

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.08.002

# 高强度超声对鹰嘴豆分离蛋白结构和功能特性的影响

Effect of high intensity ultrasound on structural and functional properties of chickpea protein isolate

望运滔<sup>1,2,3</sup>王莹娟<sup>1,2,3</sup>田金凤<sup>1,2,3</sup>WANG Yun-tao<sup>1,2,3</sup> WANG Ying-juan<sup>1,2,3</sup> TIAN Jin-feng<sup>1,2,3</sup>白艳红<sup>1,2,3</sup>赵电波<sup>1,2,3</sup>BAI Yan-hong<sup>1,2,3</sup> ZHAO Dian-bo<sup>1,2,3</sup>

(1. 郑州轻工业大学食品与生物工程学院, 河南 郑州 450000; 2. 河南省冷链食品质量安全控制重点实验室, 河南 郑州 450000; 3. 河南省食品生产与安全协同创新中心, 河南 郑州 450000)

(1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou, Henan 450000, China; 2. Henan Key Laboratory of Cold Chain Food Quality and Safety Control, Zhengzhou, Henan 450000, China; 3. Henan Collaborative Innovation Center for Food Production and Safety, Zhengzhou, Henan 450000, China)

**摘要:**考察了超声时间(5, 10, 20 min)对鹰嘴豆分离蛋白理化和功能特性的影响。结果表明, 超声处理后鹰嘴豆分离蛋白的乳化性得到明显改善, 溶解度由 7.5 mg/mL 增加至 9.2 mg/mL, 起泡性显著增强, 最大值为 163.33%; 热诱导蛋白凝胶的保水性由 58.40% 增加至 75.75%, 破裂力由 75.7 g 增加至 254.3 g; 鹰嘴豆分离蛋白的自由巯基含量、表面疏水性、表面电势逐渐增大, 粒径逐渐减小; 随着超声时间的延长, 鹰嘴豆分离蛋白的  $\alpha$ -螺旋含量升高,  $\beta$ -折叠含量降低, 内源荧光强度降低, 最大发射波长红移 5 nm, 表明超声处理改变了鹰嘴豆蛋白的二级和三级结构。综上, 高强度超声处理通过改变鹰嘴豆分离蛋白的结构从而改变其功能性质。

**关键词:**超声; 鹰嘴豆分离蛋白; 结构; 功能特性

**Abstract:** In order to improve the functional properties of chickpea protein isolate (CPI), CPI was treated with high intensity ultrasound (HIU) under 450 W for different time (5, 10, 20 min). The emulsifying property of protein was improved obviously by ultrasonic treatment, the solubility of CPI was significantly increased from 7.5 mg/mL to 9.2 mg/mL, and the

foaming capacity of CPI was increased to a maximum value of 163.33%. Moreover, the water holding capacity and breaking force of the heat induced CPI gel significantly increased from 58.40% to 75.75%, and 75.7 g to 254.3 g. HIU increased the  $\alpha$ -helix content and decreased the  $\beta$ -sheet content of CPI. Moreover, HIU decreased the endogenous fluorescence intensity of the protein and the emission wavelength was red shifted by 5 nm, suggesting that HIU changed the secondary and tertiary structure of CPI. In addition, after ultrasonic treatment, the free sulfhydryl content, surface hydrophobicity and surface potential of CPI were increased. The particle size of CPI gradually decreased with extension of ultrasonic time. These results demonstrate the relationship between the structure and functional properties of CPI.

**Keywords:** ultrasonic; chickpea protein isolate; structure; functional properties

消费者对植物蛋白食品原料的兴趣日益增强<sup>[1]</sup>, 其中鹰嘴豆蛋白可作为大豆蛋白的潜在替代品<sup>[2]</sup>。鹰嘴豆主要分布于新疆、青海、甘肃和云南等地<sup>[3]</sup>, 其分离蛋白具有产量高、成本低、必需氨基酸组成平衡性好、生物利用度高、致敏性低等优点<sup>[4-6]</sup>, 而植物蛋白的功能特性会影响其在食品工业中的应用<sup>[2]</sup>。Boye 等<sup>[7]</sup>研究表明, 鹰嘴豆分离蛋白具有有限的功能特性。

