

臭氧处理对花生蛋白结构性能的影响

严永红¹ 郑召君² 林 叶² 李进伟²

(无锡中粮工程科技有限公司¹, 无锡 214035)

(江南大学食品学院², 无锡 214122)

摘 要 以花生蛋白为研究对象,深入解析臭氧处理时间(0、2、5、10、20 min)对其结构特征的影响。结果表明:随臭氧处理时间的延长,花生蛋白中苯丙氨酸、甲硫氨酸和半胱氨酸的比例逐渐下降;花生蛋白中巯基含量随臭氧处理时间延长而显著降低,其二硫键与羰基含量则正相反,随处理时间增加而呈上升趋势;0~10 min 时,花生蛋白的变性温度和吸热焓随臭氧处理时间延长而明显升高,说明臭氧有助于提升蛋白的热稳定性,然而其表面疏水性则呈降低趋势;此外,圆二色光谱显示臭氧处理可改变花生蛋白二级结构,使蛋白质中 α -螺旋、 β -折叠以及 β -转角结构逐渐向无规则卷曲结构转变;SDS-PAGE 电泳证实了大分子蛋白聚集体(>250 ku)的生成,这可能是由于部分蛋白分子的二硫键被臭氧氧化而发生交联和聚集引起的。由此可见,臭氧处理可显著改变花生蛋白的结构特性,主要表现为时间依赖性。

关键词 花生蛋白 臭氧处理 结构 二硫键

中图分类号: TS222+.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-0174(2021)01-0061-07

网络首发时间: 2020-11-27 13:47:49

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.TS.20201127.1108.014.html>

作为我国重要的油料作物,花生年产量已逾 1700 万 t,其中约 50% 以上用于榨油^[1]。而榨油后副产物——花生蛋白质含量高,约占 40%~50%,其必需氨基酸含量约占总蛋白的 11% 左右,是一种优质的植物性蛋白资源^[2-4]。然而花生蛋白在加工利用过程中易受氧化剂的影响,蛋白质结构特性发生改变,进而影响相关产品的品质。因此,解析氧化剂对花生蛋白结构特性的影响对改善产品加工品质具有重要意义。

作为一种可接触型食品氧化剂和消毒剂,臭氧自从 1977 年被美国 FDA 公认为食品类安全添加剂以来,被广泛应用于食品工业领域^[5]。臭氧处理可以改变麦谷蛋白的二级结构,提高其蛋白分子尺寸及紧密度,进而改变面团的流变特性,并对小麦粉具有增白效果^[6,7]。臭氧具有杀菌消毒作用,安全无污染,也常被应用于水产品的加工与贮藏^[8]。此外,有研究表明臭氧有助于氧化降解花生仁、玉米、开心果中的黄曲霉毒素^[9,10],且其对花生仁的降毒效果明

显优于小麦粉^[11]。林叶等^[12]发现臭氧处理可降低花生中黄曲霉毒素 B₁(140 μ g/kg),使其低于国家标准 GB 13078—2001 的限量要求,但臭氧处理会导致蛋白体外消化率与溶解性、乳化性、凝胶性等功能特性的降低。因此,臭氧因其氧化、消毒和降毒功能而被广泛应用于食品加工过程,但臭氧处理对花生蛋白结构特性的影响尚不明晰。

本研究以花生蛋白为研究对象,探讨臭氧处理前后蛋白的氨基酸组成、空间结构、巯基以及羰基变化,进而深入探讨臭氧处理对花生蛋白结构特性的影响,为臭氧应用于花生提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

花生、丙烯酰胺、1-苯氨基萘-8-磺酸、(ANS)、四甲基乙二胺(TEMED)、5,5'-二硫代二硝基苯甲酸(5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid),DTNB)、十二烷基硫酸钠等试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

HY-003 臭氧发生器, Jasco J-715 圆二色谱仪, Waters 高效液相色谱仪, F-7000 荧光光谱仪, FE20 pH 计, HH-4 数显恒温水浴锅, TA Q100 差示

