



崔冰冰,周彦芳,朱宸言,等.等离子体活化水处理对类PSE鸡肉分离蛋白氧化和消化特性的影响[J].轻工学报,2025,40(6):20-30.
CUI B B, ZHOU Y F, ZHU C Y, et al. Effect of plasma-activated water treatment on the oxidation and digestion characteristics of PSE-like chicken protein isolate[J]. Journal of Light Industry, 2025, 40(6): 20-30.
DOI: 10.12187/2025.06.003

等离子体活化水处理对类PSE鸡肉分离蛋白氧化和消化特性的影响

崔冰冰¹,周彦芳¹,朱宸言¹,李可^{1,2},陈博^{1,2},杜曼婷^{1,2},赵电波^{1,2},白艳红^{1,2}

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;

2. 冷链食品加工与安全控制教育部重点实验室,河南 郑州 450001

摘要:【目的】探究等离子体活化水(Plasma-activated Water, PAW)处理对类PSE鸡肉分离蛋白(Pale, Soft, Exudative-like Chicken Protein Isolate, PPI)氧化特性和体外消化行为的影响。【方法】从类PSE鸡肉中提取PPI并用不同激活时间的PAW进行处理,研究PAW处理前后PPI的自由基信号强度、紫外吸收光谱、羰基等含量及体外消化产物的体外蛋白质消化率(IVPD)、肽含量等的变化。【结果】随着激活时间的延长,PAW的pH值显著降低,氧化还原电位(ORP)、电导率及NO₂⁻含量均显著增加($P<0.05$);PAW处理能显著增强PPI的自由基信号强度和紫外吸收强度,显著增加羰基和二聚酪氨酸含量,显著降低游离氨基和游离巯基含量($P<0.05$),其中PPI₄₀的羰基含量是PPI₀的3倍,游离巯基含量较PPI₀降低了53.7%;显著增加PPI体外消化产物的IVPD、肽和人体必需氨基酸含量($P<0.05$),其中PPI₄₀的IVPD较PPI₀提升了25.15%。【结论】PAW处理可促进PPI氧化,改善PPI的消化特性。

关键词:类PSE鸡肉分离蛋白;等离子体活化水;氧化特性;消化特性

中图分类号:TS251.1 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1553(2025)06-0020-11

0 引言

类PSE(Pale, Soft, Exudative-like, PSE-like)鸡肉属于异质肉,是一种功能失调的鸡肉,通常因宰前热应激或宰后温度较高而呈现苍白、松软和渗水的状态^[1]。尽管类PSE鸡肉的品质欠佳,但类PSE鸡肉分离蛋白(PSE-like Chicken Protein Isolate, PPI)氨基酸均衡,仍是一种较好的蛋白质来源^[1]。

然而,PPI存在消化率较低、溶解性和持水性较差等问题^[2],这限制了其在禽肉加工业中的高值化利用。

等离子体是一种由电子、正离子、中性粒子、自由基等多种成分构成的离子化状态气体,能够诱导蛋白质结构发生改变,进而改善蛋白质的功能特性^[3-4]。其中介质阻挡等离子体^[4]、大气压等离子体射流^[5]等传统等离子体处理直接作用于食品表

收稿日期:2025-04-03;修回日期:2025-06-23;出版日期:2025-12-15

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32372382);河南省高校科技创新人才支持计划项目(25HASTIT039)

作者简介:崔冰冰(2000—),女,河南省开封市人,郑州轻工业大学硕士研究生,主要研究方向为食品蛋白质加工与功能。E-mail: cuibingbing0302@163.com

通信作者:李可(1986—),男,山东省济南市人,郑州轻工业大学教授,博士,主要研究方向为肉品加工与质量控制。E-mail: xc_like@163.com

面,易导致食品表面物质累积,可能引发蛋白质过度氧化,且难以均匀处理体积大或表面纹理不均匀的食品。等离子体活化水(Plasma-activated Water, PAW)通过等离子体射流压缩空气并电离溶液获得,富含 NO_3^- 、 NO_2^- 、 H_2O_2 、活性氧(ROS)等活性物质,能够实现更均匀的蛋白质氧化修饰。研究^[6-7]表明,PAW处理可显著增加蛋白质的羰基含量,降低游离巯基含量,并可诱导蛋白质分子发生交联,形成聚集体。M. M. Poojary等^[7]研究发现,氧化可促进蛋白质结构展开,增加暴露的切割位点数量,进而提高蛋白质的消化率。目前,关于PAW的研究主要集中在抑菌特性及对蛋白质结构的调控方面,而对类PSE鸡肉等异质肉的蛋白质氧化和消化特性的研究鲜有报道。

鉴于此,本文拟在解析不同激活时间PAW理化性质的基础上,使用PAW处理PPI,通过检测自由基信号强度、羰基含量、紫外吸收强度等,结合体外消化模拟实验系统评估PAW处理对PPI氧化和消化特性的影响,以期为PAW在异质肉蛋白质高值化利用中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

类PSE鸡胸肉,亮度值(L^*)>53,24 h时的pH值<5.7,购于河南省某鸡肉企业;金龙鱼大豆油,益海嘉里金龙鱼食品集团;NaOH、HCl、 Na_2HPO_4 、 NaH_2PO_4 等,山东鼎欣生物科技有限公司;5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物(DMPO)、2,4-二硝基苯肼(DNPH)、三氯乙酸、邻苯二甲醛(OPA)、二硫苏糖醇、十二烷基硫酸钠(SDS)、四硼酸钠、二聚酪氨酸、磺基水杨酸、胃蛋白酶(>3000 U/mg),上海麦克林试剂有限公司;盐酸胍、L-亮氨酸、胰蛋白酶(>2500 U/mg),上海阿拉丁试剂有限公司;S0138S游离巯基检测试剂盒(DTNB法),上海碧云天生物技术有限公司;BC1485-50T/48S亚硝酸盐试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;甲醇,天津市富宇精化化工有限公司。除特别注明外,上述试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

SZ-22A型绞肉机,广州旭众机械有限公司;

Ultra T25型高速匀浆机,德国IKA公司;PHS-3C型pH计、DDS-307A型电导率仪,上海仪电科学仪器股份有限公司;DP29131型氧化还原电位计,北京亚欧德鹏科技有限公司;VC750型超声波破碎仪,美国Sonic有限公司;AvantiJ-26S XPI型大容量高速冷冻离心机,美国Beckman Coulter公司;Lab-1-50型冻干机,北京博医康仪器有限公司;TU-1810型紫外-分光光度计,北京通用仪器有限公司;F-7000型荧光分光光度计,日立有限公司;TS-PL-200型常压等离子体实验装置,东信高科有限公司;HH-42型水浴锅,常州国华电器有限公司;20M/*Tecan Spark型酶标仪,深圳市恩科生物科技有限公司;S433D型全自动氨基酸分析仪,德国Sykam公司。

