



豌豆-燕麦复合蛋白凝胶制备及配方优化研究

李梦晓^{1,2,4},刘成洋^{1,2},张玲³,董吉林^{1,2,3,4},申瑞玲^{1,2},李云龙³

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;
3. 山西农业大学 山西功能食品研究院,山西 太原 030031;
4. 中原食品实验室 郑州轻工业大学,河南 漯河 462300

摘要:以豌豆-燕麦复合蛋白凝胶(POPG)为研究对象,以凝胶强度、持水性(WHC)、游离巯基含量、二硫键含量和微观结构为指标,考查不同酶(木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、中性蛋白酶、转谷氨酰胺酶(TG酶)和漆酶)处理对POPG性质的影响,并以豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比、复合蛋白溶液质量分数和TG酶添加量为因素,采用单因素和响应面试验优化凝胶配方。结果表明: TG酶添加量为40 U/g时,POPG表现出较好的凝胶强度和WHC,分别为83.00 g和88.79%,其游离巯基含量较低、二硫键含量较高、微观结构更为均匀;复合蛋白凝胶的最优配方为豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比1:0.4、复合蛋白溶液质量分数20%、TG酶添加量40 U/g,按此配方制备的复合蛋白凝胶表现出较好的凝胶强度(78.00 g)。本研究制备的POPG有望作为动物脂肪替代物,为后续绿色食品的加工提供参考。

关键词:豌豆-燕麦复合蛋白凝胶;酶处理;凝胶性质;配方优化

中图分类号:TS201.4 文献标识码:A

0 引言

植物蛋白凝胶是一类通过物理或化学方法对植物来源蛋白质进行一定处理后形成的凝胶状物质,具有健康、可持续和环境友好的特点,在食品工业中展现出较大的应用潜力。燕麦和豌豆是两种营养价值较高的农作物,其中,燕麦的蛋白质含量在谷物中居于首位,且含有人体所需的8种必需氨基酸,具有较高的消化率及生物价,但其乳化稳定

性和凝胶特性不及其他植物蛋白^[1];豌豆蛋白含有大量赖氨酸,不含麸质且价格低廉,具有较好的乳化性和凝胶特性,但其蛋氨酸和半胱氨酸含量相对较低,可与燕麦蛋白实现氨基酸互补^[2]。不同蛋白质之间可发生一定的相互作用,该相互作用是凝胶化过程中凝胶网络形成的基础。网络结构可增强凝胶对水和营养物质的保持能力;与单一蛋白质凝胶相比,复合蛋白凝胶具有更好的凝胶质地^[3]。

蛋白质形成凝胶的方法主要有物理法、化学法

收稿日期:2024-06-25;修回日期:2024-09-20

基金项目:国家燕麦荞麦产业技术体系项目(CARS-07-E2);晋中国家农高区(太谷国家科创中心)2023年度科技创新项目(JZNGQKJCX20230)

作者简介:李梦晓(2000—),女,河南省夏邑县人,郑州轻工业大学硕士研究生,主要研究方向为谷物营养与加工。E-mail: limengxiao2022@163.com

通信作者:申瑞玲(1967—),女,山西省灵石县人,郑州轻工业大学教授,博士,主要研究方向为谷物营养与加工。E-mail: shenrl1967@163.com

和生物酶法^[4]。生物酶法具有特异性强、反应速率快、安全无污染等优点。其中,酶水解法主要通过不同蛋白酶水解蛋白质形成小肽,促进亲水基团暴露,增加蛋白质分子之间的相互作用,进而形成蛋白凝胶;酶交联法主要通过转谷氨酰胺酶(TG 酶)、漆酶、酪氨酸酶、过氧化物酶等催化蛋白质分子内和分子间共价交联,进而改善蛋白凝胶特性。M. Bruckner-Guhmann^[5]等利用胰蛋白酶酶解制备燕麦蛋白凝胶,发现酶修饰可改变燕麦蛋白的相对分子质量分布和聚集行为,进而影响凝胶的结构性质。Z. L. Ma 等^[6]研究发现,木瓜蛋白酶可提高大豆蛋白凝胶的凝胶强度和持水性(WHC),使形成的网络结构更致密、更均匀。X. X. Wu 等^[7]利用碱性蛋白酶和胃蛋白酶改善大豆蛋白凝胶性质,发现碱性蛋白酶处理可使样品具有更好的功能特性和溶解性;两种酶组合处理可使样品的凝胶强度和 WHC 均较高,且具有更均匀、更紧密的网络结构。Y. F. Gui 等^[8]研究发现,经 TG 酶处理后,马铃薯蛋白凝胶表现出更高的凝胶强度和更好的稳定性。另外,蛋白质的浓度和复配比例也会影响凝胶的形成。J. Mclauchlan 等^[9]利用燕麦蛋白与其他豆类或谷物蛋白进行复配制备凝胶,发现燕麦蛋白与豌豆蛋白复配可影响其凝胶行为。Y. L. Zhao 等^[10]研究发现, TG 酶诱导可使豌豆蛋白与玉米蛋白快速交联形成稳定的凝胶网络结构,并提高复合凝胶的硬度、弹性和 WHC。

