

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2021.04.027

贮藏条件对核桃仁蛋白质品质的影响

Effect of storage conditions on protein quality of walnut kernel

彭 武¹ 王炜清² 王 萍³ 余雄伟⁴ 付琴利⁴ 李述刚¹PENG Wu¹ WANG Wei-qing² WANG Ping³ YU Xiong-wei⁴ FU Qing-li⁴ LI Shu-gang¹

(1. 合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230009; 2. 湖北工业大学生物工程与食品学院, 湖北 武汉 430068; 3. 塔里木大学, 新疆 阿拉尔 843300; 4. 武汉旭东食品有限公司, 湖北 武汉 430000)

(1. School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui 230009, China; 2. School of Biological Engineering and Food, Hubei University of Technology, Wuhan, Hubei 430068, China; 3. Tarim University, Alaer, Xinjiang 843300, China; 4. Wuhan Xudong Food Co., Ltd., Wuhan, Hubei 430000, China)

摘要:以核桃仁为研究对象,探讨了温度和真空度对其贮藏过程中蛋白质结构和功能的影响。结果表明:核桃仁蛋白质品质受温度和真空度影响显著,且温度>真空度,恒温(35℃)>室温(25℃)>冷藏(4℃);随着贮藏时间的延长,核桃仁蛋白质物质组成中游离巯基含量下降,二硫键、羰基化合物含量增加;由电泳和红外分析可知,核桃仁蛋白质发生了聚集现象,二级结构中 β -折叠和无规卷曲度比例上升, α -螺旋和 β -转角比例减少;在功能特性方面其表面疏水性上升,溶解度下降,消化特性发生了显著变化。

关键词:核桃仁;蛋白质;品质;贮藏条件;结构特性

Abstract: Walnut kernel was used to research the influence of temperature and vacuum degree on its protein structure and function properties. The results showed that the quality of walnut kernel protein was significantly affected by factors of temperature and vacuum, and the influence degree of these factors was valued as: temperature > vacuum, constant temperature (35℃) > room temperature (25℃) > refrigeration (4℃). Moreover, with the extension of storage time, the content of sulfhydryl groups in walnut kernel protein decreased, and the content of disulfide bonds and carbonyl compounds increased. The results obtained from electrophoresis and infrared analyses indicated that

the protein aggregation phenomenon occurred, and the ratio of β -sheet and random coils in the secondary structure increased, with the decrease of the ratio of α -helix to β -turn. In terms of functional properties, the surface hydrophobicity of walnut kernel protein increased, and solubility decreased, as well as its digestive properties significantly changed.

Keywords: walnut kernel; protein; quality; storage conditions; structural properties

2018年世界核桃总产量为3 662 507 t,中国的核桃总产量为1 586 367 t^[1],约占世界核桃总产量的1/2。核桃仁中富含维生素、矿物质、蛋白质以及脂质,其中约70%的脂质为不饱和脂肪酸,如油酸、亚油酸、亚麻酸等^[2-5]。食品加工中,由于核桃仁富含营养物质一直被作为功能性成分添加到食品中,如肉类、乳制品和烘焙类食品的加工等^[6]。

核桃仁蛋白质含18种人体所需的各种必需氨基酸,是一种营养均衡的重要植物蛋白质资源,其由清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白等组成^[7]。在贮藏过程中核桃仁蛋白易受到环境条件(如温度、光照、氧气含量等)的影响而造成其品质下降,姜莉等^[8]研究发现,温度对核桃仁蛋白的溶解性影响显著,当温度为55℃时其溶解性达到最大;曹灿等^[9]研究发现核桃蛋白在其等电点时乳化性最小而在碱性环境中其乳化性较好。

试验拟以核桃仁为研究对象,通过圆二色光谱和MALDI-TOF-MS等技术分析其贮藏过程中蛋白质理化组成、结构特性和消化产物变化规律,旨在揭示贮藏条件对核桃仁蛋白质营养与功能影响,为其贮藏保鲜与开发利用提供技术参考。

基金项目:国家自然科学基金(编号:31760477);北京工商大学北京市食品营养与人类健康高级创新中心开放项目(编号:20181007);合肥工业大学人才引进启动项目(编号:13020-03712020014)

作者简介:彭武,男,合肥工业大学在读硕士研究生。

通信作者:李述刚(1979—),男,合肥工业大学教授,博士生导师,博士。E-mail:lishugang2020@hfut.edu.cn

收稿日期:2021-01-16

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

核桃:温 185,新疆阿克苏地区;

5,5'-二硫代二硝基苯甲酸盐(DTNB)、2,4-二硝基苯肼(DNPH)、8-苯胺-1-萘磺酸(ANS):优级纯,美国 Sigma 公司;

二硫苏糖醇(DTT):分析纯,Aladdin 阿拉丁试剂公司;

其他试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

试验用水均为去离子水;

双光束紫外可见分光光度计:TU-1900 型,北京普析通用仪器有限责任公司;

荧光分光光度计:F-4600 型,日立高新技术(上海)国际贸易有限公司;