1.3 实验方法

1.3.1 PPI提取 取类PSE鸡胸肉,去除结缔组织和脂肪,切割成2 cm×2 cm×2 cm的小块置于绞肉机中,于3000 r/min、20 s/次条件下重复处理4次后,分装于包装袋中,于-20 ℃条件下冷冻保存,并于一周内完成实验。

参考李可等^[1]的方法,取100 g冷冻保存的类PSE鸡胸肉样品,在4 ℃条件下解冻12 h,放入预冷绞肉机中,于4000 r/min、20 s/次条件下重复处理2次;将获得的肉糜与4 ℃预冷去离子水按料液比1:6(mg/mL)混合,并于10 000 r/min条件下均质处理1 min;用2 mol/L的NaOH溶液将混合物的pH值调至11.0后,在4 ℃条件下静置10 min,以确保体系稳定;取150 mL上述混合物于250 mL烧杯中,将直径为13 mm、功率为450 W的超声波探头插入液面下1.5 cm处,超声波处理10 min。应注意的是,烧杯全程需置于冰水浴中,以维持温度的稳定性。超声波处理后,于4 ℃、10 000 r/min条件下离心15 min,收集含有可溶性蛋白质的上清液,用2 mol/L的HCl溶液将其pH值调至5.5;在4 ℃条件下静置过夜,使蛋白质充分沉淀,再于10 000 r/min条件下离心15 min,收集沉淀物,重新溶于去离子水中,用1 mol/L的NaOH溶液将其pH值调至中性;通过冷冻干燥,即可获得PPI,分装于自封袋中,置于-20 ℃冰箱中保存,备用。

1.3.2 PAW制备 参考李可等^[8]的方法,采用常

压等离子体实验装置,通过气泵将空气输送至低温等离子体发生器的放电腔室内,将产生的低温等离子体与 PBS 缓冲液(含 0.6 mol/L NaCl、20 mmol/L Na₂HPO₄/NaH₂PO₄,pH 值为 7,下同)发生反应,并将等离子体喷射喷嘴置于 PBS 缓冲液上方约 4 cm 处,用等离子体射流分别激活 0 s、10 s、20 s、30 s 和 40 s,制备 PAW₀、PAW₁₀、PAW₂₀、PAW₃₀ 和 PAW₄₀,备用。

1.3.3 PAW 理化性质测定

1)pH 值测定。使用 pH 计测定 PAW 的 pH 值。

2) 氧化还原电位(Oxidation-reduction Potential, *ORP*)测定。使用氧化还原电位计测定 PAW 的 *ORP*。

3) 电导率测定。用等量的纯净水将 PAW 稀释 20 倍,通过电导率仪测定 PAW 的电导率。

4) NO₂⁻ 含量测定。采用亚硝酸盐试剂盒测定 PAW 中的 NO₂⁻ 含量。

1.3.4 PAW 处理 PPI 分别用不同激活时间 PAW

将 PPI 稀释至 60 mg/mL,命名为 PPI₀、PPI₁₀、PPI₂₀、PPI₃₀ 和 PPI₄₀。使用前需 4 ℃ 孵育 24 h,且后续指标测定均用 PBS 缓冲液将其稀释至不同质量浓度以满足指标测定要求。

1.3.5 自由基信号强度检测 吸取 4 mL 不同激活时间 PAW,加入 160 μL 500 mmol/L 的 DMPO 溶液后,用该液体将 PPI 稀释至 30 mg/mL,立即进行电子顺磁共振波谱(Electron Paramagnetic Resonance Spectrometer, EPR)检测,场强为 3520 G,调制幅度为 2 G,微波频率为 9.8 GHz,扫描宽度为 200 G^[9]。

1.3.6 紫外吸收光谱检测 用 PBS 缓冲液将不同激活时间 PAW 处理后的 PPI 稀释至 5 mg/mL 后,参考 W. Rao 等^[6]的方法,使用紫外-分光光度计在 230~350 nm 内对稀释液进行全波长扫描,获得紫外吸收光谱,用吸光度表征紫外吸收强度。使用 Origin 2021 处理紫外吸收光谱,获得二阶导数图谱。280~300 nm 的紫外二阶导数图谱可用于检测酪氨酸微环境中的蛋白质构象变化,并用 *a* 和 *b* 分别代表 2 个主峰的峰谷值,再根据公式 $r = a/b$ 求 *r* 值^[10]。

1.3.7 羰基、游离巯基、游离氨基和二聚酪氨酸含量测定

1) 羰基含量测定。用 PBS 缓冲液将不同

激活时间 PAW 处理后的 PPI 稀释至 5 mg/mL 后,取 100 μL 稀释液加入 400 μL 10 mmol/L 的 DNPH 溶液;对照组加入 400 μL 2 mol/L HCl 溶液,其他操作保持一致。将混合液涡旋混匀 1 min,并在 37 ℃ 条件下避光反应 30 min;加入 500 μL 0.2 g/L 的三氯乙酸溶液,于 4 ℃、12 000 r/min 条件下离心 10 min,弃上清液;用 1000 μL 乙酸乙酯-乙醇混合溶液(乙酸乙酯与乙醇体积比为 1:1)洗涤沉淀 4 次后,加入 1250 μL 6 mol/L 盐酸胍溶液(将 29 g 盐酸胍溶于 50 mL PBS 缓冲液中, pH 值为 6.5),混匀;在 37 ℃ 水浴中反应 15 min,再涡旋混匀 1 min 后,于 12 000 r/min 条件下离心 15 min,收集上清液,用紫外-分光光度计测定其在 370 nm 波长处的吸光度^[11]。

2) 游离巯基含量测定。用 PBS 缓冲液将不同激活时间 PAW 处理后的 PPI 稀释至 5 mg/mL,用游离巯基检测试剂盒测定游离巯基含量。

3) 游离氨基含量测定。参考李可等^[12]的方法,将 80 mg OPA 在避光条件下溶解于 2 mL 甲醇中,再加入 88 mg 二硫苏糖醇、0.1 g SDS 和 1.906 8 g 四硼酸钠,用蒸馏水定容至 100 mL,得到 OPA 试剂,存放于棕色容量瓶中。用 PBS 缓冲液将不同激活时间 PAW 处理后的 PPI 稀释至 2 mg/mL 后,取 400 μL 稀释液加入 3 mL OPA 试剂中,充分混合,于 35 ℃ 条件下反应 2 min 后,在 340 nm 波长处测其吸光度。根据 L-亮氨酸标准曲线,计算经不同激活时间 PAW 处理后的 PPI 样品中游离氨基的含量。

4) 二聚酪氨酸含量测定。用 PBS 缓冲液将不同激活时间 PAW 处理后的 PPI 稀释至 1 mg/mL,采用荧光光度法测定二聚酪氨酸含量。测试条件设定为:狭缝宽度 10 nm,发射波长 420 nm,激发波长 325 nm。二聚酪氨酸含量通过吸光度与蛋白质质量浓度的比值进行表征。

