离子及其他高能粒子会以空气为介质传递到蛋白质分子表面,造成蛋白质聚集体解离,显著改变 CPI 微观形貌,使得蛋白样品表面破裂,呈现出更为松散的状态<sup>[39-42]</sup>。

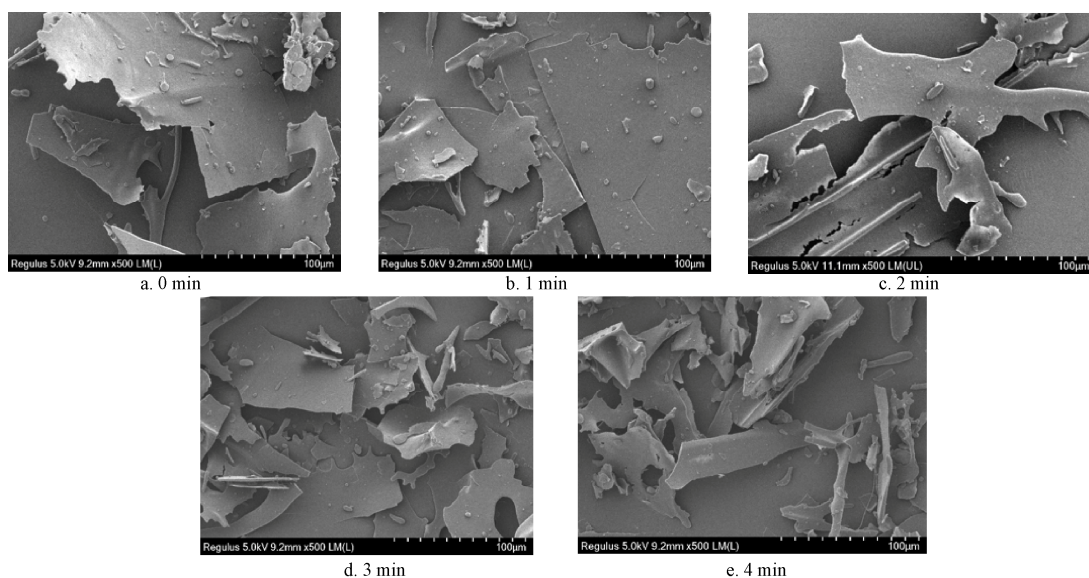


图7 DBD 等离子体处理后 CPI 微观形貌图

Fig.7 Micromorphology of CPI after DBD plasma treatment

## 2.9 DBD 等离子体对 CPI 的相关性分析

利用 Pearson 分析法对等离子体处理后 CPI 的溶解

性、乳化特性和结构之间进行相关性分析。如表 3 所示,各指标间存在不同的相关性。CPI 的粒径与溶解性( $r =$

-0.974,  $P < 0.01$ ) 和 EAI ( $r = -0.984$ ,  $P < 0.01$ ) 之间呈极显著负相关, 表明平均粒径较低的 CPI 具有更好的溶解性和乳化活性。EAI 与蛋白的  $\alpha$ -螺旋含量、表面疏水性之间呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ ), 与自由巯基含量呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 这可能是由于等离子体处理后, CPI 发生解折叠, 蛋白结构的变化更有利

于蛋白分子扩张并更加牢固的吸附在油滴表面, 从而促进蛋白乳化特性的提高, 同时 CPI 溶解性与 EAI ( $r = 0.983$ ,  $P < 0.01$ ) 之间呈极显著正相关, 说明蛋白溶解性的提高也有利于乳化特性的改善。由相关性分析可知, 等离子体处理后 CPI 的结构变化与其溶解性和乳化特性的提高密切相关。

表 3 DBD 等离子体处理对 CPI 各项指标的相关性分析  
Table 3 Correlation analysis of CPI various indexes by DBD plasma treatment