圆二色光谱仪:J-1500 型,日本 Jasco 公司;

傅里叶红外变换光谱仪:Nexus470 型,美国 Mettler 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理 核桃仁去壳烘干后分为真空包装和非真空包装两种包装方式,分别于(4.0±0.1),(35.0±0.1),(25.0±0.1)℃ 3 种温度下保存 9 个月,贮藏期间提取核桃仁蛋白进行各项指标的测定。

1.2.2 核桃仁蛋白的提取 参照 Liu 等^[10]的方法略修改。通过石油醚脱脂并用体积分数 95%乙醇洗涤得到脱脂核桃粉。将得到的脱脂核桃粉溶解于去离子水 $[m_{核桃粉} : V_{去离子水} = 1 : 20 (g/mL)]$ 中,用 1 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 11.0。30℃下搅拌 3 h,于 4℃、10 000 r/min 离心 15 min。取上清液,用 1 mol/L HCl 溶液调 pH 至 4.5,4℃、10 000 r/min 离心 15 min。用 1 mol/L NaOH 溶液将沉淀 pH 调至 7.0,4℃透析 3 d 去除杂质和多余试剂,冷冻干燥得到蛋白粉。

1.2.3 SDS-PAGE 电泳 将核桃仁蛋白溶液(1 mg/mL)与样品缓冲液以 $V_{核桃仁蛋白} : V_{缓冲液} = 1 : 1$ 混合。选择 4%的积层凝胶和 12%的分离凝胶进行电泳。样品进入分离凝胶后,先于 70 V 下电泳约 30 min,然后于 100 V 下电泳^[11]。

1.2.4 二硫键和游离巯基含量测定

(1) 巯基含量:参照 Zhao 等^[12]的方法并略改。取核桃仁蛋白粉 0.1 g 加入 30 mL 去离子水,磁力搅拌 2 h 后转移至 50 mL 容量瓶中定容。移取 1 mL 蛋白溶液(2 mg/mL)溶解于含有 5 mL 尿素溶液(8 mol/L、pH 8.0)的 Tris-甘氨酸缓冲液和 0.04 mL DTNB 溶液(4 mg/mL)中。25℃反应 1 h,测定 412 nm 处吸光度。按式(1)计算游离巯基含量。

$$C_{SH} = \frac{75.53 \times A_{412\text{ nm}} \times D}{C}, \quad (1)$$

式中:

C_{SH} ——游离巯基含量, $\mu\text{mol/g}$;

$A_{412\text{ nm}}$ ——蛋白质在 412 nm 处吸光度;

C ——样品质量浓度, mg/mL ;

D ——稀释因子。

(2) 二硫键含量:取 3.0 mL 含有 10 mmol/L DTT 的尿素溶液(8 mol/L)与 1.0 mL 的蛋白质溶液(2 mg/mL)混匀,25℃反应 1 h。添加 6 mL 体积分数为 12%的三氯乙酸(TCA)反应 1 h,将得到的蛋白质悬液于 4℃、10 000 r/min 离心 10 min。将沉淀加入到 9 mL 尿素(8 mol/L)溶液和 0.09 mL DTNB 溶液中。混匀,测定 412 nm 处吸光度。按式(2)计算二硫键含量。

$$C_{SS} = \frac{C_{SHT} - C_{SHF}}{2}, \quad (2)$$

式中:

C_{SS} ——二硫键含量, $\mu\text{mol/g}$;

C_{SHT} ——总巯基含量(包括游离 SH 和还原的 SS), $\mu\text{mol/g}$;

C_{SHF} ——游离巯基含量, $\mu\text{mol/g}$ 。

1.2.5 羰基化合物含量测定 参照 Shi 等^[13]的方法并略改。将 1 mL 蛋白溶液(2 mg/mL)加入到溶有 1 mL DNPH 溶液(10 mmol/L)的 2 mol/L HCl 中,室温黑暗条件下搅拌 1 h。加入 3 mL 20%的 TCA 用来沉淀蛋白质。用 1 mL 乙醇和乙酸乙酯($V_{乙醇} : V_{乙酸乙酯} = 1 : 1$)混合物洗涤沉淀物 3 次,于 3 mL 盐酸胍(6 mol/L)中 37℃下溶解 20 min。用不含蛋白的溶液作为空白对照组,测定 370 nm 处吸光度,按式(3)计算羰基化合物的浓度。

$$C_C = \frac{A_{370\text{ nm}} \times D}{C \times \epsilon_{370\text{ nm}}}, \quad (3)$$

式中:

C_C ——羰基含量, $\mu\text{mol/g}$;

$A_{370\text{ nm}}$ ——样品在 370 nm 处吸光度;

D ——稀释因子;

C ——蛋白质浓度, mg/mL ;

$\epsilon_{370\text{ nm}}$ ——DNPH 的摩尔消光系数,22 000。

1.2.6 圆二色光谱 用 20 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.0)将蛋白质溶液配置为 0.2 mg/mL 溶液,扫描范围为 190~250 nm。