1.3.8 体外消化模拟实验 参照 B. L. Sun 等^[13]的方法,用 PBS 缓冲液将不同激活时间 PAW 处理后的 PPI 稀释至 10 mg/mL,并用 1 mol/L 的 HCl 溶液将其 pH 值调至 2.0,加入 1 mL 40 mg/mL 的胃蛋白酶溶液(将胃蛋白酶溶于 0.1 mol/L 的 HCl 溶液

中),在37℃、150 r/min条件下振荡孵育1.0 h;用1 mol/L的NaHCO₃溶液将胃消化液的pH值调至7.0,加入1 mL 10 mg/mL的胰蛋白酶溶液(将胰蛋白酶溶于0.01 mmol/L的PBS缓冲液中),再在37℃、150 r/min条件下振荡孵育2.0 h;将肠消化液置于沸水浴中10 min,终止消化反应。

1)体外蛋白质消化率(*In vitro* Protein Digestibility, IVPD)测定。分别将0.5~3.0 h的胃、肠消化液在4℃、8000 r/min条件下离心10 min,收集上清液并冷冻干燥,备用。采用双缩脲法测定该上清液中的蛋白质含量。IVPD按下式计算:

$$IVPD = \frac{A}{B} \times 100\%$$

式中,B为消化前样品中的蛋白质质量/mg,A为消化后上清液中的蛋白质质量/mg。

2)肽含量测定。参考张熙^[14]的方法,取400 μL肠消化液与800 μL 0.20 g/mL三氯乙酸溶液混合,在室温下反应20 min,再于20℃、10 000 r/min条件下离心10 min,收集上清液,采用双缩脲法测定上清液中的肽含量。

3)游离氨基酸含量测定。参考W. J. Chen等^[15]的方法,使用0.45 μm微孔膜过滤肠消化液上清液,将400 μL滤液与100 μL体积分数为10%的碘基水杨酸溶液混匀,于4℃条件下静置60 min,以促使大分子蛋白质沉淀;再于14 500 r/min条件下离心15 min,收集上清液并二次离心5 min,去除残留物;再次收集上清液,采用0.22 μm微孔膜进行过滤,通过全自动氨基酸分析仪测定滤液中的游离氨基酸含量。

1.4 数据统计分析

上述实验均重复进行3次,结果表示为(平均值±标准差)。采用SPSS Statistics 25软件进行单因素方差分析,组间差异比较采用Duncan's多重检验法,显著性水平设定为P<0.05;利用Origin 2021软件作图。

2 结果与分析

2.1 PAW理化性质分析

水相介质与等离子体作用过程中产生的活性

化学组分会发生电离反应,致使溶液pH值降低,这一现象归因于等离子体诱导的酸化效应^[16]。PAW的理化性质变化如图1所示,其中不同小写字母表示组间存在显著性差异(P<0.05),下同。由图1a)可知,随着激活时间的延长,PAW的pH值显著降低(P<0.05),由7.00(PAW₀)降低到6.54(PAW₄₀)。这可能是因为在PAW制备过程中,水与等离子体中的化学物质发生了特定反应,导致PAW逐渐转变为酸性;ROS和活性氮(RNS)在水中的释放量随着激活时间的延长不断上升,这也会进一步增强PAW的酸性,使其pH值降低^[17]。J. Qian等^[18]研究发现,随着激活时间的延长,PAW中NO₂⁻、NO₃⁻、H⁺的含量逐渐上升,pH值显著下降。居世龙等^[19]的研究也有类似结果。

ORP是表征溶液氧化还原特性的重要参数,其主要受体系中氧化剂活度及其反应活性共同影响^[19]。由图1b)可知,随着激活时间的延长,PAW的ORP显著增加(P<0.05),由0 mV(PAW₀)增加到16 mV(PAW₄₀)。这可能与等离子体放电生成的高浓度活性粒子有关。在等离子体设备放电过程中,水分子受高能电子和离子的作用,会分解成超氧自由基(O₂⁻)、·OH、H₂、O₃等多种物质,这些物质会增加水中离子的浓度,进而增加PAW的ORP^[19]。J. Wang等^[20]研究发现,随着激活时间的延长(0~20 min),PAW的ORP会显著增加。居世龙等^[19]的研究也发现,PAW的ORP随着激活时间的延长(0~6 min),从353.67 mV增加至580.78 mV。

水溶液传导电流的特性可通过电导率进行表征,而等离子体产生的反应性物质会改变水的电导率^[18]。由图1c)可知,随着激活时间的延长,PAW的电导率显著增加(P<0.05),由1810 μS/cm(PAW₀)增加到1886 μS/cm(PAW₄₀)。这一方面可能与等离子体放电产生的ROS和RNS有关,这些物质会增加PAW的电导率;另一方面,PAW中水分子发生的理化变化可能使部分水分子被激发或解离成H⁺和OH⁻,从而显著增加水中的自由离子数量,导致PAW的电导率增加^[20]。该研究结果与居世龙等^[19]的研究结果较一致。