基于此,本文拟将木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、中性蛋白酶、TG 酶和漆酶加入豌豆-燕麦复合蛋白中,制备豌豆-燕麦复合蛋白凝胶(POPG),通过测定该复合蛋白凝胶的凝胶强度、WHC、游离巯基含量等,确定不同酶的最适添加量并筛选出最适酶,再通过单因素和响应面试验优化复合蛋白凝胶制备配方,以期为后续将该复合蛋白凝胶应用于食品工业,尤其是作为脂肪替代物加入到肉制品中提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

燕麦麸皮,山西华启顺食品科技有限公司;豌

豆蛋白(纯度为 92.1%),山东禹王生态食业有限公司;TG 酶(酶活力 10 000 U/g),泰兴市东圣生物科技有限公司;漆酶(酶活力 100 000 U/g),广州捷恒生物科技有限公司;木瓜蛋白酶(酶活力 80 000 U/g),南宁东恒华道生物科技有限公司;中性蛋白酶(酶活力 50 000 U/g)、胰蛋白酶(酶活力 2000 U/g),南宁庞博生物工程有限公司; β -葡聚糖酶(98%)、Tris(99%)、甘氨酸($\geq 99\%$)、尿素(99%),上海麦克林生化科技股份有限公司;5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB,98%),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;NaOH 等其他常用试剂,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

BSA224S-CW 型电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;E-201-9 型 pH 计,上海佑科仪器仪表有限公司;HH-S6 型电热恒温水浴锅,北京科伟永兴仪器有限公司;84-1 型磁力搅拌器,上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司;TGL-165 型高速冷冻离心机,四川蜀科仪器有限公司;SpectraMaxP 型多功能酶标仪,美谷分子仪器(上海)有限公司;TA-XT Plus 型质构分析仪,英国 Stable Micro System 公司;LGJ-10 型冷冻干燥机,河南兄弟仪器设备有限公司;Sigma300 型扫描电子显微镜,德国 Carl Zeiss AG 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 燕麦蛋白制备 参考许英一等^[11]的方法,并稍加改动。将燕麦麸皮与去离子水按料液比 1:10(g:mL)混合,加入质量分数为 1.5%的 β -葡聚糖酶,用 NaOH 溶液(1.0 mol/L,下同)调节 pH 值至 6.5;在 50℃条件下酶解 30 min;利用 NaOH 溶液调节 pH 值至 9.6,磁力搅拌 2 h,于 10 000 r/min、4℃条件下离心 10 min,收集上清液;用 HCl 溶液(1.0 mol/L)调节上清液 pH 值至 4.4,于 10 000 r/min、4℃条件下离心 10 min,收集蛋白质沉淀并水洗两次;用 NaOH 溶液调节 pH 值至 7.0 使蛋白质复溶,之后将蛋白质冷冻干燥。以麸皮中蛋白质含量为基准计算得率为 16.14%,利用凯氏定氮法测得燕麦蛋白纯度为 73.62%。

1.3.2 POPG 制备 将豌豆蛋白与燕麦蛋白按质

量比 1 : 0.4 复合,并加入一定量的去离子水,使复合蛋白溶液的质量分数为 20%(黏度为 11.0 mPa · s),室温下磁力搅拌 1 h。将不同酶分别溶于复合蛋白溶液中,45 ℃ 水浴 1 h,使之适度水解或交联(水解度/交联度分别为:木瓜蛋白酶 28.61%、胰蛋白酶 24.93%、中性蛋白酶 23.84%、TG 酶 28.79%和漆酶 26.88%),再于 95 ℃ 水浴 30 min,加热完成后立即放入冰水中冷却至室温,最后放入 4 ℃ 冰箱中平衡 24 h,即得 POPG。

1.3.3 酶筛选 分别在 POPG 制备过程中添加 20 ~ 60 U/g TG 酶、100 ~ 300 U/g 漆酶、100 ~ 300 U/g 木瓜蛋白酶、220 ~ 300 U/g 中性蛋白酶、5 ~ 25 U/g 胰蛋白酶,通过测定凝胶强度和 *WHC* 确定酶的最适添加量;再结合游离巯基、二硫键含量及微观结构确定最适酶。以不添加任何酶的 POPG 作为空白组。

1.3.4 凝胶强度测定 参考 S. Y. Liu^[12] 的方法,将高度为 30 mm 的凝胶样品置于室温下平衡 30 min,采用质构分析仪测定凝胶强度。具体参数为:TA10 探头;测前、测中和测后速度均 1.0 mm/s;目标深度 15 mm。凝胶强度(g)为第 1 次压缩过程中样品所产生的最大应力值。