指标 Indicators	pH 值 pH value	粒径 Particle size	$\alpha$ -螺旋 $\alpha$ -helix	$\beta$ -折叠 $\beta$ -sheet	$\beta$ -转角 $\beta$ -turn	无规卷曲 Random coil	自由巯基 Free sulfhydryl	表面疏水性 Surface hydrophobicity	溶解性 Solubility	乳化活性 Emulsifying activity	乳化稳定性 Emulsifying stability
pH 值 pH value	1										
粒径 Particle size	0.992**	1									
$\alpha$ -螺旋 $\alpha$ -helix	-0.963**	-0.959**	1								
$\beta$ -折叠 $\beta$ -sheet	0.909*	0.877	-0.811	1							
$\beta$ -转角 $\beta$ -turn	0.598	0.566	-0.399	0.855	1						
无规卷曲 Random coil	0.876	0.855	-0.966**	0.711	0.244	1					
自由巯基 Free sulfhydryl	-0.934*	-0.970**	0.928*	-0.745	-0.407	-0.814	1				
表面疏水性 Surface hydrophobicity	-0.982**	-0.993**	0.966**	-0.822	-0.475	-0.873	0.980**	1			
溶解性 Solubility	-0.989**	-0.974**	0.923*	-0.960**	-0.71	-0.823	0.890*	0.948*	1		
乳化活性 Emulsifying activity	-0.986**	-0.984**	0.963**	-0.924*	-0.621	-0.877	0.928*	0.964**	0.983**	1	
乳化稳定性 Emulsifying stability	-0.838	-0.898*	0.808	-0.721	-0.496	-0.646	0.945*	0.884*	0.821	0.871	1

注: 相关性为 Pearson's 类型; \*, 显著相关 ( $P < 0.05$ ), \*\*, 极显著相关 ( $P < 0.01$ )。  
Note: the correlation is Pearson's type. \*, significant correlation ( $P < 0.05$ ), \*\*, extremely significant correlation ( $P < 0.01$ ).

2.10 DBD 等离子体处理对 CPI 的主成分分析

利用主成分分析进一步分析了等离子体处理不同时间对 CPI 结构、溶解性和乳化特性的影响。结果如图 8a 所示, 主成分 1 累计贡献率为 85.98%, 主要与自由巯基、表面疏水性、溶解度、乳化活性、乳化稳定性等因子有关, 主成分 1 与以上因子呈正相关关系, 主成分 2 累计贡献率

为 9.54%, 主要与  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -转角、 $\beta$ -折叠、表面疏水性、自由巯基等因子有关且呈正相关。在图 8b 中, 于主成分 1 平面而言, 空白对照组及等离子体处理 1、2 min 等因子分布在主成分 1 左侧, 等离子体处理 3、4 min 的因子分布在右侧, 因此延长等离子体处理时间至 4 min 对 CPI 的结构、溶解性、乳化特性具有更显著的影响<sup>[43]</sup>。