超声技术是一项新兴的绿色技术, 已被广泛应用于各个领域<sup>[8-10]</sup>, 其超声波通常被分为高频率低场强和低

**基金项目:**国家自然科学基金(编号:31801588); 河南省科技攻关项目(编号:202102110294, 202102110295)

**作者简介:**望运滔, 男, 郑州轻工业大学讲师, 博士。

**通信作者:**赵电波(1975—), 男, 郑州轻工业大学副教授, 硕士。

E-mail: zhaodb212@163.com

**收稿日期:**2020-04-08

频率高场强两种范围。高频率低场强通常指频率为 0.1~1.0 MHz, 场强 < 1 W/cm<sup>2</sup>, 低强度超声常用于评价食品的理化性质, 如酸度、糖含量、硬度、成熟度等<sup>[11]</sup>; 低频率高场强是指频率为 20~100 kHz, 场强为 10~1 000 W/cm<sup>2</sup>, 高强度超声产生的空化作用和机械效应可以改变食品的物理和化学性质<sup>[11-12]</sup>。研究表明, 高强度超声对卵清蛋白<sup>[13]</sup>、肌原纤维蛋白<sup>[14]</sup>、大豆蛋白<sup>[15]</sup>等蛋白质结构和功能性质存在影响, 且差异显著。例如, 超声处理对卵清蛋白乳化性无明显影响<sup>[10]</sup>, 但能显著提高鸡肉肌原纤维蛋白的乳化性<sup>[14]</sup>。此外, 超声处理可增加大豆分离蛋白自由巯基含量<sup>[15]</sup>, 同时减少牛血清蛋白自由巯基含量<sup>[16]</sup>。试验拟探讨高强度超声对鹰嘴豆分离蛋白结构和功能特性的影响, 旨在为生产具有特定功能性质的鹰嘴豆分离蛋白提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

卡布里鹰嘴豆 (*Cicer arietinum* Linn.): 云南省文州自治州丘北市天星乡;

正己烷、氢氧化钠、盐酸: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司;

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、十二烷基硫酸钠、甘氨酸、5,5-二巯基-2,2-二硝基苯甲酸: 上海源叶生物科技有限公司。

#### 1.1.2 主要仪器设备

分析天平: AB265-S 型, 梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

电子天平: JA3003N 型, 上海菁海仪器有限公司;

锤式实验粉碎磨: LM3100 型, 伊伊西科技(北京)有限公司;

水浴锅: HH-42 型, 常州万科仪器科技有限公司;

质构分析仪: TA-XT Plus 型, 英国 Stable Micro System 公司;

冷冻干燥机: Lab-1-50 型, 北京博医康实验仪器有限公司;

超声波破碎仪: VC-750 型, 美国 SONICS 公司;

纳米粒度电位仪: Zetasizer Nano ZS 型, 英国马尔文仪器设备有限公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 鹰嘴豆分离蛋白的提取 将鹰嘴豆于 50 °C 烘箱中烘干, 粉碎, 过 80 目筛, 采用正己烷脱脂, 得脱脂粉。采用碱溶酸沉法提取鹰嘴豆分离蛋白, 透析, 冷冻干燥, 得鹰嘴豆蛋白粉末。其蛋白质含量为 81.9%, 灰分为 3.8%, 水分为 6.3%, 脂肪为 1.9%。

1.2.2 超声处理 配置质量分数为 8% 的鹰嘴豆分离蛋

白溶液, 采用超声设备对其进行超声处理, 冷冻干燥, 备用。超声波探头直径 13 mm, 频率 20 kHz, 功率 450 W, 超声时间分别为 5, 10, 20 min; 脉冲工作时间 2 s, 间歇时间 4 s。

#### 1.2.3 鹰嘴豆分离蛋白理化性质测定

(1) 溶解度: 根据文献<sup>[17]</sup>略作修改。将 1% 的蛋白悬浊液于 8 000 r/min 离心 15 min, 取 1 mL 上清液加入到 4 mL 双缩脲试剂中, 混匀, 避光反应 30 min, 测定 540 nm 处吸光率。

(2) 粒径和电位: 配置浓度为 1 mg/mL 的鹰嘴豆分离蛋白溶液, 采用激光粒度仪测量鹰嘴豆分离蛋白粒径和 zeta 电位。

#### 1.2.4 蛋白质界面性质测定

(1) 乳化性: 取 1% 的蛋白溶液 15 mL, 加入 5 mL 大豆油, 10 000 r/min 高速搅拌 2 min, 制备乳液。立即取 100 μL 乳液加入至 5 mL 0.1% SDS 溶液中, 振荡混匀, 测定 500 nm 处吸光度。乳液静置 10 min 后, 取 100 μL 乳液至 5 mL 0.1% SDS 溶液中, 振荡混匀, 测定吸光度。按式(1)、(2)计算乳化活性和乳化稳定性<sup>[18]</sup>。

$$EAI = \frac{2 \times 2.303 \times N \times A_0}{c \times \theta \times 10\,000}, \quad (1)$$

$$ESI = \frac{A_0}{A_{10} - A_0} \times t, \quad (2)$$

式中:

EAI —— 乳化性, m<sup>2</sup>/g;

ESI —— 乳化稳定性, min;

N —— 稀释倍数;

A<sub>0</sub> —— 0 min 时吸光度;

A<sub>10</sub> —— 10 min 时吸光度;

c —— 蛋白浓度, g/mL;

θ —— 油体积分数。

(2) 起泡性和泡沫稳定性: 取 5% 的鹰嘴豆分离蛋白分散液 15 mL, 8 000 r/min 均质 2 min(均质 20 s 停 20 s, 共 6 次), 然后快速转入量筒中, 分别记录 2, 30 min 时泡沫体积<sup>[13]</sup>。按式(3)、(4)计算起泡性和泡沫稳定性。

$$FA = \frac{V_0}{15} \times 100\%, \quad (3)$$

$$FS = \frac{V_{30}}{V_0} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

FA —— 起泡性, %;