1.3.5 *WHC* 测定 参考戴慧敏等^[13] 的方法,将凝胶样品切成立方体小块,准确称取质量为 w_1 的凝胶,用滤纸包裹后置于 50 mL 离心管中,于 8000 r/min 离心 10 min 后,将滤纸上的凝胶小心刮下,称取离心后凝胶的质量(w_2)。*WHC* 按下式计算:

$$WHC = w_2/w_1 \times 100\%$$

1.3.6 游离巯基、总巯基及二硫键含量测定 参考杨晨等^[14] 的方法,并稍加改动。分别称取 15 mg 凝胶样品溶于 5 mL Tris-甘氨酸缓冲液(0.086 mol/L Tris,0.09 mol/L 甘氨酸,pH 值为 8)和 5 mL Tris-甘氨酸-尿素缓冲液(0.086 mol/L Tris,0.09 mol/L 甘氨酸,8 mol/L 尿素,pH 值为 8)中,室温下搅拌 1 h,制成样品液后,于 10 000 r/min、4 ℃ 离心 10 min,分别加入 20 μL Ellman 溶液(4 mg/mL DTNB 配制而成),反应 5 min 后于 412 nm 波长处测其吸光度,按下式分别计算游离巯基、总巯基和二硫键含量(μmol/g):

$$\text{游离巯基或总巯基含量} = \frac{73.53 \times D \times A_{412}}{C}$$

$$\text{二硫键含量} = \frac{\text{总巯基含量} - \text{游离巯基含量}}{2}$$

式中, A_{412} 为样品吸光度; D 为稀释倍数,游离巯基的稀释倍数为 5.02,总巯基的稀释倍数为 10; C 为样品质量浓度/(mg · mL⁻¹)。

1.3.7 微观结构表征 参考 J. Q. Luo 等^[15] 的方法,将冻干后的凝胶样品用双面胶带固定在铝制支架上喷金,然后放入扫描电子显微镜样品室中观察其微观结构,并在 3.0 kV 加速电压下,记录放大倍数为 20000×的图像。

1.3.8 复合蛋白凝胶制备配方优化 1) 单因素试验设计。在筛选出最适酶的基础上,以凝胶强度和 *WHC* 为评价指标,考查豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比、复合蛋白溶液质量分数、酶添加量 3 个因素对 POPG 的影响。

豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比:在复合蛋白溶液质量分数为 20%、TG 酶添加量为 40 U/g 的条件下,考查豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比(1 : 0.2、1 : 0.4、1 : 0.6、1 : 0.8 和 1 : 1)对 POPG 凝胶强度和 *WHC* 的影响。

复合蛋白溶液质量分数:在豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比为 1 : 0.4、TG 酶添加量为 40 U/g 的条件下,考查复合蛋白溶液质量分数(18%、19%、20%、21%和 22%)对 POPG 凝胶强度和 *WHC* 的影响。

TG 酶添加量:在豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比为 1 : 0.4、复合蛋白溶液质量分数为 20%的条件下,考查酶添加量(20 U/g、30 U/g、40 U/g、50 U/g 和 60 U/g)对 POPG 凝胶强度和 *WHC* 的影响。

2) 响应面试验设计。在单因素试验的基础上,以凝胶强度(Y)为响应值,对豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比(A)、复合蛋白溶液质量分数(B)和 TG 酶添加量(C)这 3 个因素进行响应面试验设计,以确定复合蛋白凝胶制备的最优配方。

1.4 数据处理

所有实验均重复测定 3 次,实验结果以(平均值±标准差)表示。采用 SPSS 27.0.1 对数据进行显著性分析($P<0.05$);利用 Origin 8.6 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 不同酶添加量对 POPG 形成的影响

不同酶添加量对 POPG 凝胶强度和 *WHC* 的影响如图 1 所示,其中不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$),下同。由图 1 可知,随着酶添加量的增加,POPG 的凝胶强度和 *WHC* 均呈先增大后降低的趋势,其中,胰蛋白酶的最适添加量为 15 U/g,木瓜蛋白酶的最适添加量为 200 U/g,中性蛋白酶的最适添加量为 260 U/g,TG 酶的最适添加量为 40 U/g,漆酶的最适添加量为 150 U/g。胰蛋白酶、木瓜蛋白酶和中性蛋白酶造成这一现象的原因可能是因为酶诱导凝胶形成的必要条件是对蛋白质进行适度的水解,添加过多的酶会使蛋白质被过度降解为短肽,不利于蛋白凝胶的形成。郭永等^[16]研究也发现,中性蛋白酶适度水解豌豆蛋白,可使所形成凝胶的凝胶强度更好。TG 酶和漆酶造成这一现象的原因可能是因为随着酶添加量的增加,蛋白质之间发生了适度的交联反应,促进了凝胶的形成,但过度交联会阻止形成均匀的凝胶网络结构。于国萍等^[17]研究也发现,TG 酶适度交联有利于大豆蛋白凝胶的形成。

2.2 不同酶对 POPG 游离巯基及二硫键含量的影响

在蛋白质凝胶化过程中,游离巯基和二硫键会直接影响凝胶的结构和机械性能^[18]。不同酶对 POPG 游离巯基及二硫键含量的影响如图 2 所示。由图 2 可知,与空白相比,加酶后 POPG 的二硫键含量升高,这可能是因为经酶水解或酶交联后,部分游离巯基转变为二硫键,而二硫键含量增多有利于蛋白凝胶形成稳定的三维网络结构。经 TG 酶交联后的凝胶,其二硫键含量高于其他样品,这有利于形成稳定的大分子聚集体并进一步提高凝胶的稳定性。本研究结果与王瑞雪^[19-20]的研究结果相符。

2.3 不同酶对 POPG 微观结构的影响

不同酶对 POPG 微观结构的影响如图 3 所示。由图 3 可知,经中性蛋白酶和木瓜蛋白酶水解处理后,POPG 的表面粗糙,形成了扁平、不紧密的网络结构,因此其凝胶强度较弱。经胰蛋白酶和漆酶处理后,POPG 网状结构粗糙,孔洞不均匀,无法形成有序的结构,因此其凝胶强度较弱。经 TG 酶处理后,POPG 呈现较为明显的交联结构,这可能是因为 TG 酶能使蛋白质的无序聚集变得有序,并使蛋白质