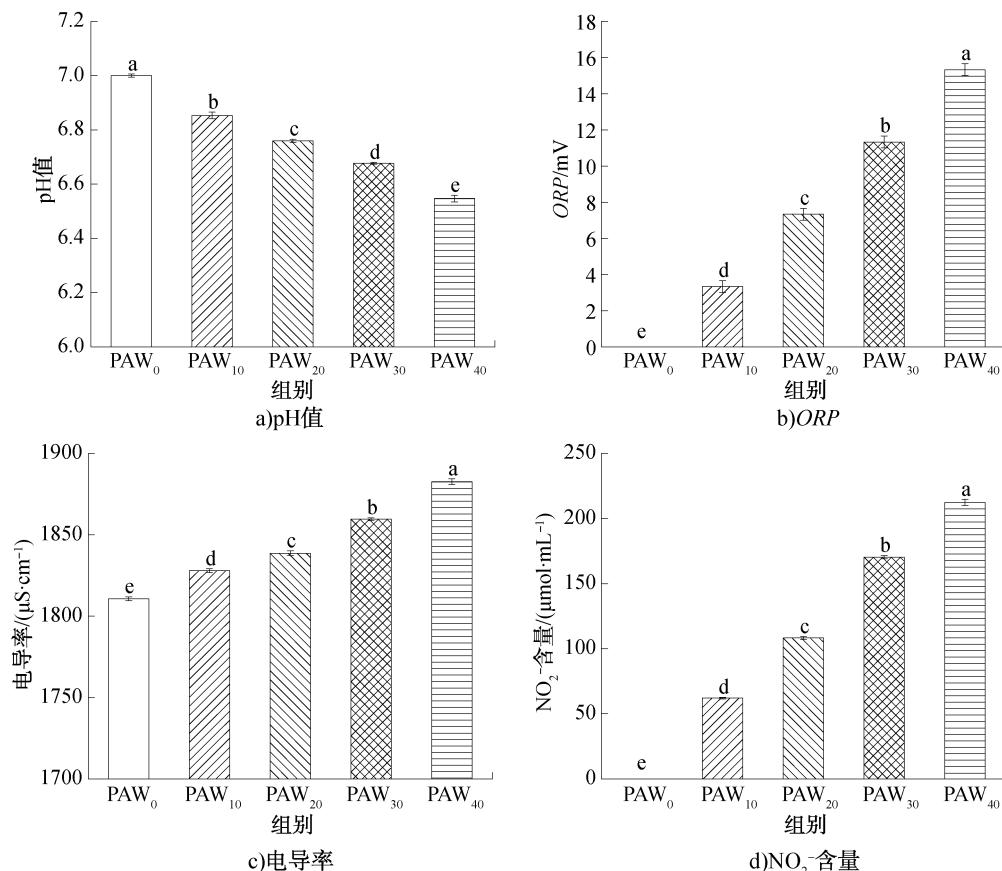


图 1 PAW 的理化性质变化

Fig. 1 Changes in the physical and chemical properties of PAW

由图 1d) 可知, 随着激活时间的延长, PAW 中 NO_2^- 含量显著增加 ($P < 0.05$), 由 0 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ (PAW₀) 增加至 212.44 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ (PAW₄₀)。这可能是因为水分子在等离子体的高能作用下发生分解, 生成 OH^- 、 H^+ 、氧原子 (O) 等多种物质, 这些物质进一步与空气中的 N_2 发生化学反应生成 HNO_3 和 HNO_2 , 导致 PAW 中 NO_2^- 含量增加^[21]。K. Oehmigen 等^[22]的研究也发现, 等离子体可使水性液体发生酸化反应, 生成 H_2O_2 、 HNO_3 和 HNO_2 , 使 NO_2^- 含量增加。

2.2 PPI 自由基信号强度分析

EPR 是一种用于评估物质氧化状态的分析技术^[23]。PAW 处理对 PPI 自由基信号强度的影响如图 2 所示。由图 2 可知, 随着激活时间的延长, 自由基信号强度明显增加。这可能是因为 PAW 处理产生的自由基会导致 PPI 氧化^[11,19], 且随着激活时间的延长, PPI 氧化程度增强。这与居世龙等^[19]的研究结果较一致, 他们发现 PAW 处理可使 ROS 水平显著上升, 进而导致鸭柳肌原纤维蛋白氧化程度增强。

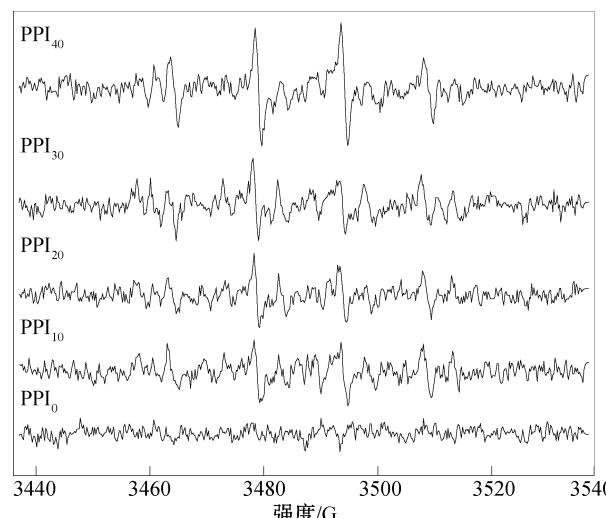


图 2 PAW 处理对 PPI 自由基信号强度的影响

Fig. 2 Effect of PAW treatment on the intensity of free radical signals within PPI

2.3 PPI 紫外吸收光谱分析

蛋白质的紫外吸收光谱主要由芳香族氨基酸残基, 尤其是酪氨酸和色氨酸残基决定^[5]。PAW 处理对 PPI 紫外吸收光谱和二阶导数的影响如图 3 所

示。由图3a)可知,PAW处理可明显增加PPI的紫外吸收强度,且在250~290 nm波长之间,变化明显。这可能是因为PAW处理能使PPI展开,暴露出更多的酪氨酸和色氨酸残基^[5]。此外,随着激活时间的延长,PPI的紫外吸收强度增加,表明PAW处理能增加PPI的氧化聚集程度。这可能是因为氨基酸极性的改变会增强PPI分子之间的相互作用,进而促进PPI的氧化聚集进程^[18]。徐杰等^[24]的研究也发现,用等离子体处理(10 kV、20 kV、30 kV)金鲳鱼肌原纤维蛋白,会增加其紫外吸收强度。由图3b)可知,PPI₀的r最高,这可能是因为r会随着酪氨酸残基周围微环境极性的降低而降低^[25],且随着激活时间的延长,酪氨酸残基从疏水区域向亲水区域迁移,内部疏水基团暴露在蛋白质分子表面,疏水相互作用增强,引起蛋白质聚集^[11]。

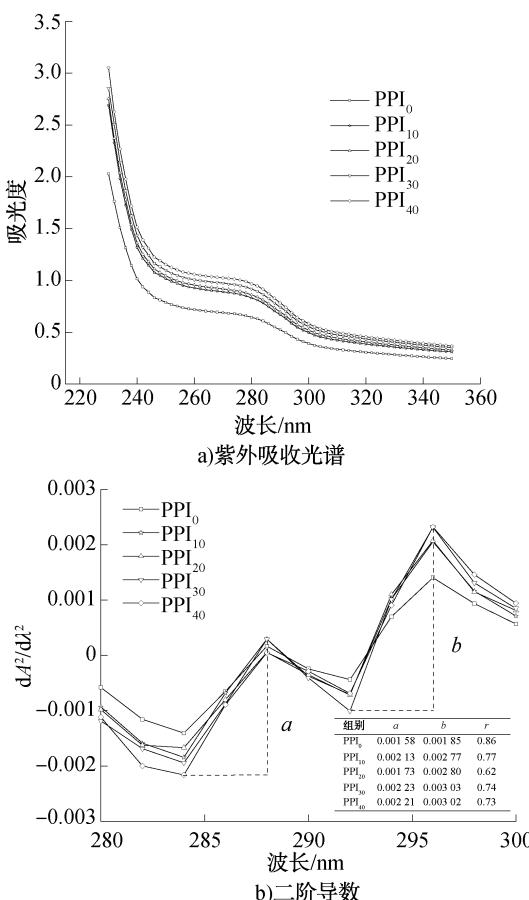


图3 PAW处理对PPI紫外吸收光谱和二阶导数的影响

Fig. 3 Effect of PAW treatment on the ultraviolet absorption spectrum and second-derivative UV spectroscopy of PPI