1.2.7 蛋白质溶解度的测定 参照 Qu 等^[14]的方法并略修改。样品溶液(10 mg/mL)于室温下搅拌 2 h,8 000 r/min 离心 20 min,按式(4)计算上清液蛋白浓度。

$$S = \frac{C_1}{C_2} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

S ——蛋白质溶解度,%;

C_1 ——上清液中蛋白质含量, mg/mL ;

C_2 ——样品中蛋白质含量,mg/mL。

1.2.8 表面疏水性(H_o)的测定 参照 Hou 等^[15]的 ANS 探针法并略修改。将质量浓度为 1 mg/mL 的核桃仁蛋白溶液分别稀释至 0.001 25, 0.002 50, 0.005 00, 0.010 00, 0.020 00 mg/mL。取 20 μ L ANS 溶液 (8 mmol/L) 加入到 4 mL 蛋白溶液中混匀。激发波长 390 nm, 发射波长 470 nm, 激发和发射狭缝宽度均为 2.5 nm。以荧光强度为纵坐标, 蛋白质浓度为横坐标作图, 其斜率即为表面疏水性。

1.2.9 体外消化 参照 Orsini 等^[16]的方法并修改。采用胃蛋白酶对核桃仁蛋白进行消化分解, $m_{\text{胃蛋白酶}} : m_{\text{蛋白质}}$ 为 1 : 10, 将反应体系的 pH 调至 2.0, 37 $^{\circ}$ C 水浴 2 h, 加入 0.1 mol/L 的碳酸钠溶液灭酶, 6 000 r/min 离心 20 min, 上清液于 4 $^{\circ}$ C 贮藏。

(1) 水解度(DH)的测定: 参照 Chang 等^[17]的方法并修改。配制 40 mg/mL 的邻苯二醛(OPA)试剂(溶于甲醇), 依次加入十二烷基硫酸钠(SDS)溶液 2.5 mL、四硼酸钠溶液 25 mL、巯基乙醇 100 μ L, 加入去离子水定量至 50 mL。取 200 μ L 核桃仁蛋白溶液加入至 4 mL OPA 试剂中, 35 $^{\circ}$ C 反应 2 min, 测定 340 nm 处吸光度, 按式(5)计算水解度。

$$D_H = \frac{(A_1 - A_0) \times M}{\epsilon \times c \times N} \times 100\%, \quad (5)$$

式中:

D_H ——水解度, %;

A_1 ——水解样品的吸光度;

A_0 ——原样品的吸光度;

M ——核桃仁蛋白的平均分子量;

ϵ ——摩尔消光系数, 6 000 (mol \cdot cm)⁻¹;

c ——样品浓度;

N ——每个蛋白质分子的平均肽键数。

(2) MALDI-TOF-MS 分析: 利用 MALDI-TOF-MS 对体外消化产物上清液进行分析, 肽质量指纹图谱参数设置: 紫外波长 355 nm; 加速度电压 20 000 V; 最佳质量

分辨率 1 500 Da; 重复频率 200 Hz; 采集 60~7 000 Da 的信号。

1.2.10 数据处理及分析 所有试验重复 3 次, 使用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。结果以均数士标准差表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 蛋白质分子量分布

由图 1 可知, 核桃仁蛋白分子量主要分布在 35~70, 10~15 kDa; 且随着贮藏时间的延长, 分子量位于 10~15 kDa 处的蛋白波段逐渐变浅, 140 kDa 处的波段逐渐加深, 表明随着贮藏时间的增加, 核桃仁蛋白分子聚集度加大; 同时, 与非真空条件相比, 核桃仁蛋白在真空条件下聚集程度较低, 两种真空条件下, 4 $^{\circ}$ C 的聚集程度均低于 25 $^{\circ}$ C 和 35 $^{\circ}$ C 的。这可能是由于核桃仁蛋白分子在贮藏过程中结构被破坏, 蛋白质内部二硫键含量发生变化以及表面电荷的改变使得小分子肽之间发生聚集, 造成蛋白质聚集度上升, 而在真空或者冷藏条件下蛋白质结构被破坏的程度较低。

2.2 二硫键、游离巯基及羰基化合物含量变化

蛋白质游离巯基和二硫键含量的变化与蛋白质中的活性基团特别是半胱氨酸残基密切相关, 二硫键含量越高, 蛋白质结构更紧密, 其表面活性越差。由图 2(a)、图 2(b) 可知, 随着贮藏时间的延长, 核桃仁蛋白的游离巯基含量显著降低, 从 38.77 mol/g 下降至 8.55 mol/g, 而二硫键含量从 16.88 mol/g 增加到 36.40 mol/g; 真空条件下核桃仁蛋白质的二硫键、游离巯基含量的下降趋势缓于非真空条件; 两种真空条件下, 4 $^{\circ}$ C 时游离巯基含量的下降趋势最慢, 表明核桃仁蛋白在贮藏过程中结构被破坏, 暴露出了更多的活性基团(主要是疏水基团和半胱氨酸), 以及半胱氨酸和蛋氨酸残基, 其极易被氧化。而蛋白质中的游离巯基易受羟基自由基的影响, 会被氧化转化为分子内和分子间的二硫键^[18], 导致二硫键含量上升, 且真空和冷藏环境对于游离巯基的氧化具有抑制作用。