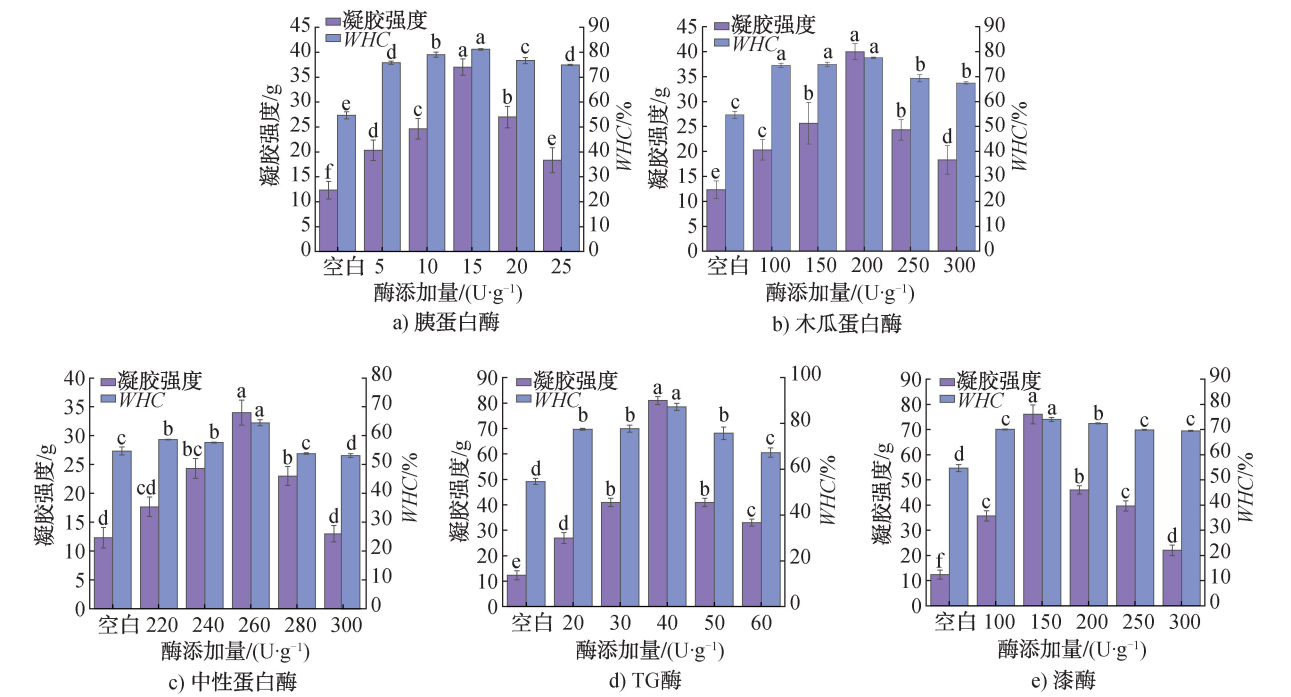


图 1 不同酶添加量对 POPG 凝胶强度和 *WHC* 的影响

Fig. 1 Effect of different enzyme addition on gel strength and *WHC* of POPG

分子之间发生交联,形成稳定的三维网络结构。李杨等^[21]研究表明,经 TG 酶交联后的大豆蛋白形成了更为紧密光滑的凝胶结构,从而形成更为均匀稳定的凝胶。

2.4 复合蛋白凝胶配方优化结果分析

2.4.1 单因素试验结果分析 单因素试验结果如图 4 所示。由图 4 可知,3 种因素对 POPG 凝胶强度和 WHC 的影响均呈先上升后下降的趋势。由图 4a)可知,当豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比为 1 : 0.4 时,复合蛋白凝胶表现出较好的凝胶强度和 WHC。这可能是因为随着豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比的增加,蛋白质分子之间发生相互作用,促使凝胶三

维网络结构形成;当豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比继续增加时,蛋白质分子之间的氢键作用增加,导致其疏水作用下降,这不利于凝胶的形成^[22]。由图 4b)可知,当复合蛋白溶液质量分数为 20%时,复合蛋白凝胶表现出较好的凝胶强度和 WHC。这可能是因为复合蛋白溶液的质量分数会影响凝胶的形成,复合蛋白溶液质量分数低,溶液呈液态,流动性好,不利于凝胶的形成;复合蛋白溶液质量分数高,溶液黏度大,流动性差,同样也不利于凝胶的形成^[23]。由图 4c)可知,当 TG 酶添加量为 40 U/g 时,复合蛋白凝胶表现出较好的凝胶强度和 WHC。这可能是因为 TG 酶添加量的增加会促进蛋白质分子交联形成二硫键,进而形成紧密的三维网络结构;但 TG 酶添加量过多可能会导致蛋白质分子交联过度,不利于三维网络结构形成^[24]。因此,选择豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比为 1 : 0.4、复合蛋白溶液质量分数为 20%、TG 酶添加量为 40 U/g 进行后续响应面试验设计。