收稿日期: 2020-03-29

作者简介: 严永红,女,1975 年出生,工程师,油脂与植物蛋白工程

通信作者: 李进伟,男,1972 年出生,教授,油脂与植物蛋白工程

扫描量热仪。

1.3 试验方法

1.3.1 臭氧处理花生粕

花生粕样品(100 g)置于通入 100 mg/L 臭氧的空气洗瓶中,此时气体流量为 4.0 L/min,每充气两分钟充分振摇一次,并于臭氧处理 0、2、5、10、20 min 时收集样品,即为不同臭氧处理时间下的花生粕样品。

1.3.2 提取花生蛋白

参考 Reddy 等^[3]花生蛋白提取方法,并稍作修改。处理前后的花生样品溶于去离子水以制备浓度为 10% 的溶液,随后加入 2 mol/L NaOH 溶液调节至 pH 9.0。室温震荡 1 h 后 9 690 g、4℃离心 30 min,收集上清液。而后加入 2 mol/L HCl 调节 pH 至 4.5 以沉淀蛋白,9 690 g、4℃离心 20 min,收集沉淀后加水复溶,并调节溶液至 pH 7.0。冷冻干燥获得花生蛋白样品,4℃储存备用,并采用凯氏定氮法测定蛋白含量。

1.3.3 氨基酸组成测定

150 mg 花生蛋白样品与 8 mL 6 mol/L HCl 混合均匀,置于 110℃条件下水解约 22 h。水解液过滤、离心,收集上清液,采用高效液相色谱法测定样品中氨基酸含量。

1.3.4 巯基与二硫键含量测定

参照 Beveridge 等^[4]报道的方法,测定臭氧处理前后花生蛋白的游离巯基(SH)与二硫键(-S-S-)含量。按照式(1)计算总巯基(Total SH)含量。

$$\text{总巯基含量}/(\mu\text{mol/g Pro}) = 2 \times \text{二硫键含量} + \text{游离巯基含量} \quad (1)$$

1.3.5 羰基含量测定

参考 Levine 等^[5]的方法并稍作修改。将 1.0 mL 花生蛋白溶液(2 mg/mL)与 3.0 mL 10 mmol/L 2,4-二硝基苯肼溶液(含 2 mol/L HCl)混合均匀,室温条件下避光反应 1 h。在上述混合液中加入 1 mL 三氯乙酸(50%)后,10 000 g 离心 20 min 收集沉淀,并用乙醇-乙酸乙酯溶液(1:1)反复洗涤沉淀 3 次。之后加入 3 mL 盐酸胍溶液(6 mol/L),37℃水浴 20 min 溶解沉淀,并于 367 nm 波长处测定所得溶液的吸光值。

1.3.6 差示量热扫描

采用差示扫描量热仪(DSC)测定花生蛋白的热性质。2.5 mg 样品加入 10 μL 磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.0)混匀加入铝盘并密封,进行

DSC 扫描,温度扫描范围 20 ~ 110℃,升温速率 5℃/min。利用 Universal Analysis 2000 软件处理图谱获得花生样品的变性温度(T_d)和总变性焓(ΔH , J/g 干物质)。

1.3.7 表面疏水性测定

参照 Kato 等^[6]方法,利用 ANS 荧光探针法测定臭氧处理前后花生蛋白的表面疏水性。采用磷酸盐缓冲液(10 mmol/L, pH 7.0)配制一系列花生蛋白溶液,溶度分别为 0.05、0.1、0.2、0.5、1 mg/mL。随后将 20 μL ANS 溶液加入至 4.0 mL 蛋白溶液中,混合均匀,利用荧光光谱仪进行荧光强度的测定,激发波长和发射波长分别为 365、484 nm。蛋白质表面疏水性则表示为荧光强度随蛋白质浓度变化曲线的初始斜率。

1.3.8 圆二色(CD)光谱测定

参考 Zhao 等^[7]方法并稍作调整。10 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.0)溶解花生蛋白制备浓度为 0.25 mg/mL 的样品溶液,并利用 CD 光谱仪分析其 CD 特性。主要参数为:扫描波长 190 ~ 250 nm,扫描宽度 1.0 nm,扫描速率 100 nm/min,扫描频率 5 次。记录光谱并分析花生蛋白的二级结构。