FS —— 泡沫稳定性, %;

V<sub>0</sub> —— 2 min 时泡沫体积, mL;

V<sub>30</sub> —— 30 min 时泡沫体积, mL。

#### 1.2.5 蛋白质凝胶性质测定

(1) 凝胶保水性: 配置质量分数为 14% 的鹰嘴豆分离蛋白溶液, 90 °C 水浴 1 h, 冷却, 于 4 °C 冷藏过夜。将制

备好的凝胶于 8 000 r/min 离心 15 min,用滤纸拭干凝胶表面水分,称重,按式(5)计算持水量。

$$WHC = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%, \quad (5)$$

式中:

WHC——保水性,%;

$m_1$ ——初始凝胶质量,g;

$m_2$ ——离心后凝胶质量,g。

(2) 凝胶破裂力:使用质构仪和 P/0.5 柱形铝探针进行测量。预试速度 1.0 mm/s,测试速度 1.0 mm/s,上试速度 2.0 mm/s,测试距离 10.0 mm,触发力 10 g。

### 1.2.6 超声处理对鹰嘴豆分离蛋白结构的影响

(1) SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳:制备 12% 分离胶和 5% 浓缩胶,将 40  $\mu$ L 浓度为 4 mg/mL 的鹰嘴豆分离蛋白溶液加至 40  $\mu$ L 还原液中,震荡混匀,100  $^{\circ}$ C 水浴 5 min,冷却。取 10  $\mu$ L 混合物加至浓缩凝胶中,80 V 下电泳 30 min,再 110 V 电泳 1.5 h,用考马斯亮蓝 G250 染色 30 min,脱色。

(2) 圆二色谱:用磷酸缓冲液(10 mmol/L,pH 7)配制浓度为 1 mg/mL 的鹰嘴豆分离蛋白溶液。10 000 r/min 离心 15 min,采用双缩脲试剂法测定上清液蛋白溶解度。将蛋白用磷酸盐缓冲液稀释至 0.1 mg/mL,带宽 1.0 nm,光谱测量范围 190~260 nm<sup>[13]</sup>。

(3) 内源荧光:鹰嘴豆分离蛋白(0.1 mg/mL)的制备方法同 1.2.6(1),激发波长 290 nm,发射波长 298~400 nm,发射狭缝宽度 2.5 nm,扫描速度 1 200 nm/min。

(4) 表面疏水性:根据文献[16]并修改。用磷酸缓冲液(0.01 mol/L,pH 7)配置浓度为 1 mg/mL 的鹰嘴豆分离蛋白溶液,并分别稀释至 0.100,0.050,0.025,0.005,0.001 mg/mL。将 ANS 溶于磷酸缓冲液(0.01 mol/L,pH 7),取 30  $\mu$ L ANS 溶液加至 3 mL 蛋白溶液中,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。

(5) 自由巯基:取 0.1 g 鹰嘴豆分离蛋白溶于 50 mL

Tris-HCl 缓冲液(含 86 mmol/L Tris,90 mmol/L 甘氨酸,4 mmol/L DTNB,pH 8),用磁力搅拌器搅拌 30 min,10 000 r/min 离心 15 min。取 50  $\mu$ L DTNB 溶液(4 mg/mL)加至 5 mL 蛋白上清液中,避光反应 15 min,测定 412 nm 处吸光度。按式(6)计算巯基。

$$SH = \frac{75.53 \times D \times A}{C}, \quad (6)$$

式中:

SH——巯基, $\mu$ mol/g;

D——稀释倍数;

C——蛋白浓度,g/mL;

A——412 nm 处反应液与蛋白空白溶液吸光度的差值。

1.2.7 数据处理 所有试验重复 3 次,数据用平均值士标准差表示。采用 Origin 9 软件作图。采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,利用单因素方差分析(ANOVA)对数据进行统计分析,采用 Duncan's 方法对均值进行多重比较分析,字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 对鹰嘴豆分离蛋白理化性质的影响

2.1.1 溶解度 由图 1(a)可知,超声处理可显著提高鹰嘴豆分离蛋白溶解度,且随超声处理时间的延长而增大。当超声时间为 20 min 时,鹰嘴豆分离蛋白溶解度达最大值 9.2 mg/mL。超声的空化和机械效应可将粒径较大的蛋白质聚集体解聚成粒径较小的蛋白质颗粒,从而降低蛋白质聚集体粒径,增强蛋白质与水的相互作用,使蛋白质溶解度增加<sup>[19]</sup>。

2.1.2 粒径 由图 1(b)可知,超声处理降低了鹰嘴豆分离蛋白团聚体在溶液中的粒径,是由于超声处理过程中产生的空化、剪切力和湍流作用加速了蛋白质团聚体的碰撞和聚集速度,不稳定的蛋白质团聚体被解聚成更小的蛋白质颗粒<sup>[20]</sup>。此外,超声处理过程中产生的能量破坏了蛋白质的非共价相互作用,如氢键和疏水相互作用,从而降低蛋白质分子间作用力,进而降低蛋白质颗粒的