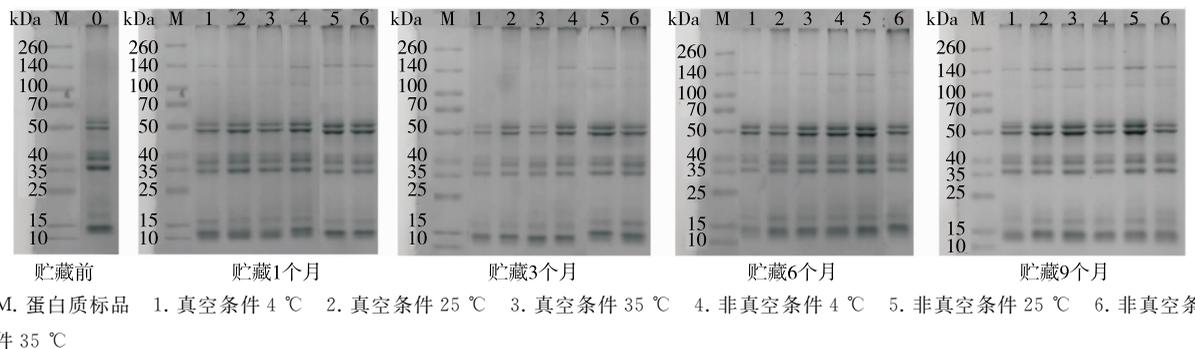


图 1 SDS-PAGE 电泳图

Figure 1 SDS-PAGE electropherogram

蛋白质的羰基化是非酶促不可逆反应,会造成蛋白质结构的损坏,导致蛋白质失去其原有的溶解性、表面疏水性等功能特性。由图 2(c)可知,核桃仁蛋白质中羰基化合物含量随贮藏时间的增加而增加;35 °C 非真空贮藏 9 个月后,核桃仁蛋白质的羰基含量从 0.11 mol/g 显著增加到 12.91 mol/g ($P < 0.05$);4 °C 真空贮藏 9 个月后,羰基化合物含量变化最小。这可能是由于蛋白质的 α -碳原子和氨基酸(赖氨酸、精氨酸、组氨酸、酪氨酸等)侧链易受自由基、脂质过氧化或中间产物的氧化;同时肽链可以通过断裂或非蛋白

成分结合形成羰基,使核桃仁蛋白质的羰基化合物含量在贮藏期间增大;而真空冷藏条件不利于羰基化合物的生成。

2.3 二级结构变化

由表 1 可知,随着贮藏时间的增加,蛋白质的 β -折叠和无规卷曲度上升, α -螺旋和 β -转角减少;真空条件下 4 °C 时二级结构的变化趋势最为缓慢,表明随着贮藏时间的增加,核桃仁蛋白质的二级结构发生了变化,即蛋白质结构趋向于无序松散状态,其稳定性逐渐降低;真空和冷藏环境对于蛋白质结构的变化具有减缓作用。

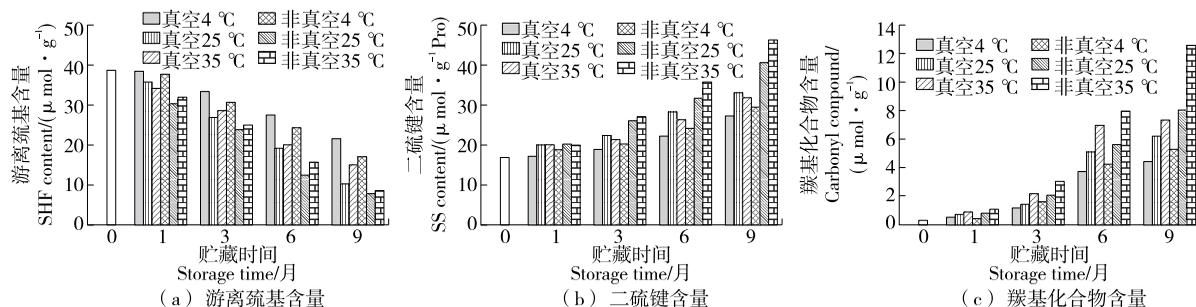


图 2 贮藏条件对游离巯基、二硫键及羰基化合物含量的影响

Figure 2 Influence of storage conditions on the content of SHF content, SS content, carbonyl compound

表 1 贮藏条件对核桃仁蛋白质二级结构的影响

Table 1 Influence of storage conditions on secondary structure of walnut kernel protein