1.3.9 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析

参照 Jiang 等^[8]方法并稍作修改,分别采用还原型和非还原型 SDS-PAGE 方法测定花生蛋白的分子量分布。分离胶和浓缩胶浓度分别为 12% 和 4%,上样 10 μL,在恒流模式下进行蛋白电泳。与非还原型 SDS-PAGE 相比,还原型 SDS-PAGE 蛋白电泳样品另外加入 1 mmol/L β-巯基乙醇。电泳结束后,采用考马斯亮蓝染液对蛋白胶进行染色,随后利用甲醇-醋酸溶液脱色,并用凝胶成像仪采集电泳图像。

1.4 数据统计分析

本研究试验组内测定 3 次平行,结果采用“均值 ± 标准误”形式表示,并采用 Origin 8.0 统计软件进行数据统计分析并作图,不同的小写字母表示 $P < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 臭氧处理对花生蛋白氨基酸组成的影响

蛋白质一级结构主要表现为氨基酸组成与含量,氨基酸组成的差异影响蛋白质的结构与功能^[9]。众所周知,加工处理过程可能会造成氨基酸的差异,这与底物蛋白、氨基酸类型以及加工方式有关^[2]。

因此,臭氧处理对花生蛋白氨基酸组成的影响见表1。花生蛋白中占比最高的必需氨基酸为苯丙氨酸,其含量随臭氧处理时间延长而呈下降趋势,这可能是由于部分苯丙氨酸被臭氧氧化成酮类化合物^[21]。类似的是,甲硫氨酸和半胱氨酸等含硫氨基酸含量也呈现出时间依赖性,随臭氧处理时间增加而逐渐下降。推测其原因,可能是因为臭氧氧化含硫氨基酸的巯基生成二硫化物类,从而导致甲硫氨酸和半胱氨酸分别转化为砒和胱氨酸^[21, 22]。相比较而言,其他氨基酸含量变化不明显,这可能与氨基酸种类以及氨基酸残基所处蛋白质中的位置有关,氨基酸残基蜷缩于空间结构内部,呈现相对稳定状态而不易被臭氧氧化或对臭氧作用不敏感。

表1 臭氧处理前后花生蛋白的氨基酸组成/%

处理时间	0 min	2 min	5 min	10 min	20 min
缬氨酸	4.52	4.72	4.59	4.51	4.48
甲硫氨酸	0.64	0.53	0.52	0.47	0.41
苯丙氨酸	5.52	4.71	4.30	4.34	4.14
异亮氨酸	3.75	3.83	3.78	3.68	3.78
亮氨酸	6.78	6.71	6.82	6.79	6.85
赖氨酸	3.45	3.67	3.47	3.52	3.59
苏氨酸	2.76	2.80	2.82	2.86	2.87
天冬氨酸	11.89	11.82	12.21	12.43	12.14
谷氨酸	22.3	21.95	22.39	22.32	22.54
丝氨酸	4.93	4.92	5.04	4.79	4.95
组氨酸	2.37	2.60	2.43	2.53	2.46
甘氨酸	5.94	6.20	5.96	5.91	5.94
精氨酸	12.09	12.60	12.17	12.12	12.38
丙氨酸	4.11	4.02	4.21	4.23	4.21
酪氨酸	3.52	3.42	3.63	3.74	3.86
半胱氨酸	0.66	0.63	0.67	0.61	0.56
脯氨酸	4.77	4.87	4.99	4.87	4.84

2.2 臭氧处理对花生蛋白巯基与二硫键的影响

臭氧处理导致花生蛋白甲硫氨酸和半胱氨酸含量下降,这可能与其内部的巯基和二硫键息息相关,而其含量的变化标志着蛋白质氧化^[23]。由图1可知,随着臭氧处理时间延长,巯基含量显著性下降($P < 0.05$),而二硫键含量则呈现明显上升趋势。究其原因,可能是臭氧处理过程中形成氧自由基,氧化巯基而形成二硫键,导致巯基下降而二硫键升高的现象^[24];此外,臭氧可以促进巯基与其他化合物发生反应,从而降低游离巯基含量^[25]。臭氧处理后花生蛋白中二硫键含量的不断增加也许与巯基以及含硫基团被氧化有关,或者是两分子的半胱氨酸侧链上的巯基发生聚合形成胱氨酸,从而提高了二硫键含量。相似地是,Liu等^[26, 27]研究发现,氧自由基导致氧化蛋白质的二硫键含量升高而巯基含量下降。值得注