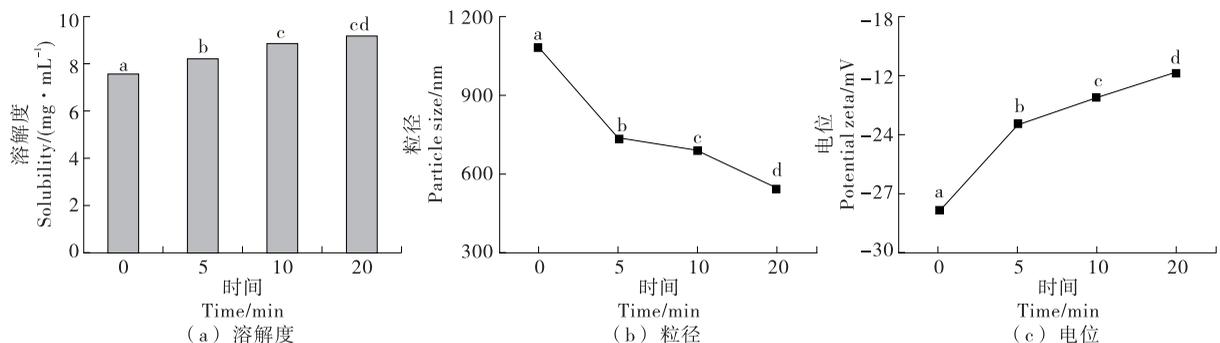


图 1 超声处理对鹰嘴豆分离蛋白理化性质的影响

Figure 1 Effects of ultrasonic treatment on physicochemical properties of chickpea protein isolates

粒径<sup>[21]</sup>。

2.1.3 电位 由图 1(c)可知,高强度超声处理使蛋白质表面净电荷的绝对值降低,表明超声处理使鹰嘴豆分离蛋白基团的电离程度减弱,可能是因为超声处理过程中暴露了更多的正电荷基团,中和了蛋白质表面的部分负电荷<sup>[22]</sup>。此外,亲疏水基团之间的平衡也会影响蛋白质的表面电荷<sup>[13]</sup>。

## 2.2 对鹰嘴豆分离蛋白界面性质的影响

2.2.1 泡沫性质 由图 2(a)可知,鹰嘴豆分离蛋白起泡性随超声时间的增加显著增强,而泡沫稳定性无明显变化。当超声时间为 20 min 时,起泡性达最大值 163.33%,是未处理组的 2.33 倍,可能是因为超声的空化作用降低了鹰嘴豆分离蛋白分子的聚集程度,从而增强了蛋白质的柔韧性,使鹰嘴豆分离蛋白更容易吸附在气-水界面<sup>[13]</sup>。Xiong 等<sup>[13]</sup>研究表明表面疏水性的增加和表面净电荷的减少有利于增强蛋白质的起泡性。

2.2.2 乳化性 由图 2(b)可知,超声处理后鹰嘴豆分离蛋白的乳化活性略高于未处理组,可能是由于蛋白质结构和表面基因发生了变化。此外,溶解度的增加也有助于改善蛋白质的乳化活性,因为更多的可溶性团聚会使蛋白质与水之间的相互作用增强,使蛋白质在油水界

面迅速扩散和吸收,从而有利于提高蛋白质在油水界面的吸附能力<sup>[23-24]</sup>。

## 2.3 对鹰嘴豆分离蛋白凝胶特性的影响

2.3.1 凝胶破裂力 由图 3(a)可知,与未处理组相比,热诱导凝胶的破裂力随超声时间的延长而增大,可能是因为超声预处理改变了蛋白质的非共价相互作用。一方面,溶解度的增加会产生更多的可溶性蛋白团聚体,这些团聚体加热后会形成密度更大的蛋白凝胶网络。此外,粒径的减小会使凝胶网络结构更加致密均匀,进一步提高其凝胶破裂力。另一方面,超声处理后,鹰嘴豆分离蛋白溶液在加热形成凝胶时产生更多的二硫键<sup>[10]</sup>,使凝胶结构更加稳定,凝胶破裂力增强<sup>[25]</sup>。

2.3.2 保水性 由图 3(b)可知,凝胶保水性随超声时间的延长而增大。超声处理后,鹰嘴豆分离蛋白溶解度增大,粒径减小,从而使凝胶网密度增大,结构更加致密,蛋白凝胶能结合更多水<sup>[26]</sup>。

## 2.4 对鹰嘴豆分离蛋白结构的影响

2.4.1 电泳 还原条件下,鹰嘴豆分离蛋白的主要亚基结构分别是 convicilin 和 vicilin<sup>[27]</sup>。由图 4 可知,70 kDa 处条带代表的是 aconvicilin<sup>[27-29]</sup>,50 kDa 处条带代表的是 vicilin;超声处理组与未超声处理组的鹰嘴豆分离蛋白