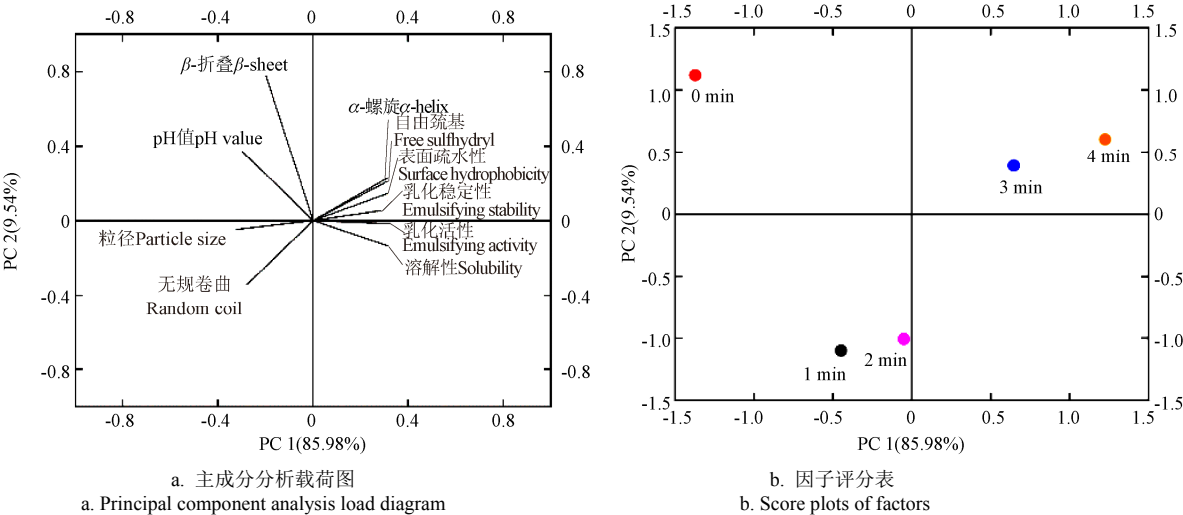


图 8 CPI 的主成分分析载荷图和因子评分表  
Fig.8 Load diagram of principal component analysis and score plots of factors of CPI

3 结 论

本文应用介质阻挡放电等离子体对鹰嘴豆分离蛋白进行改性处理。研究表明:

- 1) 等离子体释放出的高能粒子会破坏分子间的作用
- 2) 等离子体产生的活性物质会使蛋白质轻度氧化导

力, 使蛋白间的聚集度下降, 粒径减小, 增强蛋白质与水分子的水合作用, 蛋白溶解性从 75.60%显著增加到 92.90% ( $P < 0.05$ ), 与未处理组相比, 溶解性提高了 22.88%。



致蛋白质部分解折叠, 使埋藏在内部的疏水基团及更多的活性位点被暴露出来, 有利于蛋白分子更加牢固的吸附在油滴表面, CPI 的乳化活性指数从最初的  $29.61 \text{ m}^2/\text{g}$  增加到  $34.58 \text{ m}^2/\text{g}$  ( $P < 0.05$ ), 乳化稳定性也显著增加 ( $P < 0.05$ )。

3) 等离子体处理后, CPI 的二级结构发生改变, 等离子体作用破坏了部分氢键, 导致肽链展开, 构象变得疏松, 水分子更易进入蛋白质分子内部, 增强了蛋白质与水分子之间的相互作用, 表面疏水性及自由巯基等三级结构的变化进一步促进蛋白功能特性的改善。

4) 等离子体处理作为一种新型改性技术, 在提高蛋白功能性质方面发挥重要作用, CPI 经等离子体处理 4 min 后, 溶解性及乳化特性均得到明显改善, 对于开发良好性能的新型产品及指导实际生产实践具有重要意义。