意的是,花生蛋白质中二硫键约是同等条件下巯基含量的几十倍,因此总巯基与二硫键含量变化趋势相似,随臭氧处理时间延长而逐渐增加。

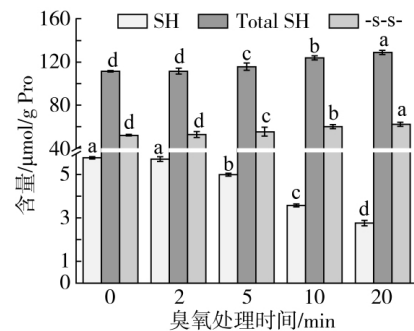


图1 臭氧处理对花生蛋白巯基和二硫键含量的影响

2.3 臭氧处理对花生蛋白羰基含量的影响

蛋白质中的氨基酸侧链基团易被氧化剂氧化成羰基衍生物,因此羰基含量的变化直接与蛋白质氧化程度相关联^[28]。由图2可知,与对照组相比,臭氧处理导致花生蛋白质中羰基含量显著提升,且随臭氧处理时间延长而不断上升。这说明臭氧导致部分蛋白发生氧化反应,产生氧自由基,而活性氧则会攻击氨基酸残基中游离氨基或亚氨基生成羰基,或是高活性氧自由基导致肽链骨架断裂而生成羰基衍生物^[29]。此外,样品中残留脂质在臭氧作用下氧化形成高活性的自由基,从而与花生蛋白残基反应,导致蛋白质中羰基含量增加^[30]。

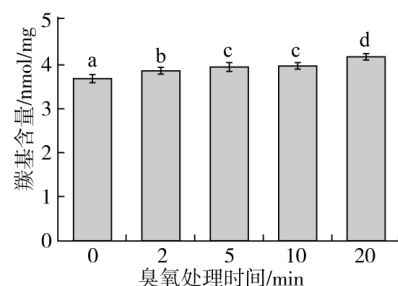


图2 臭氧处理对花生蛋白羰基含量的影响

2.4 臭氧处理对花生蛋白热性质的影响

臭氧处理可导致蛋白构象变化,从而改变了蛋白质的热稳定性。与对照组相比,臭氧处理导致花生蛋白的初变性温度(T_m)以及变性温度(T_d)升高,进而引起吸热焓增加,表明臭氧可使蛋白质热稳定性提高,蛋白质结构舒展变性需要更高的能量(表2)。随着臭氧处理时间延长,花生蛋白的变性温度呈上升趋势,这可能是因为臭氧处理导致二硫键共价聚集形成更紧密的蛋白结构,进而强化了蛋白热稳定性^[31]。相同地是,在0~10 min时,花生蛋白的

吸热焓与臭氧处理时间呈正相关,但处理 20 min 后的花生蛋白吸热焓略有下降。原因可能是长时间臭氧处理破坏蛋白有序的折叠结构,这与臭氧作用于小麦蛋白的结果相似^[32]。

表 2 臭氧处理前后花生蛋白的变性温度及变性焓

处理时间 /min	初变性温度 (T_m /°C)	变性温度 (T_d /°C)	吸热焓 (ΔH /J* g ⁻¹)
0	95.16	103.06	1.693
2	96.08	105.04	4.219
5	96.45	105.23	4.916
10	97.06	105.30	5.232
20	97.10	105.30	4.813