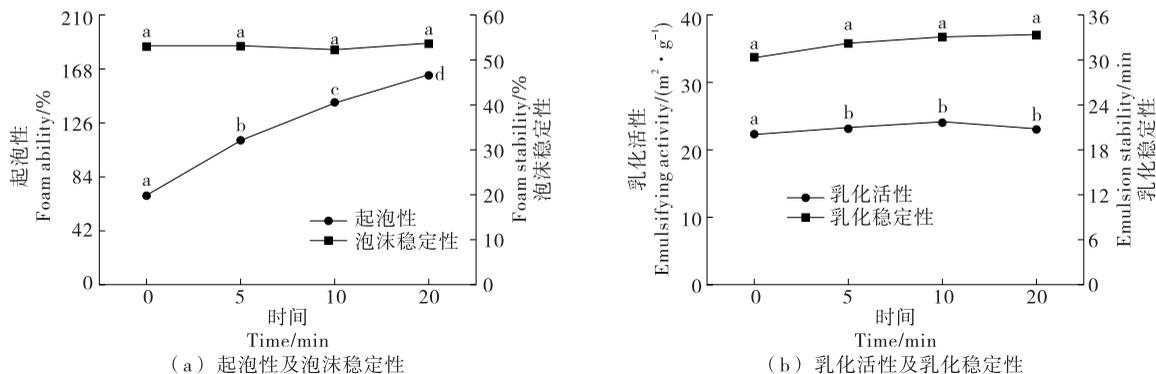


Figure 2 Effects of ultrasonic treatment on the interfacial properties of chickpea isolates

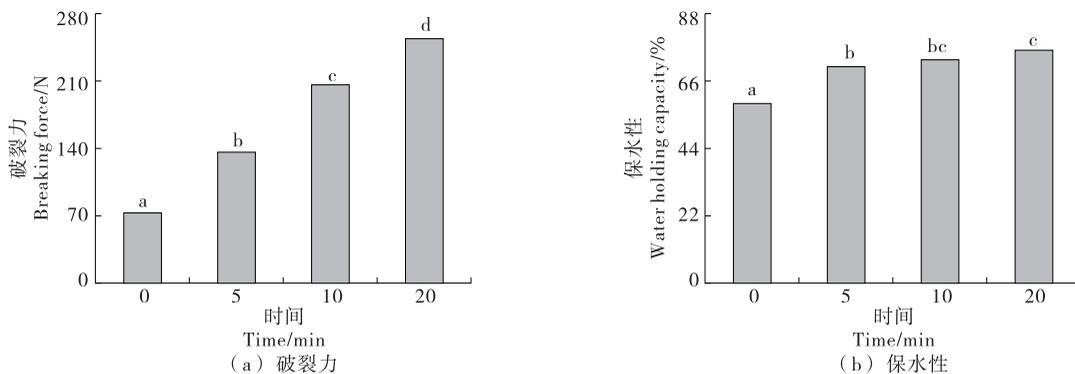
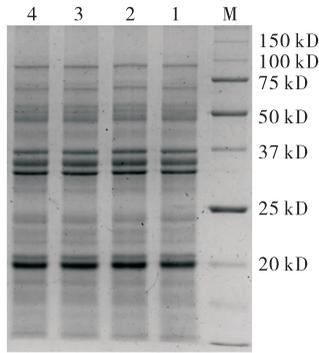


Figure 3 Effect of HIU on gel properties of CPI



M. 蛋白 Marker 1. 超声 0 min 2. 超声 5 min 3. 超声 10 min 4. 超声 20 min

图 4 鹰嘴豆分离蛋白还原条件下的 SDS-PAGE 电泳图谱  
Figure 4 SDS-PAGE electrophoretic profiles of CPI under reducing condition

之间的条带差异不显著,说明超声处理并没有改变蛋白亚基的种类、数量和分子量<sup>[13]</sup>。

2.4.2 圆二色谱 由表 1 和图 5(a)可知,相比于未处理组,超声处理后鹰嘴豆分离蛋白的圆二色谱峰值强度略有增强。未处理组的  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角和无规则卷曲含量分别为 17.7%、32.5%、16.5%、33.0%。超声处理后,鹰嘴豆分离蛋白的  $\alpha$ -螺旋含量略有增加, $\beta$ -折叠含量减少, $\beta$ -转角和无规则卷曲含量无显著变化,与 Vere 等<sup>[30]</sup>的结论一致。而 Zhu 等<sup>[23]</sup>研究发现超声处理使蛋白质的  $\beta$ -折叠含量增多, $\alpha$ -螺旋含量减少,可能是由于超

表 1 超声时间对鹰嘴豆分离蛋白二级结构的影响

Table 1 Effects of different ultrasonic time on secondary structure of chickpea protein