#### [参 考 文 献]

- [1] Gao W R, Wang X S. Physicochemical and processing functional properties of proteins from two chinese chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars[J]. Journal of Food Processing & Preservation, 2010, 34(4): 575-594.
- [2] Faridy Juárez Chairez Milagros, Stephanie CidGallegos María, Gabriela MezaMárquez Ofelia, et al. Biological activities of chickpea in human health (*Cicer arietinum* L.). A review[J]. Plant foods for human nutrition, 2020, 75(2): 142-153.
- [3] Withana-Gamage T S, Wanasundara J P, Pietrasik Z, et al. Physicochemical, thermal and functional characterisation of protein isolates from Kabuli and Desi chickpea (*Cicer arietinum* L.): A comparative study with soy (*Glycine max*) and pea (*Pisum sativum* L.) [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(6): 1022-1031.
- [4] Gharibzahedi S M T, Smith B M. The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review[J]. Trends in Food Science and Technology, 2020, 98: 107-116.
- [5] Wang Y T, Wang Y J, Li K, et al. Effect of high intensity ultrasound on physicochemical, interfacial and gel properties of chickpea protein isolate[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 129: 109563.
- [6] Ozturk O K, Turasan H. Latest developments in the applications of microfluidization to modify the structure of macromolecules leading to improved physicochemical and functional properties[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, DOI: 10.1080/10408398.2021.1875981
- [7] 王俊鹏, 贺稚非, 李敏涵, 等. 冷等离子体技术在蛋白质改性中的应用研究进展 [J/OL]. 食品科学: 1-11[2021-02-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20201120.1516.093.html>. Wang Junpeng, He Zhifei, Li Minhan, et al. Recent progress on application of cold plasma technology in protein modification[J/OL]. Food Science (Transactions of the CSAE), 1-11[2021-02-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20201120.1516.093.html>. (in Chinese with English abstract)
- [8] Akharume F U, Aluko R E, Adedeji A A. Modification of plant proteins for improved functionality: A review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021, 20: 198-224.
- [9] Jahromi M, Niakousari M, Golmakani M T, et al. Effect of dielectric barrier discharge atmospheric cold plasma treatment on structural, thermal and techno-functional characteristics of sodium caseinate[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 66: 102542.
- [10] 李帅, 梁珊, 谷雨. 辉光放电低温等离子体改性大豆分离蛋白可食膜工艺优化[J]. 农业工程学报, 2018, 34(14): 280-287. Li Shuai, Liang Shan, Gu Yu. Process optimization of protein isolate edible films modified by glow discharge low temperature plasma treatment[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2018, 34(14): 280-287. (in Chinese with English abstract)
- [11] Muhammad A I, Xiang Q, Liao X, et al. Understanding the impact of nonthermal plasma on food constituents and microstructure: A review[J]. Food & Bioprocess Technology, 2018, 11(3): 463-486.
- [12] Juan M, Pérez-Andrés, Carlos Álvarez, et. al. Effect of cold plasma on the techno-functional properties of animal protein food ingredients[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2019, 58: 102205.
- [13] 季慧, 于娇娇, 张金, 等. 介质阻挡低温等离子处理对花生蛋白持水性及溶解性的影响[J]. 农业工程学报, 2019, 35(4): 299-304. Ji Hui, Yu Jiaojiao, Zhang Jin, et al. Effects of dielectric barrier discharge cold plasma treatment on solubility and water holding capacity of peanut protein[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2019, 35(4): 299-304. (in Chinese with English abstract)
- [14] 季慧. 低温等离子快速提高糖基化花生分离蛋白溶解性及乳化性[J]. 农业工程学报, 2020, 36(11): 289-295. Ji Hui. Rapid improvement in solubility and emulsification of glycation peanut protein isolate with non-thermal plasma (NTP)[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2020, 36(11): 289-295. (in Chinese with English abstract)
- [15] 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 & Emerging Technologies, 2019, 54: 1-8.
- [16] Nadia, Cullen J P, Misra N N, et al. Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of whey protein isolate model solution[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2015, 29: 247-254.