贮藏时间/月	包装方式	温度/°C	α -螺旋/%	β -折叠/%	β -转角/%	无规卷曲/%
0	—	—	24.6±0.1	28.1±0.0	23.4±0.2	23.9±0.1
		4	24.0±0.1	28.7±0.1	22.0±0.1	25.3±0.0
		25	23.4±0.0	24.4±0.1	25.9±0.0	26.4±0.2
		35	22.6±0.2	32.0±0.2	20.6±0.1	24.8±0.1
1	真空	4	22.7±0.0	27.0±0.1	22.4±0.1	27.9±0.1
		25	21.2±0.1	35.5±0.1	18.3±0.1	25.1±0.0
		35	20.2±0.2	39.0±0.1	16.2±0.1	24.6±0.2
		4	22.3±0.0	34.8±0.2	17.3±0.0	25.7±0.1
3	非真空	25	24.1±0.2	31.4±0.1	17.1±0.1	27.3±0.0
		35	22.1±0.1	25.9±0.1	18.3±0.1	33.7±0.0
		4	26.4±0.1	24.5±0.0	18.3±0.0	30.7±0.1
		25	20.4±0.0	30.8±0.0	16.2±0.1	32.6±0.2
6	真空	35	20.5±0.2	30.9±0.1	18.0±0.0	30.6±0.1
		4	20.1±0.0	31.3±0.1	17.1±0.1	31.5±0.2
		25	22.1±0.1	24.7±0.0	18.5±0.2	34.7±0.1
		35	21.1±0.1	32.0±0.1	20.6±0.1	26.4±0.1
9	非真空	4	19.5±0.2	35.5±0.1	15.4±0.1	29.6±0.0
		25	18.0±0.1	29.6±0.0	22.6±0.0	29.8±0.1
		35	17.9±0.1	37.4±0.0	15.5±0.1	29.1±0.1
		4	22.0±0.1	37.9±0.1	10.8±0.1	29.3±0.0
9	真空	25	18.8±0.0	31.5±0.1	18.4±0.1	31.4±0.2
		35	18.5±0.1	33.1±0.1	15.6±0.0	32.7±0.0
		4	19.5±0.1	31.7±0.1	12.0±0.2	36.8±0.1
		25	16.2±0.0	41.8±0.2	12.3±0.0	29.7±0.1
9	非真空	35	17.9±0.1	35.0±0.0	14.5±0.1	32.7±0.1

2.4 蛋白质功能特性

2.4.1 溶解性 由图3可知,随着贮藏时间的延长,核桃仁蛋白质溶解度显著降低($P<0.05$)。非真空35℃时的溶解度降低得最多,贮藏9个月后蛋白质溶解度由25.63%降低至3.27%;真空4℃时的溶解度降低得最少,贮藏9个月后溶解度由25.63%降低至14.55%。溶解度的降低可能与蛋白质表面电荷的变化引起疏水作用的增强有关^[19-20]:① 聚集后的蛋白质表面电荷分布不均,亲水性片段较少,限制了蛋白质与水之间相互作用的频率,促进了蛋白质颗粒之间的聚集,最终降低了蛋白质的溶解性;② 由于蛋白质结构的破坏、疏水性基团的暴露进一步导致了蛋白质溶解度的降低,而真空和冷藏条件对于溶解度的降低具有阻碍作用。

2.4.2 表面疏水性 由图4可知,核桃仁蛋白质的表面疏水性随贮藏时间的增加而增加,其中非真空35℃下的表面疏水性增加得最多,从4 049.7增长至9 165.9;真空4℃下的表面疏水性增加得最低,由4 049.7增长至6 573.2。这可能是由于贮藏过程中蛋白质结构发生改变,将原本存在于内部的疏水性基团暴露在蛋白质表面从而增加了蛋白质的表面疏水性^[21];且真空和冷藏条件对于表面疏水性的上升具有阻碍作用。

2.4.3 体外消化特性

(1) 水解度:由图5可知,真空4℃时的水解度略有

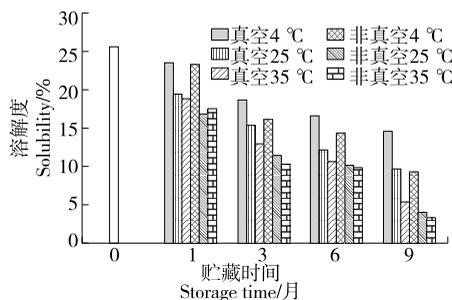


图3 贮藏条件对核桃仁蛋白质溶解度的影响

Figure 3 Influence of storage conditions on solubility of walnut kernel protein

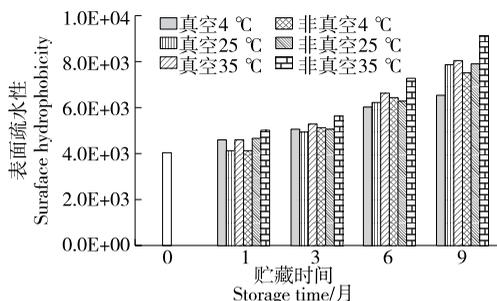


图4 贮藏期间核桃仁蛋白质表面疏水性的变化

Figure 4 Change of surface hydrophobicity in walnut kernel protein during storage