2.4 PPI中羰基、游离巯基、游离氨基和二聚酪氨酸含量分析

羰基作为肽结构中不可或缺的反应物,决定了蛋白质的氧化程度^[26]。通常情况下,羰基含量越高,氧化程度也越大^[27]。PAW处理对PPI中羰基、游离巯基、游离氨基和二聚酪氨酸含量的影响如图4所示。由图4a)可知,随着激活时间的延长,PPI中羰基含量呈显著增加趋势($P<0.05$),其中PPI₄₀的羰基含量是PPI₀的3倍。这一方面可能是因为PAW处理可导致PPI氧化,且氧化程度会随着激活时间的延长而增加;另一方面,PAW中的O₃、·OH等物质会导致氨基酸侧链氧化程度增强,产生更多的羰基^[26]。J. M. Pérez-Andrés等^[28]的研究也发现,等离子体处理会显著加速鮰鱼蛋白羰基的形成,即等离子体处理会导致PPI氧化。

游离巯基含量常被用作评估蛋白质氧化程度的特征指标之一。在氧化应激环境中,游离巯基会发生氧化反应形成二硫键,其含量随之减少^[28]。由图4b)可知,随着激活时间的延长,PPI中游离巯基含量显著减少($P<0.05$),其中PPI₄₀中游离巯基含量较PPI₀降低了53.7%。这可能是因为常压等离子体射流产生的·OH会与游离巯基和主硫醇相互作用,进而促进分子内和分子间二硫键的形成^[28]。此外,巯基自由基可与O₂反应生成巯基过氧自由基,而巯基过氧自由基与硫醇基团反应后,会形成二硫键,进而导致游离巯基含量减少^[28]。J. P. Wang等^[29-30]的研究也发现,等离子体处理会使游离巯基含量逐渐减少。

以OPA与蛋白质颗粒反应后的吸光度变化为评价指标,可反映蛋白质经处理后表面多肽末端α—NH₂基团和赖氨酸ε—NH₂基团的含量变化^[31]。由图4c)可知,随着激活时间的延长,PPI的游离氨基含量显著降低($P<0.05$),从17.36 mmol/mL(PPI₀)降低到10.21 mmol/mL(PPI₄₀)。这可能是因为PAW处理能促使蛋白质氧化,导致蛋白质分子内部疏水基团暴露和聚集,进而导致分子之间发生相互作用,使蛋白质的空间结构发生变化,其中赖氨酸的ε—NH₂基团可能被包埋在蛋白质的核心区域或蛋白质分子之间的界面位置,使得这些游离氨基在溶液中的含量降低^[32]。M. H. Mahdavian等^[31]的研究也发现,随着等离子体激活时间的延长,草豌豆蛋白颗粒的游离氨基含量降低。

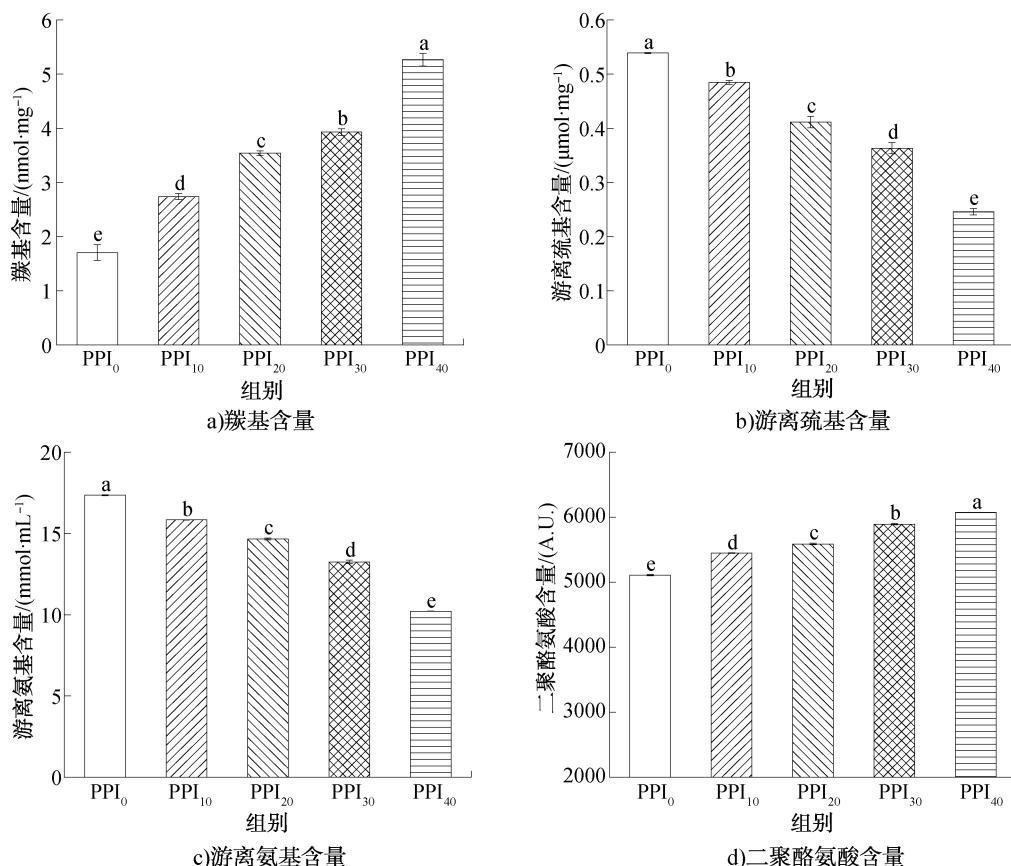


图 4 PAW 处理对 PPI 羰基、游离巯基、游离氨基和二聚酪氨酸含量的影响

Fig. 4 Effect of PAW treatment on the carbonyl, free sulphydryl groups, free amino groups, and di-tyrosine contents of PPI

二聚酪氨酸是由 2 个 L-酪氨酸残基经过氧化偶联反应形成的, 其可作为蛋白质氧化的标志物之一^[32]。由图 4d) 可知, 随着激活时间的延长, PPI 中二聚酪氨酸含量显著增加 ($P < 0.05$), 其中 PPI₄₀ 中二聚酪氨酸含量较 PPI₀ 增加了 18.9%。这可能与等离子体产生的自由基对蛋白质的氧化作用密切相关。PAW 中 $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 、 O_2^- 等物质能够与蛋白质中的酪氨酸残基发生反应, 并攻击酪氨酸的芳香环结构, 引发氧化反应, 尤其是与酪氨酸苯环上的酚羟基发生氧化反应, 导致酪氨酸残基之间形成二聚酪氨酸, 使得 PPI 中二聚酪氨酸含量增加^[33-34]。Q. Liu 等^[32]的研究也发现, $\cdot\text{OH}$ 会引发酪氨酸自由基生成, 导致分子内和分子间交联形成二聚酪氨酸。

2.5 PPI 消化特性分析

IVPD 可表征蛋白质在肠胃中的消化程度^[35]。PAW 处理对 PPI 消化特性的影响如图 5 所示。由图 5a) 可知, 随着激活时间的延长, PPI 的 IVPD 显著增加 ($P < 0.05$), PPI₄₀ 的 IVPD 较 PPI₀ 增加了 25.15%。这可能与 PAW 中生成的活性物质会引起