- [17] 李可, 李燕, 康超娣, 等. 常压等离子体射流对鸡肉肌原纤维蛋白结构和流变特性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(19): 124-131.
- Li Ke, Li Yan, Kang Chaodi, et al. Effect of atmospheric pressure plasma jet on structural and rheological properties of chicken myofibrillar protein[J]. Food Science, 2020, 41(19): 124-131. (in Chinese with English abstract)
- [18] Dong S, Wang J M, Chen Y. Behavior of zein in aqueous ethanol under atmospheric pressure cold plasma treatment[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(34): 7352-7360.
- [19] Hamed Mahdavian Mehr, Arash Koocheki. Effect of atmospheric cold plasma on structure, interfacial and emulsifying properties of Grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein isolate[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 106: 105899.
- [20] Juan M, Pérez-Andrés, Lvarez C, et al. Effect of cold plasma on the techno-functional properties of animal protein food ingredients[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2019, 58: 102205.
- [21] Ji H, Dong S, Han F L, 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.
- [22] Xiong Y L, Agyare K K, Addo K. Hydrolyzed wheat gluten suppresses transglutaminase-mediated gelation but improves emulsification of pork myofibrillar protein[J]. Meat Science, 2008, 80 (2): 535-544.
- [23] Papalamprou E M, Doxastakis G I, Biliaderis C G, et al. Influence of preparation methods on physicochemical and gelation properties of chickpea protein isolates[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(2): 337-343.
- [24] Chang Y W, Alli I, Molina A T, et al. Isolation and characterization of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed protein fractions[J]. Food & Bioprocess Technology, 2012, 5(2): 618-625.
- [25] 陈振家, 王晓闻, 荆旭, 等. 不同温度处理对红芸豆蛋白热稳定性及结构的影响[J]. 农业工程学报, 2020, 36(19): 306-312.
- Chen Zhenjia, Wang Xiaowen, Jing Xu, et al. Effects of different temperature treatments on thermal stability and structure of red kidney bean protein[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2020, 36(19): 306-312. (in Chinese with English abstract)
- [26] Li N, Yu J J, Jin N, et al. Modification of the physicochemical and structural characteristics of zein suspension by dielectric barrier discharge cold plasma treatment[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(8): 2452-2460.
- [27] Misra N N, Annalisa Segat. Cold plasma interactions with enzymes in foods and model systems[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 55: 39-47.
- [28] Choi S, Attri P, Lee I, et al. Structural and functional analysis of lysozyme after treatment with dielectric barrier discharge plasma and atmospheric pressure plasma jet[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 625-635.
- [29] Chandrapala J, Zisu B, Palmer M, et al. Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2011, 18(5): 951-957.
- [30] Dong S, Zhao Y, Li Y T, et al. Characterization of physicochemical and structural properties of atmospheric cold plasma (ACP) modified zein[J]. Food and Bioprocess Technology, 2017, 106: 65-74.
- [31] 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 & Bioprocess Technology, 2017, 10(3): 434-444.
- [32] Sante-Lhoutellier V, Aubry L, Gatellier P. Effect of oxidation on in vitro digestibility of skeletal muscle myofibrillar proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(13): 5343-5348.
- [33] Surowsky B. Chapter 7-Cold Plasma Interactions with Food Constituents in Liquid and Solid Food Matrices[M]. Cold Plasma in Food & Agriculture, 2016: 179-203. DOI: 10.1016/B978-0-12-801365-6.00007-X
- [34] Hyun-Joo Kim, Hae In Yong, Sanghoo Park, et al. Effects of dielectric barrier discharge plasma on pathogen inactivation and the physicochemical and sensory characteristics of pork loin[J]. Current Applied Physics, 2013, 13(7): 1420-1425.
- [35] Annalisa Segat, Misra N N, Cullen P J, et al. Effect of atmospheric pressure cold plasma (ACP) on activity and structure of alkaline phosphatase[J]. Food and Bioprocess Technology, 2016, 98, 181-188.
- [36] 邵俊花, 吴菊清, 周光宏, 等. 巯基和疏水性对蛋白质乳化及凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 155-159.
- Shao Junhua, Wu Juqing, Zhou Guanghong, et al. Effects of sulfhydryl content and hydrophobicity on gel and emulsifying properties of pork proteins[J]. Food Science, 2013, 34(23): 155-159. (in Chinese with English abstract)
- [37] 涂宗财, 张雪春, 刘成梅, 等. 超高压微射流对花生蛋白结构的影响[J]. 农业工程学报, 2008, 24(9): 306-308.
- Tu Zongcai, Zhang Xuechun, Liu Chengmei, et al. Effect of ultra-high pressure microfluidization on the structure of peanut protein[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2008, 24(9): 306-308. (in Chinese with English abstract)
- [38] Zhang T, Xue Y, Li Z, et al. Effects of ozone-induced oxidation on the physicochemical properties of myofibrillar proteins recovered from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*)[J]. Food and Bioprocess Technology, 2015, 8(1): 181-190.
- [39] Takai E, Kitamura T, Kuwabara J, et al. Chemical modification of amino acids by atmospheric-pressure cold