下降,而非真空35℃时的水解度下降最为显著,从47.28%下降至36.15%;说明较高的温度及非真空条件使得水解度的降低更为明显。水解度的下降可能是由于蛋白质分子的聚集,较高的温度和非真空环境会促进蛋白质分子聚集,降低胃蛋白酶作用位点,抑制胃蛋白酶活性^[22];此外蛋白质二级结构的改变也会导致蛋白质消化程度的改变,例如 β -折叠的含量与蛋白质体外消化率呈负相关关系^[23-24]。

(2) 消化产物:由图6可知,核桃仁蛋白质体外消化分解产物的初始阶段肽段主要集中在1 000~2 000 Da,与4℃贮藏的样品相比,非真空35℃下的低分子量肽分布较少,高分子量肽分布较多,肽段种类较丰富。这是由于核桃仁蛋白质分子随贮藏时间的延长而发生交联并产生聚集,掩盖了胃蛋白酶的裂解位点,因此核桃仁蛋白质聚集物难以被胃蛋白酶降解成小肽段,故核桃仁蛋白质消化肽段的分子量逐渐增加。

(3) 维恩图:由图7可知,真空条件下核桃仁蛋白质消化后鉴定出的独特多肽数分别为13 521,12 343,10 969,10 296;非真空条件下,独特肽段分别为13 886,12 377,10 114,5 497。由于消化率越高,其消化产物中独特的肽段越多。因此,贮藏方式对核桃仁蛋白质的消化特性影响较大,其中真空4℃下核桃仁蛋白质的消化率较高。

3 结论

随着贮藏时间的延长,6种贮藏方法下的核桃仁蛋白质的品质、结构和功能特性均发生了不同程度的变化,且温度与真空度对核桃仁蛋白质品质具有显著影响。贮藏期间,核桃仁蛋白质的二硫键含量和羰基化合物含量显著上升,游离巯基含量显著下降;蛋白质的结构在贮藏期间发生改变; β -折叠和无规卷曲度的比例上升, α -螺旋和 β -转角的比例下降,蛋白质结构总体上趋向于无序松散状态,非真空包装35℃下贮藏9个月后的核桃仁蛋白质的二级结构变化最为明显,其 α -螺旋下降至18.37%, β -折叠上升至32.94%。蛋白质功能特性方面:贮藏期间核桃仁