超声时间/min	$\alpha$ -螺旋/%	$\beta$ -折叠/%	$\beta$ -转角/%	无规则卷曲/%
0	17.7±0.9 <sup>a</sup>	32.5±1.5 <sup>a</sup>	16.5±0.2 <sup>a</sup>	33.0±0.7 <sup>a</sup>
5	20.2±0.5 <sup>b</sup>	30.7±0.4 <sup>b</sup>	16.8±0.2 <sup>a</sup>	32.7±0.9 <sup>a</sup>
10	18.8±0.5 <sup>b</sup>	31.4±1.1 <sup>b</sup>	16.5±0.1 <sup>a</sup>	33.6±0.6 <sup>a</sup>
20	19.5±0.9 <sup>b</sup>	29.2±1.3 <sup>b</sup>	16.6±0.1 <sup>a</sup>	33.9±0.5 <sup>a</sup>

声条件和蛋白质类型的不同所致。综上,高强度超声处理改变了鹰嘴豆分离蛋白的二级结构。

2.4.3 内源荧光 由图 5(b)可知,未处理组的最大荧光强度波长为 326 nm,超声处理后该波长为 331 nm,表明超声处理使蛋白的发射波长红移 5 nm,发射波长红移可以反映蛋白质构象的变化,说明位于蛋白质内部的芳香氨基酸分子侧链基团逐渐暴露于水溶液中,其环境极性逐渐增大;超声处理后鹰嘴豆分离蛋白的荧光强度降低。综上,超声处理改变了蛋白质的三级结构。

2.4.4 巯基 由图 5(c)可知,游离巯基含量随超声时间的延长先增加后减少,是由于原本位于鹰嘴豆分离蛋白内部的巯基经超声处理后逐渐暴露于蛋白分子表面,从而使巯基含量增加;但随着超声时间的继续延长,游离巯基含量逐渐减小,主要是因为长时间高强度超声处理会

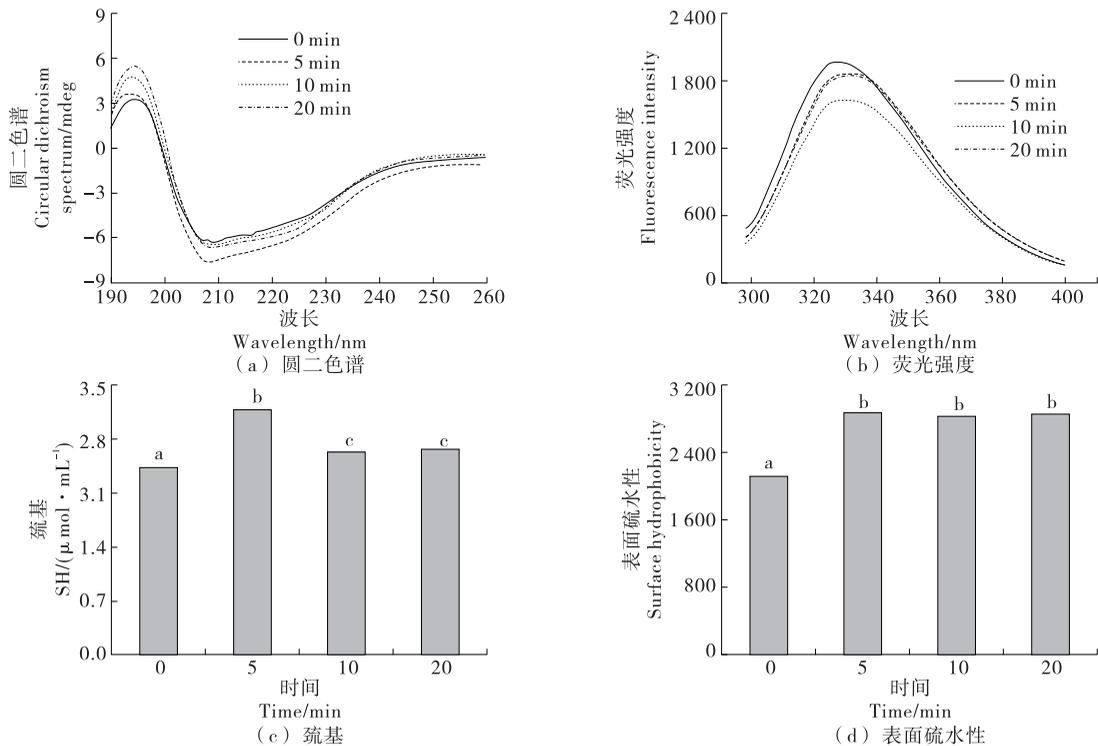


图 5 超声处理对鹰嘴豆分离蛋白结构的影响

Figure 5 Effect of ultrasonic treatment on the structure of chickpea isolates

产生过氧化氢,使游离巯基被氧化,进而降低游离巯基含量<sup>[16]</sup>。蛋白质中游离巯基含量反映了其空间结构的变化,巯基含量增多,证明蛋白质结构展开,蛋白质分子柔性增加,进而有利于蛋白质溶解性和乳化性的提高,并且在热诱导凝胶形成过程中,游离巯基可以转化为二硫键,二硫键是维持凝胶形成的主要作用力,有利于形成致密的网状结构,进而有助于提高鹰嘴豆分离蛋白凝胶的保水性和破裂力。