2.4.2 响应面试验结果分析 响应面试验因素与水平见表 1,Box-Behnken 试验设计方案及结果见表 2,回归模型方差分析见表 3。经回归模型分析得到豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比(A)、复合蛋白溶液质量分数(B)、TG 酶添加量(C)的二元多项回归方程为:

$$Y = 78.20 + 4.50A - 2.25B + 1.50C + 2.50AB + 4.00AC + 4.50BC - 13.35A^2 - 10.85B^2 - 14.85C^2$$

图 2 不同酶对 POPG 游离巯基及二硫键含量的影响
Fig. 2 Effect of different enzymes on free sulfhydnyl and disulfide bond oontents of POPG

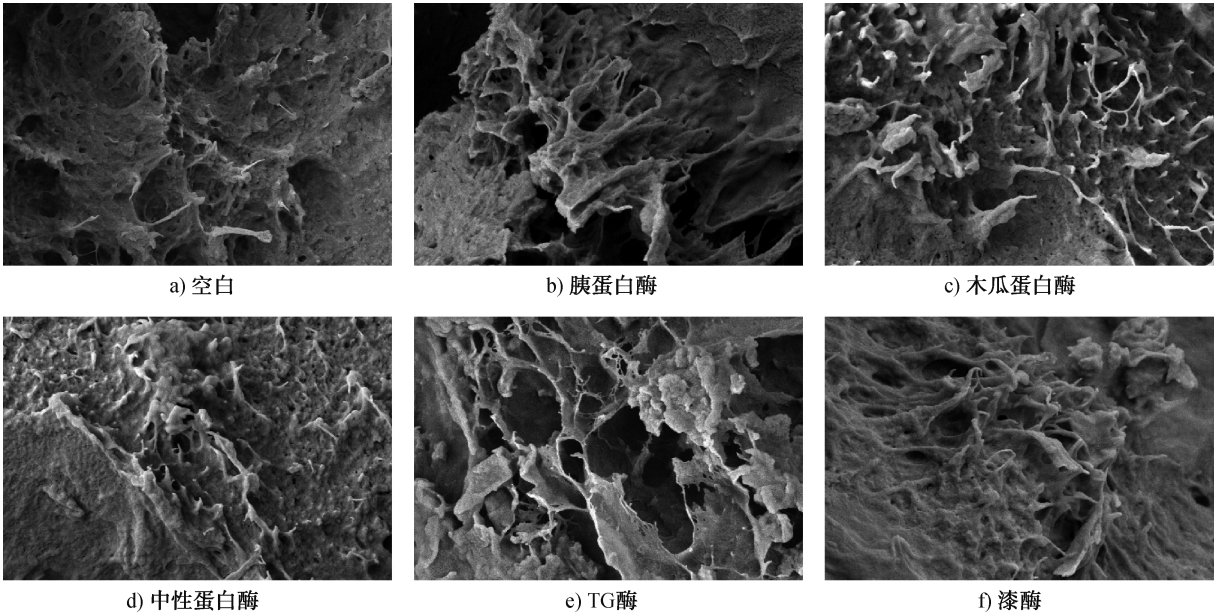
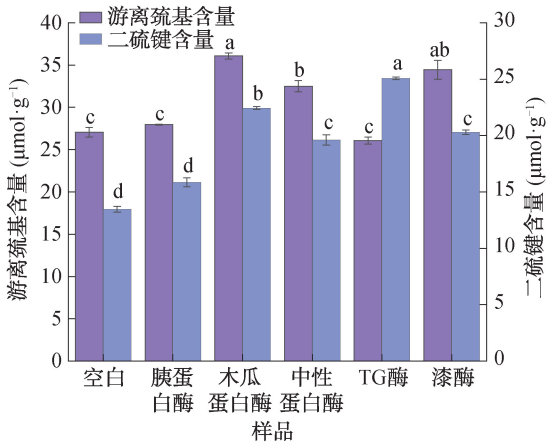


图 3 不同酶对 POPG 微观结构的影响
Fig. 3 Effect of different enzymes on the microstructure of POPG