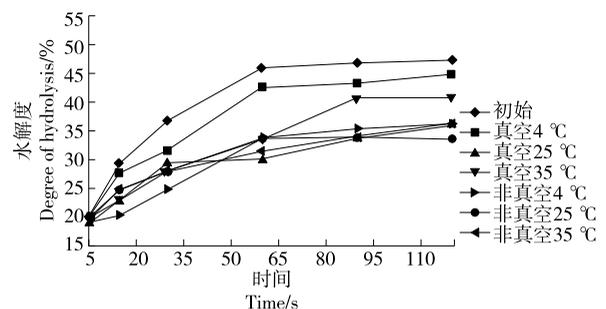


图5 核桃仁蛋白质的水解程度

Figure 5 The degree of hydrolysis of walnut kernel protein

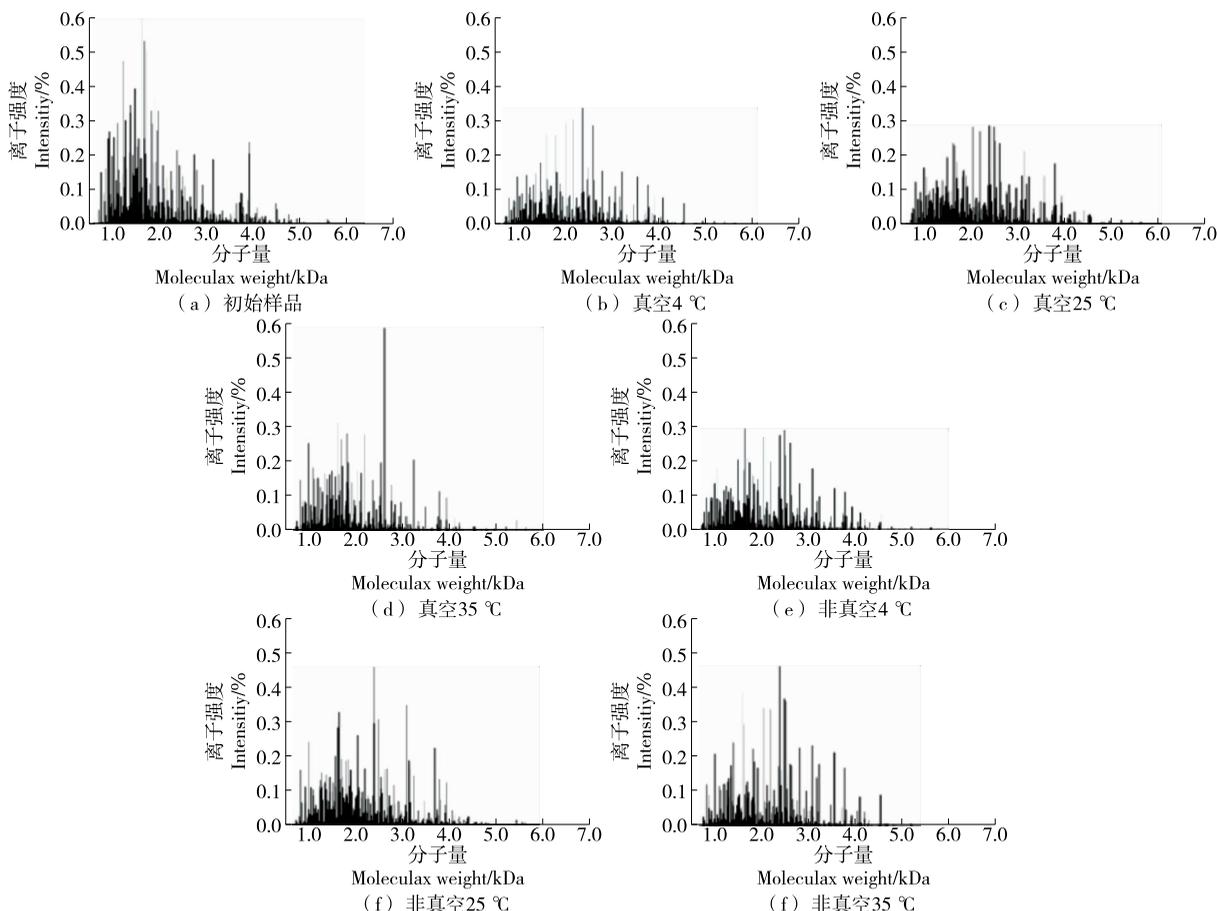


图 6 核桃仁蛋白质体外消化分解产物分子量分布

Figure 6 Molecular weight distribution of walnut kernel protein digestion and decomposition products in vitro

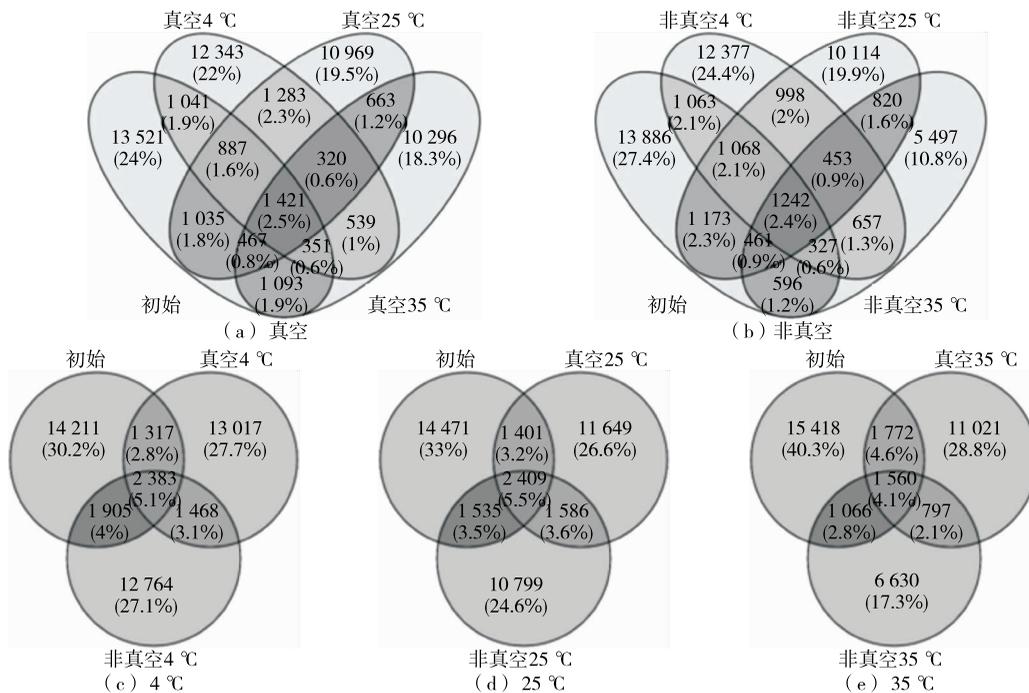


图 7 核桃仁蛋白质贮藏 9 个月后消化产物维恩图

Figure 7 Venn diagram of digested products of walnut kernel proteinin storage of 9 months

蛋白质由于其结构的破坏使得疏水性基团暴露导致表面疏水性增加,溶解度下降,其中非真空 35 ℃ 下的变化最为明显,表面疏水性从 4 049.7 增长至 9 165.9,而溶解度由 25.63% 降低至 3.27%;此外,核桃仁蛋白质聚集度的上升与蛋白质结构的改变掩盖了胃蛋白酶的作用位点,降低了核桃仁蛋白质的消化特性,且真空 4 ℃ 下贮藏的核桃仁蛋白质的消化率最好。后续可探究核桃仁蛋白质的品质变化机理及调控策略方法等,以提高其开发应用的广度和深度。