2.4.5 表面疏水性 由图 5(d)可知,超声处理后鹰嘴豆分离蛋白的表面疏水性高于未处理组。蛋白质表面疏水性的增加可以提高蛋白质在油—水和气—水界面的吸附特性,从而有利于改善蛋白质的乳化性和起泡性。

### 3 结论

450 W 高强度超声可以显著改善鹰嘴豆分离蛋白的溶解度、乳化性、起泡性以及热致凝胶性。此外,超声处理使蛋白的表面游离巯基含量和表面疏水性显著增大,粒径和电位绝对值显著降低,并且改变了蛋白质的二级和三级结构。试验研究了高强度超声处理对鹰嘴豆蛋白功能性质的影响,而未详细研究此处理改变功能性质的机制,因此后续研究应进一步详细深化此部分研究。

#### 参考文献

- [1] ZHANG Tao, JIANG Bo, MU Wen-meng, et al. Emulsifying properties of chickpea protein isolates: Influence of pH and NaCl[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(1): 146-152.
- [2] 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.
- [3] 张俊杰, 郭晨, 刘毅飞, 等. 响应面法优化卡布里鹰嘴豆蛋白提取工艺[J]. 食品工业科技, 2018, 39(17): 167-172.
- [4] TORRES-FUENTES C, ALAIZ M, VIOQUE J. Affinity purification and characterization of chelating peptides from chickpea protein hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2011, 129(2): 485-490.
- [5] XING Qin-hui, DEKKER S, KYRIAKOPOULOU K, et al. Enhanced nutritional value of chickpea protein concentrate by dry separation and solid state fermentation[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 59: 102269.
- [6] ZHANG Tao, LI Yan-hong, MIAO Ming, et al. Purification and characterization of a new antioxidant peptide from chickpea (*Cicerarietium* L.) protein hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2011, 128(1): 28-33.
- [7] BOYE J I, AKSAY S, ROUFIK S, et al. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques[J]. Food Research International, 2010, 43(2): 537-546.
- [8] GAO Xian-li, LIU Er-meng, ZHANG Jun-ke, et al. Effects of sonication during moromi fermentation on antioxidant activities of compounds in raw soy sauce [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 116: 108605.
- [9] GAO Xin-li, ZHANG Jun-ke, LIU Er-meng, et al. Enhancing the taste of raw soy sauce using low intensity ultrasound treatment during moromi fermentation[J]. Food Chemistry, 2019, 298: 124928.
- [10] HU Hao, FAN Xin, ZHOU Zhi, et al. Acid-induced gelation behavior of soybean protein isolate with high intensity ultrasonic pre-treatments[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20(1): 187-195.
- [11] MUDASIR A M, HARISH K S, CHARANJIV S S. High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal; Effect on physicochemical and functional properties[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 39: 511-519.
- [12] 颜辉, 张琦, 聂旭东, 等. 超声预处理对麦胚蛋白结构的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(4): 13-17.
- [13] XIONG Wen-fei, WANG Yun-tao, ZHANG Chun-lan, et al. High intensity ultrasound modified ovalbumin: Structure, interface and gelation properties[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016, 31: 302-309.
- [14] LI Ke, FU Lei, ZHAO Ying-ying, et al. Use of high-intensity ultrasound to improve emulsifying properties of chicken myofibrillar protein and enhance the rheological properties and stability of the emulsion[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 98: 105275.
- [15] HU Hao, WU Jia-hui, LI-CHAN E C Y, et al. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(2): 647-655.
- [16] GULSEREN I, GUZEY D, BRUCE B D, et al. Structural and functional changes in ultrasonicated bovine serum albumin solutions [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2007, 14(2): 173-183.
- [17] JI Hui, DONG Shuang, HAN Fei, et al. Effects of dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma treatment on physicochemical and functional properties of peanut protein[J]. Food and Bioprocess Technology, 2017, 11: 344-354.
- [18] GHRIBI A M, GAFSI I M, BLECKER C, et al. Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates[J]. Journal of Food Engineering, 2015, 165: 179-188.
- [19] 刁小琴, 关海宁, 乔秀丽, 等. 超声波处理对猪肉肌原纤维蛋白理化及乳化特性的影响[J]. 食品与机械, 2019, 35(4): 26-30, 36.

(下转第 71 页)

制图法评定得到的不确定度结果是准确可靠的。

### 3 结论

通过 Top-down 控制图法评定大葱中铅含量测定不确定评估可知,实验室利用日常质控工作中积累的质控数据即可完成测量不确定度的评定,相较于传统的 GUM 法,Top-down 控制图法避免了复杂分量的计算,其可操作性强且实用便捷<sup>[14-15]</sup>。该方法无法对样品采集、样品储存等环节所引入的不确定度进行评定,为后续研究指明了方向。

#### 参考文献

[1] 黄坤, 王会霞, 范小龙, 等. 超高液相色谱—串联质谱法测定炒货中组胺含量的不确定度评定[J]. 食品与机械, 2019, 35(8): 64-68.