二聚酪氨酸是由 2 个 L-酪氨酸残基经过氧化偶联反应形成的, 其可作为蛋白质氧化的标志物之一^[32]。由图 4d) 可知, 随着激活时间的延长, PPI 中二聚酪氨酸含量显著增加 ($P < 0.05$), 其中 PPI₄₀ 中二聚酪氨酸含量较 PPI₀ 增加了 18.9%。这可能与等离子体产生的自由基对蛋白质的氧化作用密切相关。PAW 中 $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 、 O_2^- 等物质能够与蛋白质中的酪氨酸残基发生反应, 并攻击酪氨酸的芳香环结构, 引发氧化反应, 尤其是与酪氨酸苯环上的酚羟基发生氧化反应, 导致酪氨酸残基之间形成二聚酪氨酸, 使得 PPI 中二聚酪氨酸含量增加^[33-34]。Q. Liu 等^[32]的研究也发现, $\cdot\text{OH}$ 会引发酪氨酸自由基生成, 导致分子内和分子间交联形成二聚酪氨酸。

在酶的催化作用下, 蛋白质分子中的肽键逐渐被切割断裂, 较长的多肽链会逐步被剪切成更小的片段并被不断释放到溶液中, 进而反映蛋白质消化的程度和酶的作用效率^[39]。由图 5b) 可知, 随着激活时间的延长, PPI 中肽含量显著增加 ($P < 0.05$), 表明 PAW 处理通过诱导蛋白质三维结构的改变, 显著降低了蛋白质结构的稳定性, 这会导致蛋白质分子内部的相互作用减弱, 使得隐藏在原始结构中的酶切位点暴露而更易被酶或外部因素分解, 促进蛋白质的降解和多肽的释放, 进而提升蛋白质的消化特性和生物利用度^[40]。该结果与上文 IVPD 的结果一致。

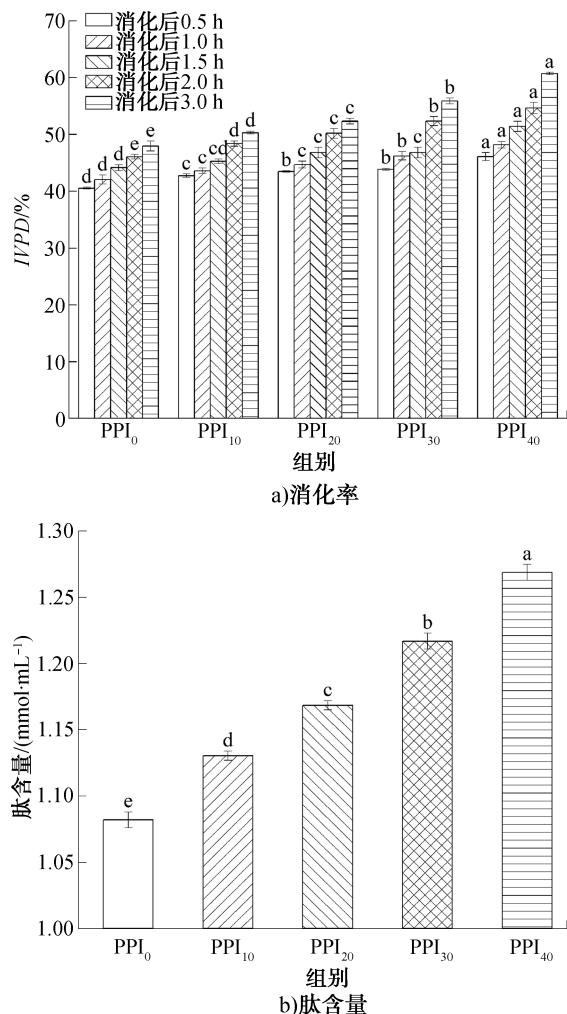


图 5 PAW 处理对 PPI 消化特性的影响

Fig. 5 Effect of PAW treatment on the digestive characteristics of PPI

蛋白质经胃肠消化后,被水解为多肽和游离氨基酸。PPI 经体外消化后的游离氨基酸含量见表 1。由表 1 可知, PPI 消化产物中共有 17 种游离氨基酸,其中包括异亮氨酸、缬氨酸、苏氨酸、色氨酸等 8 种人体必需氨基酸;随着激活时间的延长,PPI 的人体必需氨基酸总含量明显增加,这表明 PAW 处理能提高 PPI 经体外消化后的游离氨基酸含量。这一方面可能是因为 PAW 为酸性溶液,能增强胃蛋白酶活性,从而加速 PPI 水解,导致人体必需氨基酸含量增加^[41];另一方面,PAW 中的活性氧物质(如·OH)可攻击蛋白质的疏水核心,促使蛋白质三维结构解折叠^[36,42],暴露更多胃蛋白酶或胰蛋白酶的酶切位点,提升消化效率,进而释放更多的游离氨基酸,尤其是原本包埋在内部的人体必需氨基酸。研究^[40-41]发现,赖氨酸有助于促进身体发育,提高免

表 1 PPI 经体外消化后的游离氨基酸含量

Table 1 Free amino acid content of PPI following *in vitro* digestion

游离氨基酸种类	含量/(mg·mL ⁻¹)				
	PPI ₀	PPI ₁₀	PPI ₂₀	PPI ₃₀	PPI ₄₀
异亮氨酸(Ile)*	0.010	0.010	0.010	0.010	0.011
缬氨酸(Val)*	0.004	0.003	0.004	0.004	0.004
苏氨酸(Thr)*	0.009	0.009	0.010	0.009	0.011
色氨酸(Trp)*	0.010	0.011	0.012	0.012	0.012
亮氨酸(Leu)*	0.065	0.065	0.067	0.065	0.068
赖氨酸(Lys)*	0.063	0.076	0.077	0.080	0.080
蛋氨酸(Met)*	0.014	0.014	0.013	0.015	0.015
苯丙氨酸(Phe)*	0.059	0.054	0.055	0.059	0.056
组氨酸(His)	0.064	0.062	0.056	0.059	0.058
天冬氨酸(Asp)	0.003	0.002	0.003	0.002	0.003
丝氨酸(Ser)	0.004	0.003	0.004	0.004	0.004
酪氨酸(Tyr)	0.043	0.037	0.037	0.041	0.041
精氨酸(Arg)	0.111	0.119	0.119	0.117	0.123
胱氨酸(Cys)	0.003	0.004	0.001	0.004	0.004
谷氨酸(Glu)	0.006	0.006	0.007	0.007	0.008
甘氨酸(Gly)	0.001	0.001	0.002	0.002	0.002
丙氨酸(Ala)	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
人体必需氨基酸总量	0.233	0.241	0.247	0.253	0.258

注: * 为人体必需氨基酸。

疫力,同时有益于中枢神经系统健康。随着激活时间的延长,赖氨酸含量也明显增加。这可能是由于 PAW 处理对 PPI 结构产生了影响,从而改变了其消化特性,使得赖氨酸更易被释放出来^[42]。