参考文献

- [1] Food and Agriculture Organization. FAOSTAT data [EB/OL]. [2020-11-03]. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- [2] GAO Pan, LIU Rui-jie, JIN Qing-zhe, et al. Comparison of solvents for extraction of walnut oils: Lipid yield, lipid compositions, minor-component content, and antioxidant capacity[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 110: 346-352.
- [3] GAO Pan, LIU Rui-jie, JIN Qing-zhe, et al. Comparative study of chemical compositions and antioxidant capacities of oils obtained from two species of walnut: *Juglans regia* and *Juglans sigillata*[J]. Food Chemistry, 2019, 279: 279-287.
- [4] GAO Pan, LIU Rui-jie, JIN Qing-zhe, et al. Comparison of different processing methods of Iron walnut oils (*Juglans sigillata*): Lipid yield, lipid compositions, minor components, and antioxidant capacity[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2018, 120: 1-9.
- [5] GAO Pan, JIN Jun, LIU Rui-jie, et al. Chemical compositions of walnut (*Juglans regia* L.) oils from different cultivated regions in China [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society (JAOCS), 2018, 95(7): 825-834.
- [6] SERRANO A, COFRADES S, RUIZ-CAPILLAS C, et al. Nutritional profile of restructured beef steak with added walnuts[J]. Meat Science, 2005, 70(4): 647-654.
- [7] LV Ying, WEI Kai-hua, MENG Xiao-guang, et al. Separation and identification of iron chelating peptides from defatted walnut flake by nanoLC-ESI-MS/MS and de novo sequencing[J]. Process Biochemistry, 2017, 59: 223-228.
- [8] 姜莉. 核桃渣制备核桃蛋白和多肽的研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2007: 18-19.
- [9] 曹灿. 不同处理条件对核桃蛋白特性的影响[D]. 西安: 陕西科技大学, 2018: 17-18.
- [10] LIU Feng-lan, WANG Xian-chang, ZHAO Xiao-yan, et al. Surface properties of walnut protein from AOT reverse micelles[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2014, 49(2): 626-633.
- [11] LASSÉ M, DEB-CHOUDHURY S, HAINES S, et al. The impact of pH, salt concentration and heat on digestibility and amino acid modification in egg white protein[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2015, 38: 42-48.
- [12] ZHAO Xiao-yan, LIU Hong-kai, ZHANG Xiao-wei, et al. Comparison of structures of walnut protein fractions obtained through reverse micelles and alkaline extraction with isoelectric precipitation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 125: 1 214-1 220.
- [13] SHI Jia-yi, WU Mei-dan, QUAN Meng-meng. Effects of protein oxidation on gelatinization characteristics during rice storage[J]. Journal of Cereal Science, 2017, 75: 228-233.
- [14] QU Wen-juan, ZHANG Xin-xin, HAN Xiao, et al. Structure and functional characteristics of rapeseed protein isolate-dextran conjugates[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82: 329-337.
- [15] HOU Fu-rong, DING Wen-hui, QU Wen-juan, et al. Alkali solution extraction of rice residue protein isolates: Influence of alkali concentration on protein functional, structural properties and lysinoalanine formation[J]. Food Chemistry, 2017, 218: 207-215.
- [16] ORSINI DELGADO M C, NARDO A, PAVLOVLE M. Identification and characterization of antioxidant peptides obtained by gastrointestinal digestion of amaranth proteins[J]. Food Chemistry, 2016, 197: 1 160-1 167.
- [17] CHANG Cui-hua, LI Xin, LI Jun-hua, et al. Effect of enzymatic hydrolysis on characteristics and synergistic efficiency of pectin on emulsifying properties of egg white protein[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 65: 87-95.
- [18] LI Chun-qi, XIONG You-ling L, CHEN Jie. Oxidation-induced unfolding facilitates Myosin cross-linking in myofibrillar protein by microbial transglutaminase[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(32): 8 020-8 027.
- [19] LADJAL-ETTOUMI Y, BOUDRIES H, CHIBANE M, et al. Pea, chickpea and lentil protein isolates: Physicochemical characterization and emulsifying properties[J]. Food Biophysics, 2016, 11(1): 43-51.
- [20] DAMODARA N, PARKIN K L, FENNEMA O R. Food chemistry[M]. 4th ed. New York: CRC Press, 2008, 146-149.
- [21] WANG Pei, TAO Han, WU Feng-feng, et al. Effect of frozen storage on the foaming properties of wheat gliadin[J]. Food Chemistry, 2014, 164: 44-49.
- [22] CHEN Nan-nan, ZHAO Mou-ming, SUN Wei-zheng. Effect of protein oxidation on the in vitro digestibility of soy protein isolate[J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 3 224-3 229.
- [23] CARBONARO M, MASELLI P, NUCARA A. Structural aspects of legume proteins and nutraceutical properties[J]. Food Research International, 2015, 76: 19-30.
- [24] YANG Yong, WANG Zhong-jiang, WANG Rui, et al. Secondary structure and subunit composition of soy protein in vitro digested by pepsin and its relation with digestibility[J]. Biomed Research International, 2016, 54: 1-11.