[2] 闫顺华, 叶青, 韩璠焯, 等. GC-MS/MS 法测定白酒中 3 种塑化剂含量的不确定度评定[J]. 食品与机械, 2018, 34(12): 43-48.

[3] 国家质量监督检验检疫总局. JJF 1059.2—2012 用蒙特卡洛法评定测量不确定度[S]. 北京: 中国计量出版社, 2012.

[4] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL027:2016 化学分析实验室内部质量控制指南—控制图的应用[S]. 北京: 中国计量出版社, 2016.

[5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 27407—2010 实验室质量控制利用统计质量保证和控制图技术评价分析测量系统的性能[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.

[6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 27411—2012 检测实验室中常用不确定度评定方法与表示[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.

[7] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL022:2018 基于质控数据环境检测测量不确定度评定指南[S]. 北京: 中国计量出版社, 2018.

[8] 杨映华. Top-down 控制图法评定天然橡胶塑性值测量不确定度[J]. 橡胶工业, 2019, 34(5): 708-711.

[9] 程刚, 赵峰, 胡炜, 等. Top-down 技术控制图法评定电感耦合等离子体质谱法测定菠菜中铜含量的不确定度[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(11): 4 220-4 224.

[10] 毛慧, 姚军, 吴晶, 等. Top-down 技术控制图法评定 ICP-MS 方法测定水中铜的不确定度[J]. 现代农业科技, 2017, 34(9): 168-176.

[11] 金萍, 结莉, 金晓红, 等. 控制图法评定食品中菌落总数检测的不确定度[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(4): 969-972.

[12] 陈子凡. 自上而下法评定固相酶联免疫吸附法测定食用植物油中黄曲霉素 B<sub>1</sub> 的不确定度[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(6): 2 226-2 230.

[13] 李强, 杨天邦, 黄雪华, 等. 质控图法评定测量不确定度在 X 射线荧光光谱法分析领域的应用[J]. 分析仪器, 2015(4): 66-70.

[14] 洪小棚, 王玉, 吴莉, 等. 基于蒙特卡洛法的药品 PH 测量不确定度评定[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(8): 671-674.

[15] 盛昆, 杨劲松, 李春香, 等. 质控图法评定测量不确定度在水泥化学分析领域的应用[J]. 建材质检研究, 2019, 9(2): 43-44.

(上接第 14 页)

[20] WEN Chao-ting, ZHANG Ji-xian, YAO Hui, et al. Advances in renewable plant-derived protein source: The structure, physicochemical properties affected by ultrasonication[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2019, 53: 83-98.

[21] MA Wu-chao, WANG Jia-mei, XU Xian-bin, et al. Ultrasound treatment improved the physicochemical characteristics of cod protein and enhanced the stability of oil-in-water emulsion[J]. Food Research International, 2019, 121: 247-256.

[22] CHEN Yin-xia, SHENG Long, GOUDA M, et al. Impact of ultrasound treatment on the foaming and physicochemical properties of egg white during cold storage[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 113: 108303.

[23] ZHU Zhen-bao, ZHU Wei-duo, YI Jian-hua, et al. Effects of sonication on the physicochemical and functional properties of walnut protein isolate[J]. Food Research International, 2018, 106: 853-861.

[24] 望运滔, 王营娟, 白艳红. 预处理技术改善蛋白质乳化性研究进展[J]. 食品与机械, 2020, 36(5): 211-215.

[25] 吴倩, 张丽芬, 陈复生. 超声波对蛋白质提取及改性影响的研究进展[J]. 食品与机械, 2015, 31(4): 256-259.

[26] QIN Xin-sheng, LUO Shui-zhong, CAI Jing, et al. Trans-

glutaminase-induced gelation properties of soy protein isolate and wheat gluten mixtures with high intensity ultrasonic pretreatment[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016, 31: 590-597.

[27] SERRANO-SANDOVAL N S N, GUARDADO-FELIX D, GUTIERREZ-URIBE J A. Changes in digestibility of proteins from chickpeas (*Cicer arietinum* L.) germinated in presence of selenium and antioxidant capacity of hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2019, 285: 290-295.

[28] MOSER P, NICOLETTI V P, DRESCH S, et al. Functional properties of chickpea protein-pectin interfacial complex in buriti oil emulsions and spray dried microcapsules[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 107: 105929.

[29] GLUSAC J, SIVAN I O, FISHMAN A. Transglutaminase modifies the physical stability and digestibility of chickpea protein-stabilized oil-in-water emulsions [J]. Food Chemistry, 2020, 315(15): 126301.

[30] VERE A, VALENZUELA M, AALENZUELA M, et al. Abugoch, conformational and physicochemical properties of quinoa proteins affected by different conditions of high-intensity ultrasound treatments[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2019, 51: 186-196.