- plasma in aqueous solution[J]. *Journal of Physics D Applied Physics*, 2014, 47(28): 285403. DOI: 10.1088/0022-3727/47/28/285403
- [40] 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.
- [41] Dimitrakellis P, Gogolides E. Atmospheric plasma etching of polymers: A palette of applications in cleaning/ashing, pattern formation, nanotexturing and superhydrophobic surface fabrication[J]. *Microelectronic Engineering*, 2018, 194: 109-115.
- [42] Dong S, Guo P, Chen, Y, et al. Surface modification via atmospheric cold plasma (ACP): Improved functional properties and characterization of zein film[J]. *Industrial Crops and Products*, 2018, 115: 124-133.
- [43] Chen J, Zhang X, Xue S, et al. Effects of ultrasound frequency mode on myofibrillar protein structure and emulsifying properties[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 163: 1768-1779.

## Effect of plasma on solubility and emulsifying properties of chickpea protein isolates

Li Ke<sup>1,2</sup>, Tian Jinfeng<sup>1,2</sup>, Zheng Siyu<sup>1,2</sup>, He Yayue<sup>1,2</sup>, Xiang Qisen<sup>1,2</sup>, Bai Yanhong<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China; 2. Henan Key Laboratory of Cold Chain Food Quality and Safety Control, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Chickpea protein isolates (CPI) with high nutritional value have promise as a potential source of novel food ingredients, but the functional properties cannot meet the needs of the modern food industry. It is of great interest to know how dielectric barrier discharge (DBD) plasma treatments affect the properties of CPI. This work aimed to clarify the impact of DBD plasma treatments as a function of treatment times (0, 1, 2, 3, and 4 min) on the conformation, physicochemical, solubility, and emulsifying properties of CPI. Moreover, an evaluation was made on the relation of structural properties of DBD-treated CPI to functional properties. The parameters of CPI were measured, including the pH value, conductivity, particle size, the content of free sulfhydryl, surface hydrophobicity, secondary structures, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), solubility, emulsification activity, and stability. A scanning electron microscopy (SEM) was used to characterize the surface micromorphology of CPI treated by DBD plasma. The results showed that the pH decreased from 6.98 to 6.58, while the conductivity increased, with the increase of the treatment time from 0 to 4 min. The best solubility and emulsifying properties were achieved in the DBD plasma for 4 min, indicating DBD plasma was suitable for the increase in the solubility, emulsifying activity, and emulsion stability of CPI. Dynamic light scattering indicated a decrease in the mean particle diameter of CPI from 477 to 418 nm. The SDS-PAGE showed that the plasma treatment cannot change the composition and types of CPI, but the band intensity of 7S and 11S increased. The content of  $\alpha$ -helix increased significantly ( $P < 0.05$ ), while the content of the random coil decreased ( $P < 0.05$ ), indicating that the higher structure of the protein changed after plasma treatment. In addition, a combined analysis of reactive sulfhydryl content and surface hydrophobicity indicated that the CPI may undergo a conformation unfolding, thereby becoming looser and more flexible, and finally promoting the interactions of protein-water and protein-oil. SEM images showed that the sample size was reduced, while the surface structure became looser with the extension of treatment time. Pearson's correlation and principal component analysis showed that a strong correlation between the change of protein structure and the improvement of functional properties was obtained after DBD plasma treatments. It infers that the DBD plasma changed the conformational characteristics of CPI, enhancing solubility and emulsifying properties. The better solubility and emulsification properties of CPI can be achieved after plasma treatment for 4 min. The finding can provide technical support for the utilization of new chickpea protein products in the actual production.

**Keywords:** emulsification; solubility; chickpea protein isolates; low temperature plasma; structure; functional properties