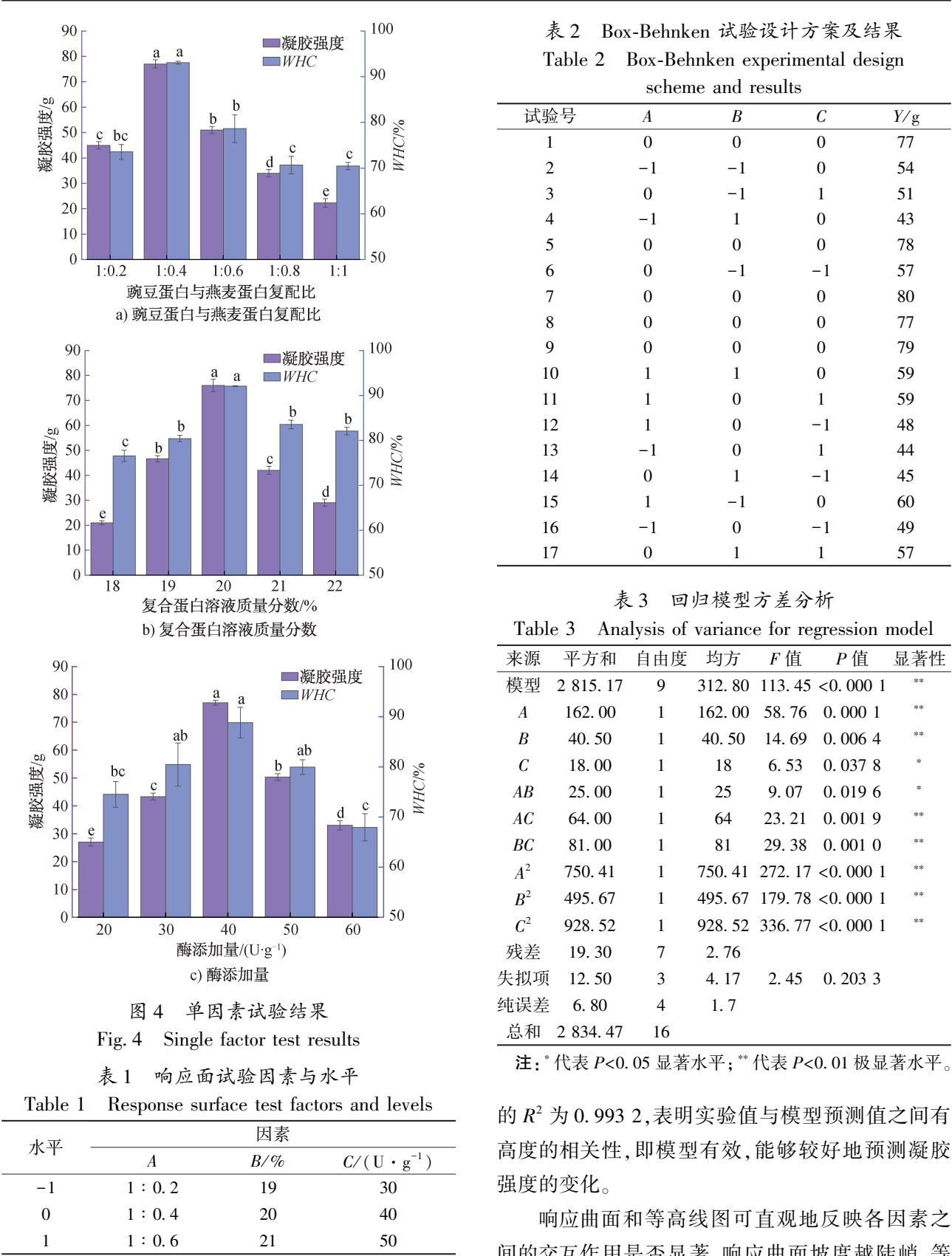


表 2 Box-Behnken 试验设计方案及结果

Table 2 Box-Behnken experimental design scheme and results

试验号	A	B	C	Y/g
1	0	0	0	77
2	-1	-1	0	54
3	0	-1	1	51
4	-1	1	0	43
5	0	0	0	78
6	0	-1	-1	57
7	0	0	0	80
8	0	0	0	77
9	0	0	0	79
10	1	1	0	59
11	1	0	1	59
12	1	0	-1	48
13	-1	0	1	44
14	0	1	-1	45
15	1	-1	0	60
16	-1	0	-1	49
17	0	1	1	57

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for regression model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	2 815.17	9	312.80	113.45	<0.000 1	**
A	162.00	1	162.00	58.76	0.000 1	**
B	40.50	1	40.50	14.69	0.006 4	**
C	18.00	1	18	6.53	0.037 8	*
AB	25.00	1	25	9.07	0.019 6	*
AC	64.00	1	64	23.21	0.001 9	**
BC	81.00	1	81	29.38	0.001 0	**
A ²	750.41	1	750.41	272.17	<0.000 1	**
B ²	495.67	1	495.67	179.78	<0.000 1	**
C ²	928.52	1	928.52	336.77	<0.000 1	**
残差	19.30	7	2.76			
失拟项	12.50	3	4.17	2.45	0.203 3	
纯误差	6.80	4	1.7			
总和	2 834.47	16				

注: * 代表 $P<0.05$ 显著水平; ** 代表 $P<0.01$ 极显著水平。

的 R^2 为 0.993 2,表明实验值与模型预测值之间有高度的相关性,即模型有效,能够较好地预测凝胶强度的变化。

响应曲面和等高线图可直观地反映各因素之间的交互作用是否显著,响应曲面坡度越陡峭,等高线越密集、形状越呈椭圆形,表明两因素的交互作用越显著^[25]。各因素交互作用的等高线和响应曲面图见图 5。由图 5 可知,AC 等高线呈椭圆形、

由表 3 可知,该回归方程 $P<0.000 1$,表明该二元多项回归方程是极显著的。失拟项 $P=0.203 3>0.05$, F 值为 2.45,表明模型拟合效果较好。该模型