2.5 臭氧处理对花生蛋白表面疏水性的影响

如上所述,臭氧处理导致苯丙氨酸和蛋氨酸等疏水性氨基酸含量有所下降,由此推测臭氧可能影响花生蛋白的表面疏水性。由图 3 可知,0~10 min 臭氧处理可导致花生蛋白的表面疏水性下降,处理时间与表面疏水性呈负相关线性关系($R^2=0.9881$)。由此可推断,臭氧逐渐氧化花生蛋白表面的疏水性基团,降低疏水性;或者是臭氧作用加剧了花生蛋白内部的疏水性基团的过度暴露,基团之间彼此相互作用,导致部分疏水性位点被遮盖,从而降低了疏水性。而相反地是,臭氧处理 20 min 的花生蛋白表面疏水性反而显著高于处理 10min 的样品,表明过度臭氧处理加速暴露蛋白内部的疏水性基团;也可能是长时间臭氧氧化生成具有疏水特性的化合物,反而增加了花生蛋白的表面疏水性。

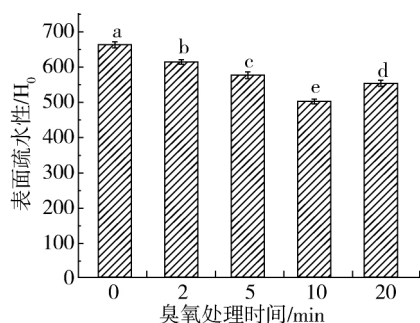


图 3 臭氧处理对花生蛋白表面疏水性的影响

2.6 臭氧处理对花生蛋白二级结构的影响

CD 光谱是表征蛋白质二级结构变化的一种精准、快速技术。如图 4 所示,对照组(臭氧处理 0 min)在 195~200 nm 呈现正峰模式,210 nm 左右则显示出负峰,表明花生蛋白具有明显的 α -螺旋/ β -折叠结构。而经过臭氧处理后,花生蛋白的 CD 光谱强度呈现随处理时间延长而逐渐降低趋势,正峰

波长随处理时间延长而发生蓝移,负峰波长则发生红移现象。由此推测,臭氧可诱导花生蛋白二级结构的变化,有序蛋白结构逐渐失稳转向不规则的二级结构。从表 3 也可以看出,臭氧处理导致花生蛋白中 α -螺旋、 β -折叠以及 β -转角结构的比例明显减少,随处理时间延长而逐渐下降,相反地,无规则卷曲结构所占比例呈现显著上升趋势。这说明臭氧可导致花生蛋白结构的部分展开或者发生蛋白聚集,从而使其严谨有序的二级结构趋于松散^[33,34]。此外,臭氧处理后蛋白二级结构的变化也可能与二硫键共价聚集有关,从而导致蛋白发生部分聚集,这与图 1 的结果相一致。

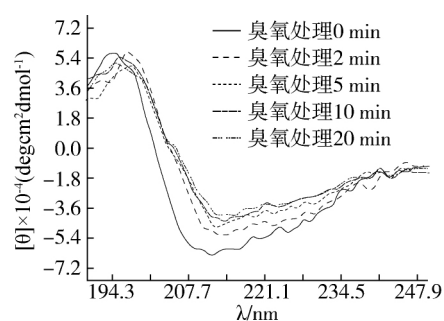


图 4 臭氧处理前后花生蛋白的圆二色谱图

表 3 臭氧处理前后花生蛋白的二级结构组成

处理时间 /min	二级结构质量分数/%			
	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规则卷曲
0	23.8 ± 1.2	21.8 ± 1.2	19.7 ± 0.7	34.7 ± 1.4
2	22.3 ± 0.9	22.4 ± 0.8	18.9 ± 1.3	36.4 ± 0.6
5	20.6 ± 0.7	21.9 ± 0.4	16.9 ± 0.4	40.6 ± 0.4
10	18.7 ± 1.1	21.7 ± 0.8	14.9 ± 1.1	44.7 ± 0.7
20	18.1 ± 0.7	21.2 ± 1.1	12.6 ± 0.9	48.1 ± 1.0