3 结论

本研究在解析了不同激活时间 PAW 理化性质的基础上,探究了 PAW 处理对 PPI 氧化和消化特性的影响,得到如下结论:随着激活时间的延长,PAW 的 pH 值显著降低,而 ORP、电导率及 NO₃⁻含量均显著增加;PAW 中的活性物质会引起 PPI 的自由基信号强度明显增强,进而诱导 PPI 分子发生明显的氧化修饰,具体表现为羰基和二聚酪氨酸含量均显著增加,游离巯基和游离氨基含量均显著下降。值得注意的是,这种氧化修饰不仅没有破坏 PPI 的营养价值,反而显著提升了 PPI 的 IVPD,其中 PPI₄₀ 的 IVPD 较 PPI₀ 提高了 25.15%;同时,消化产物的肽含量和人体必需氨基酸含量均显著增加。因此,PAW 处理在促进 PPI 氧化的同时有效改

善了其消化特性,可为PAW技术在食品蛋白质中的应用提供参考。未来可进一步探究PAW处理参数与不同来源蛋白质构效关系的普适性规律,并深入解析氧化修饰位点对消化酶特异性识别的影响机制。

参考文献:

- [1] 李可,王琳梦,高慧健,等.超声波辅助碱提类PSE鸡肉分离蛋白-EGCG复合体系的理化特性[J].轻工学报,2023,38(2):14-22,62.
LI K, WANG L M, GAO H J, et al. Physicochemical properties of ultrasound-assisted alkali extraction treated PSE-like chicken protein isolate-EGCG composite system [J]. Journal of Light Industry, 2023, 38(2):14-22,62.
- [2] ZHAO X, XU X L, ZHOU G H. Temperature-dependent *in vitro* digestion properties of isoelectric solubilization/precipitation (ISP)-isolated PSE-like chicken protein [J]. Food Chemistry, 2021, 343:128501.
- [3] MAHDAVIAN MEHR H, KOCHEKI A. 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.
- [4] LUO J, XU W M, LIU Q, et al. Dielectric barrier discharge cold plasma treatment of pork loin: Effects on muscle physicochemical properties and emulsifying properties of pork myofibrillar protein [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 162:113484.
- [5] JIANG W, WU R A, HU X, et al. Changes in physicochemical and conformational properties of myofibrillar proteins isolated from mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) treated by atmospheric pressure plasma jet [J]. CyTA-Journal of Food, 2023, 21(1):625-633.
- [6] RAO W, ROOPESH M S, PAN D D, et al. Enhanced gel properties of duck myofibrillar protein by plasma-activated water: Through mild structure modifications [J]. Foods, 2023, 12(4):877.
- [7] POOJARY M M, LUND M N. Chemical stability of proteins in foods: Oxidation and the Maillard reaction[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2022, 13:35-58.
- [8] 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 K, LI Y, KANG C D, 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.
- [9] HOU C Y, LAI Y C, HSIAO C P, et al. Antibacterial activity and the physicochemical characteristics of plasma activated water on tomato surfaces[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 149:111879.
- [10] LIU X F, SUN X J, WEI Y J, et al. Effects of ultrasonic treatment on physico-chemical properties and structure of tuna (*Thunnus tonggol*) myofibrillar proteins [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2022, 108:104438.
- [11] WANG Y, TIAN X J, LIU X Z, et al. Effects of different cooking methods on physicochemical, textural properties of yak meat and its changes with intramuscular connective tissue during *in vitro* digestion[J]. Food Chemistry, 2023, 422:136188.
- [12] 李可,张怡雪,王艳秋,等.超声波处理对低盐条件下鸡肉肌原纤维蛋白结构和氧化性质的影响[J].食品科学,2024,45(16):177-187.
LI K, ZHANG Y X, WANG Y Q, et al. Effect of ultrasonic treatment on the structural and oxidation properties of chicken myofibrillar protein under low-salt conditions [J]. Food Science, 2024, 45(16):177-187.
- [13] SUN B L, ZHANG P X, ZHANG J J, et al. Preparation, characterization and bioavailability studies of *Tegillarca granosa* hemoglobin and its glycosylated products [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 219:11-20.
- [14] 张熙.扫频超声波预处理对 β -乳球蛋白酶解特性及聚集行为的影响机理研究[D].镇江:江苏大学,2019.
ZHANG X. Effects of sweeping frequency ultrasonic pretreatment on β -lactoglobulin enzymatic sensitivity and aggregation behavior [D]. Zhengjiang:Jiangsu University, 2019.
- [15] CHEN W J, LIAO A M, HOU Y C, et al. Digestive characteristics and peptide release from wheat embryo proteins *in vitro* [J]. Food & Function, 2021, 12 (5): 2257-2269.
- [16] 张涵,杨城,陈桂芸,等.等离子体活化水辅助超声提取黄花菜多糖及其降糖活性[J].食品工业科技,2025,46(3):232-240.
ZHANG H, YANG C, CHEN G Y, et al. Plasma activated water assisted ultrasonic extraction of polysaccharides from yellow cauliflower and its hypoglycemic activity [J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46 (3): 232-240.
- [17] JIN Y S, CHO C, KIM D, et al. Mass production of plasma activated water by an atmospheric pressure plasma [J]. Japanese Journal of Applied Physics, 2020, 59:SHHF05.
- [18] QIAN J, WANG Y Y, ZHUANG H, et al. Plasma activated water-induced formation of compact chicken myofibrillar protein gel structures with intrinsically antibacterial activity [J]. Food Chemistry, 2021, 351:129278.
- [19] 居世龙,李俊琦,邓兰婷,等.等离子体活化水对大肠杆菌的抑制特性及其对鸭柳贮藏品质的影响[J].食品工业科技,2025,46(16):356-364.