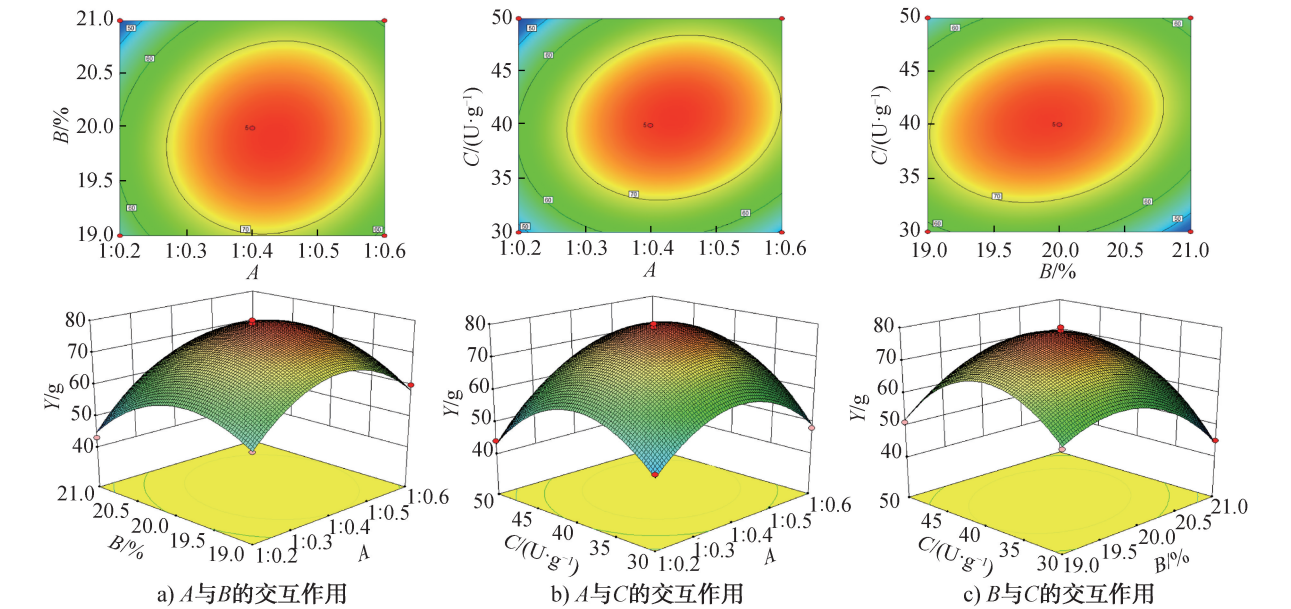


图5 各因素交互作用的等高线及响应曲面图

Fig. 5 Contour lines and response surface diagrams of the interaction between various factors

响应曲面斜率较大,表明二者的交互作用极显著($P<0.01$); BC 次之; AB 等高线所呈椭圆形的形状不明显、响应曲面斜率小,表明二者的交互作用显著($P<0.05$),这与表3结果相一致。

各因素对试验结果的影响大小为 $A>B>C$,复合蛋白凝胶的最佳配方为:豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比1:0.4、复合蛋白溶液质量分数20%、TG酶添加量40 U/g。按照此条件进行验证,得到POPG的凝胶强度为 (78.00 ± 1.63) g,与理论值相接近,证明此回归模型有效。

3 结论

本文以豌豆蛋白和燕麦蛋白为原料,分别加入木瓜蛋白酶、中性蛋白酶、胰蛋白酶、TG酶和漆酶制备了复合蛋白凝胶,并测定了该复合蛋白凝胶的凝胶强度、WHC等,得到如下结论:木瓜蛋白酶添加量为200 U/g、中性蛋白酶添加量为260 U/g、胰蛋白酶添加量为15 U/g、TG酶添加量为40 U/g、漆酶添加量为150 U/g时,POPG表现出较好的凝胶强度及WHC;其中添加TG酶的复合蛋白凝胶的二硫键含量最多,形成的三维网络结构更为均匀稳定。以豌豆蛋白与燕麦蛋白复配比、复合蛋白溶液质量分数、TG酶添加量为变量进行配方优化,采用响应面试验确定了复合蛋白凝胶的最优配方为豌豆蛋白与燕麦蛋白复

配比1:0.4、复合蛋白溶液质量分数20%、TG酶添加量40 U/g。该配方制备出的复合蛋白凝胶表现出较好的凝胶特性,有望作为一种动物脂肪替代物应用到食品工业中,为绿色食品加工提供新思路。

参考文献:

[1] MCLAUCHLAN J, TYLER A I I, CHAKRABARTI B, et al. Oat protein: Review of structure-function synergies with other plant proteins[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 154:110139.

[2] 王可尧,任仙娥,杨锋,等. 大豆和豌豆分离蛋白复合热促凝胶特性的研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(10): 7-11.

[3] 曾琳. 其他植物蛋白的添加对大豆蛋白热诱导凝胶性质的影响[D]. 无锡:江南大学, 2022.

[4] 朱秀清,邓筱琪,朱颖,等. 大豆蛋白凝胶制备及其影响因素的研究进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 405-414.

[5] BRÜCKNER-GÜHMANN M, KRATZSCH A, SOZER N, et al. Oat protein as plant-derived gelling agent: Properties and potential of modification[J]. Future Foods, 2021, 4:100053.

[6] MA Z L, LI L J, WU C L, et al. Effects of combined enzymatic and ultrasonic treatments on the structure and gel properties of soybean protein isolate[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 158:113123.

[7] WU X X, GAO T, XU Z, et al. Effect of combined enzyme and ultrasound treatment on the structure and gel

properties of soy protein isolate: A comparative study of alkaline protease and pepsin[J]. *Colloids and Surfaces a: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2024, 687: 133533.