2.7 臭氧处理花生蛋白的电泳分析

臭氧处理不同时间条件下花生蛋白的非还原和 β -巯基乙醇还原型 SDS-PAGE 结果如图 5 所示。由图 5a 可以看出,大分子蛋白条带(>250 ku)发生明显迁移现象,随臭氧处理时间的延长,该条带亮度逐渐增加且上移。推测原因是臭氧处理使蛋白分子间的二硫键发生一定程度的聚集和交联,形成新的大分子蛋白聚集体^[24,35],这与二硫键含量随臭氧处理时间延长而增加的结果(图 1)相符。而由图 5b 可知,>250 ku 条带和花生球蛋白 II 亚基(61 ku)条带并未发生迁移但颜色明显变浅甚至消失,这可能是因为在还原态电泳中, β -巯基乙醇的加入打断了大分子蛋白聚集体中的二硫键。相比于非还原态电泳,经 β -巯基乙醇处理后的花生球蛋白(40.5、

37.5、35.5、23.5 ku) 和伴花生球蛋白 I 亚基(18.0、17.0、15.5 ku) 条带明显变粗变亮,但臭氧处理的影响效果甚微。由此可知,臭氧处理可诱导花生蛋白中二硫键发生一定程度的交联和聚集,其处理时间与聚集程度呈正相关,进而在一定程度上改变了蛋白结构。

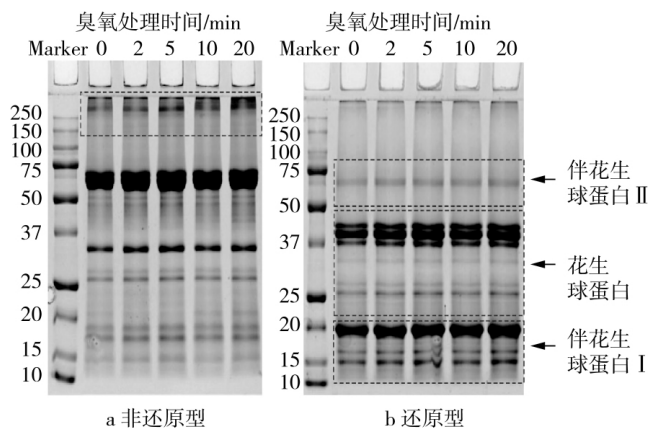


图5 臭氧处理前后花生蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

3 结论

本研究借助氨基酸分析、圆二色谱、SDS-PAGE 等技术深入表征臭氧处理对花生蛋白结构特性的影响。研究发现,臭氧处理可显著降低苯丙氨酸和含硫氨基酸(甲硫氨酸和半胱氨酸)含量,且其含量随处理时间延长而逐渐下降。相似地,随着臭氧处理时间的增加,花生蛋白的巯基含量显著下降,而二硫键以及羰基含量则呈上升趋势,这可能与臭氧促进蛋白质氧化有关。此外,臭氧处理有助于提升花生蛋白的热稳定性,其变性温度和吸热焓随臭氧处理时间(0~10 min) 延长而增加,表面疏水性总体则呈下降趋势。有趣的是,臭氧作用可诱导花生蛋白中 α -螺旋、 β -折叠以及 β -转角结构比例的下降,而无规则卷曲结构则呈现显著上升趋势,说明臭氧处理可导致蛋白质的二级结构发生明显变化。SDS-PAGE 电泳结果也表明,臭氧氧化可诱导花生蛋白中二硫键发生部分交联和聚集,产生大分子蛋白聚集体(>250 ku)。综合而言,臭氧主要通过作用于分子内的巯基和二硫键而改变花生蛋白的结构特性。

参考文献

[1] 张群. 花生肽制备关键技术研究[J]. 食品与生物技术学报, 2017(2): 118

ZHANG Q. Study on the key preparation technique of peanut peptides[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017(2): 118

[2] Zeng Q Z, Cui Y L, Su D X, et al. Process optimization and anti-oxidative activity of peanut meal maillard reaction products[J]. LWT, 2018, 97: 573-580

[3] 韩昊天, 李晓彤, 吴澎, 等. 花生多肽研究进展[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(10): 140-146

HAN H T, LI X T, WU P, et al. Research Progress of Peanut Peptide[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2019, 34(10): 140-146