- JU S L, LI J Q, DENG L T, et al. Antibacterial properties of plasma-activated water on *Escherichia coli* and its effect on storage quality of duck fillets [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2025, 46(16): 356–364.
- [20] WANG J, HAN R W, LIAO X Y, et al. Application of plasma-activated water (PAW) for mitigating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on cooked chicken surface [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 137: 110465.
- [21] BRISSET J L, BENSTAALI B, MOUSSA D, et al. Acidity control of plasma-chemical oxidation: Applications to dye removal, urban waste abatement and microbial inactivation [J]. *Plasma Sources Science and Technology*, 2011, 20(3): 034021.
- [22] OEHMIGEN K, HÄHNEL M, BRANDENBURG R, et al. The role of acidification for antimicrobial activity of atmospheric pressure plasma in liquids [J]. *Plasma Processes and Polymers*, 2010, 7(3/4): 250–257.
- [23] 曹雄杰, 吴卫国, 邱志鹏, 等. 基于电子顺磁共振波谱分析高甾醇菜籽油的抗氧化性能 [J]. *食品工业*, 2024, 45(8): 70–73.
- CAO X J, WU W G, QIU Z P, et al. Analysis of antioxidant properties of high-sterol rapeseed oil by EPR spectroscopy [J]. *The Food Industry*, 2024, 45(8): 70–73.
- [24] 徐杰, 徐雯晴, 孙钦秀, 等. 低温等离子体对金鲳鱼肌原纤维蛋白结构特性的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(4): 126–132.
- XU J, XU W Q, SUN Q X, et al. Effect of cold plasma on structural properties of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) myofibrillar proteins [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2024, 50(4): 126–132.
- [25] 王家乐. 高压均质协同氯化钙处理对低钠盐肌原纤维蛋白乳化特性的影响机制研究 [D]. 郑州: 郑州轻工业大学, 2025.
- WANG J L. Influence mechanism of high pressure homogenization combined with calcium chloride treatment on emulsification properties of low sodium salt myofibrillar protein [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University of Light Industry, 2025.
- [26] XU Y S, XIA W S, JIANG Q X. Aggregation and structural changes of silver carp actomyosin as affected by mild acidification with d [J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(2): 1005–1010.
- [27] 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: 107077.
- [28] PÉREZ-ANDRÉS J M, DE ALBA M, HARRISON S M, et al. Effects of cold atmospheric plasma on mackerel lipid and protein oxidation during storage [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 118: 108697.
- [29] WANG J P, LIU N, ZHANG F K. Tetramethylpyrazine protects oxidative stability and gelation property of rabbit myofibrillar proteins [J]. *Food Science of Animal Resources*, 2019, 39(4): 623–631.
- [30] MIAO W H, NYAISABA B M, KODDY J K, et al. Effect of cold atmospheric plasma on the physicochemical and functional properties of myofibrillar protein from Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2020, 55(2): 517–525.
- [31] MAHDAVIAN M H, KOCHEKI 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: 108846.
- [32] LIU Q, LU Y, HAN J C, et al. Structure-modification by moderate oxidation in hydroxyl radical-generating systems promote the emulsifying properties of soy protein isolate [J]. *Food Structure*, 2015, 6: 21–28.
- [33] CHEN K W, CHEN X, LIANG L, et al. Gallic acid-aided cross-linking of myofibrillar protein fabricated soluble aggregates for enhanced thermal stability and a tunable colloidal state [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(41): 11535–11544.
- [34] DHARINI M, JASPIN S, MAHENDRAN R. Cold plasma reactive species: Generation, properties, and interaction with food biomolecules [J]. *Food Chemistry*, 2023, 405: 134746.
- [35] 朱文慧, 李雯政, 郭慧芳, 等. 纳米解冻对鱿鱼蛋白消化后氧化特性的影响 [J]. *中国食品学报*, 2024, 24(12): 117–125.
- ZHU W H, LI W Z, GUO H F, et al. Effects of nanotherawing on oxidation characteristics of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) protein after digestion [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2024, 24(12): 117–125.
- [36] OLATUNDE O O, HEWAGE A, DISSANAYAKE T, et al. Cold atmospheric plasma-induced protein modification: Novel nonthermal processing technology to improve protein quality, functionality, and allergenicity reduction [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2023, 22(3): 2197–2234.
- [37] ZHOU S D, LIN Y F, XU X, et al. Effect of non-covalent and covalent complexation of (–)-epigallocatechin gallate with soybean protein isolate on protein structure and *in vitro* digestion characteristics [J]. *Food Chemistry*, 2020, 309: 125718.
- [38] 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: 113565.

[39] 胡思嘉,胡秋月,湛胜楠,等.蛋清蛋白和魔芋胶对鹰爪虾虾糜凝胶制品消化和酵解特性的影响[J].食品科学,2024,45(21):138-146.

HU S J, HU Q Y, ZHAN S N, et al. Effects of egg white protein and konjac glucomannan on the digestion and fermentation properties of *Trachypenaeus curvirostris* surimi gel[J]. Food Science, 2024, 45(21): 138-146.

[40] MOLLAKHALILY-MEYBODI N, YOUSEFI M, NEMATOLLAHI A, et al. Effect of atmospheric cold plasma treatment on technological and nutrition functionality of protein in foods [J]. European Food Research and Technology, 2021, 247(7): 1579-1594.

[41] 李欣怡,吴夏泠,刘群,等.鸡蛋壳膜酶解物/壳聚糖复

合薄膜的制备及性能表征[J/OL].食品工业科技(2025-05-27)[2025-06-19].<https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2025030080>.

LI X Y, WU X L, LIU Q, et al. Preparation and performance characterization of eggshell membrane enzymatic hydrolysate/chitosan composite film[J/OL]. Science and Technology of Food Industry (2025-05-27)[2025-06-19].<https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2025030080>.

[42] LI K, ZHOU Y F, ZHU C Y, et al. Effects of plasma-activated water on structural and functional properties of PSE-like chicken protein isolate[J]. Current Research in Food Science, 2025, 10:101003.

Effect of plasma-activated water treatment on the oxidation and digestion characteristics of PSE-like chicken protein isolate

CUI Bingbing¹, ZHOU Yanfang¹, ZHU Chenyan¹, LI Ke^{1,2}, CHEN Bo^{1,2},
DU Manting^{1,2}, ZHAO Dianbo^{1,2}, BAI Yanhong^{1,2}

1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Key Laboratory of Cold Chain Food Processing and Safety Control, Ministry of Education, Zhengzhou 450001, China

Abstract: [Objective] To investigate the effects of plasma-activated water (PAW) treatment on the oxidation characteristics and in vitro digestion behavior of pale, soft, exudative-like chicken protein isolate (PPI).

[Methods] PPI was extracted from PSE-like chicken and treated with PAW for different activation times. A systematic analysis was performed to evaluate changes in free radical signal intensity, ultraviolet absorption spectrum, carbonyl content, di-tyrosine content, free amino groups, and free sulfhydryl groups of PPI before and after PAW treatment. *In vitro* protein digestibility (IVPD), peptide content, and essential amino acid content of digestion products were also quantified. **[Results]** As activation time increased, PAW exhibited a significant decrease in pH ($P < 0.05$) and significant increases in oxidation-reduction potential (ORP), electrical conductivity, and NO^- content ($P < 0.05$). PAW treatment significantly increased free radical signal intensity and ultraviolet absorption intensity of PPI, specifically elevating carbonyl and di-tyrosine contents while reducing free amino and free sulfhydryl contents ($P < 0.05$). Notably, PPI₄₀ showed a 3-fold in carbonyl content and 53.7% reduction in free sulfhydryl content compared to PPI₀. For digestion characteristics, PAW treatment significantly increased IVPD, peptide content, and essential amino acid content ($P < 0.05$), with IVPD of PPI₄₀ increasing by 25.15% compared to PPI₀.

[Conclusion] PAW treatment promotes PPI oxidation and enhances its digestive characteristics.

Key words: PSE-like chicken protein isolate; plasma-activated water; oxidation characteristic; digestive characteristic

[责任编辑:杨晓娟]