[8] GUI Y F, LI J H, ZHU Y, et al. Roles of four enzyme crosslinks on structural, thermal and gel properties of potato proteins[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 123:109116.

[9] MCLAUHLAN J, TYLER A I I, CHAKRABARTI B, et al. Oat protein: Review of structure-function synergies with other plant proteins[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 154:110139.

[10] ZHAO Y L, HAN X X, HU N N, et al. Study on properties of TGase-induced pea protein-zein complex gels[J]. *Journal of Food Engineering*, 2023, 354:111578.

[11] 许英一, 徐艳霞, 王宇. 不同方式提取的燕麦蛋白功能特性比较[J]. *食品与机械*, 2018, 34(3):166-169.

[12] LIU S Y, LEI H T, LI L Q, et al. Effects of direct addition of curdlan on the gelling characteristics of thermally induced soy protein isolate gels[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 253:127092.

[13] 戴慧敏, 叶韬, 林琳, 等. 低盐白鲢鱼糜凝胶超高压制备工艺优化及凝胶特性[J]. *食品与机械*, 2018, 34(8):195-202.

[14] 杨晨, 李欣忆, 梁蓝兮, 等. pH 值偏移对豌豆分离蛋白冷致凝胶特性的影响[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(18):11-18.

[15] LUO J Q, LIU S Y, LU H Y, et al. Improvement of kefir fermentation on rheological and microstructural properties of soy protein isolate gels[J]. *Food Research International*, 2023, 174:113489.

[16] 郭永, 张桀奇. 中性蛋白酶修饰处理对豌豆分离蛋白凝胶性的影响[J]. *粮食与油脂*, 2021, 34(9):147-150.

[17] 于国萍, 安静, 初云斌, 等. 转谷氨酰胺酶催化对大豆分离蛋白凝胶性的影响[J]. *东北农业大学学报*, 2010, 41(10):100-107.

[18] 王瑞雪, 李迎秋. CaCl₂ 预处理对 TG 酶诱导的绿豆蛋白凝胶结构特征的影响[J]. *轻工学报*, 2023, 38(4):46-52, 60.

[19] 王瑞雪. 绿豆蛋白凝胶特性的改善及其形成机理的研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2023.

[20] JIA D, HUANG Q L, XIONG S B. Chemical interactions and gel properties of black carp actomyosin affected by MTGase and their relationships[J]. *Food Chemistry*, 2016, 196:1180-1187.

[21] 李杨, 马召蕾, 郑丽, 等. 超声联合酶处理下 TG 酶交联大豆分离蛋白凝胶特性研究[J]. *农业机械学报*, 2022, 53(4):394-402.

[22] 徐潼. 豌豆蛋白对大米蛋白热诱导凝胶特性的影响及其复合凝胶形成机制[D]. 南京: 南京财经大学, 2022.

[23] LI Y, WANG C, HU N N, et al. Effect of heat treatment combined with TG enzyme cross-linking on the zein-pea protein complex: Physicochemical and gel properties[J]. *Gels*, 2024, 10(5):301.

[24] WANG F Q J, GU X L, LÜ M S, et al. Structural analysis and study of gel properties of thermally-induced soybean isolate-potato protein gel system[J]. *Foods*, 2022, 11(22):3562.

[25] 姚秀鸽, 郭燕, 韩闯, 等. 提高黑色素得率的黑木耳发酵配方优化及黑色素的理化性质研究[J]. *菌物学报*, 2024, 43(12):241-254.

Investigation of the preparation and optimization of formulation for pea-oat complex protein gel

LI Mengxiao^{1,2,4}, LIU Chengyang^{1,2}, ZHANG Ling³, DONG Jilin^{1,2,3,4}, SHEN Ruiling^{1,2}, LI Yunlong³

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;

3. Shanxi Functional Food Research Institute, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, China;

4. Zhengzhou University of Light Industry, Food Laboratory of Zhongyuan, Luohe 462300, China

Abstract: The pea-oat complex protein gel (POPG) was taken as the research object, and the gel strength, water holding capacity (WHC), free sulfhydryl content, disulfide bond content and microstructure were cmeasured to investigate the effects of different enzymes (papain, trypsin, neutral protease, transglutaminase (TG enzyme) and laccase) treatment on the properties of POPG. The ratio of pea protein to oat protein, the mass fraction of complex protein solution and the amount of TG enzyme addition were usel as factors to optimize the formula of POPG by single factor and response surface test. When the addition of TG enzyme was 40 U/g, POPG showed good gel strength (83.00 g) and WHC (88.79%). Besides, the above POPG showed lower free sulfhydryl content, higher disulfide bond content, and uniform microstructure. The best formula of complex protein gel was that the ratio of



pea protein to oat protein was 1 : 0.4, the mass fraction of the composite protein solution was 20% , and the TG enzyme addition was 40 U/g. The complex protein gel prepared according to this formula showed a good gel strength (78.00 g). The POPG prepared in this study holds promise as an animal fat substitnte, offering insights for the processing of green food in the futnre.

Key words:pea-oat complex protein gel;enzyme treatment;gel property;formula optimization

[责任编辑:杨晓娟 申慧珊]