[4] 宁庆鹏, 王常青, 方甜, 等. 酶法制备花生醒酒多肽[J]. 食品科学, 2016, 37(13): 173-177

NING Q P, WANG C Q, FANG T, et al. Preparation of polypeptides with sobering effect from peanut meal by enzymatic Hydrolysis[J]. Food Science, 2016, 37(13): 173-177

[5] ALEXANDREE M C, BRANDÃO R S, SILVA C L M. modelling microbial load reduction in foods due to ozone impact[J]. Procedia Food Science, 2011(1): 836-841

[6] GOZÉ, P, et al. Effects of ozone treatment on the molecular properties of wheat grain proteins[J]. Journal of Cereal Science, 2017, 75: 243-251

[7] 钱建亚, 吴秋艳, 高晓燕. 臭氧处理对小麦面筋蛋白功能和流变学性质的影响[J]. 扬州大学烹饪学报, 2017, 34(1): 51-55

Q J Y, WU Q Y, GAO X Y. Effect of ozone on functional and rheological properties of wheat gluten protein[J]. Culinary Science Journal of Yangzhou University, 2017, 34(1): 51-55

[8] JIANG W X, HE Y F, XIONG S B, et al. Effect of mild ozone oxidation on structural changes of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) myosin[J]. Food and Bioprocess Technology, 2017, 10(2): 370-378

[9] MCKENZIE S, SARR A B, MAYURA K, et al. Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone[J]. Food and Chemical Toxicology, 1997, 35(8): 807-820

[10] AKBAS M Y, OZDEMIR M. Effect of different ozone treatments on aflatoxin degradation and physicochemical properties of pistachios[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2006, 86(13): 2099-2104

[11] PROCTOR D, AHMEDNA M, KUMAR J V, et al. Degradation of aflatoxins in peanut kernels/flour by gaseous ozonation and mild heat treatment[J]. Food Additives & Contaminants, 2004, 21(8): 786-793

[12] 林叶, 李进伟, 蒋将, 等. 臭氧去除黄曲霉毒素 B₁ 工艺优化及其对花生营养品质的影响[J]. 中国油脂, 2015, 40(11): 28-32

- LIN Y, LI J W, JIANG J, et al. Optimization of removal of AFB1 by ozone and its effect on nutrition quality of peanut meal [J]. China Oils and Fats, 2015, 40(11): 28 – 32
- [3] REDDYN, JIANG Q, YANG Y. Preparation and properties of peanut protein films crosslinked with citric acid [J]. Industrial Crops and Products, 2012, 39: 26 – 30
- [4] BEVERIDGET, TOMA S J, NAKAI S. Determination of SH – and SS – groups in some food proteins using Ellman's Reagent [J]. Journal of Food Science, 2006, 39(1): 49 – 51
- [5] LEVINER L, GARLAND D, OLIVER C N, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins [J]. Methods in Enzymology, 1990, 186: 464 – 478
- [6] KATOA, NAKAI S. Hydrophobicity Determination by a Fluorescence Probe Method and its Correlation with Surface Properties of Proteins [J]. Biochemist Biophysics Acta, 1980, 624(1): 13 – 20
- [7] ZHAO J, XIONG Y L, MCNEAR D H. Changes in Structural Characteristics of Antioxidative Soy Protein Hydrolysates Resulting from Scavenging of Hydroxyl Radicals [J]. Journal of Food Science, 78(2): C152 – C159
- [8] JIANG J, CHEN J, XIONG Y L. Structural and Emulsifying Properties of Soy Protein Isolate Subjected to Acid and Alkaline pH – Shifting Processes [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 57(16): 7576 – 7583
- [9] CHALAMAIAHM, KUMAR B, DINESH H R, et al. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review [J]. Food Chemistry, 2012, 135(4): 3020 – 3038
- [10] DENG Y, LUO Y L, WANG Y G, et al. Effect of different drying methods on the myosin structure, amino acid composition, protein digestibility and volatile profile of squid fillets [J]. Food Chemistry, 2015, 171: 168 – 176
- [11] CATALDO, F. On the action of ozone on proteins [J]. Polymer Degradation and Stability, 2003, 82(1): 105 – 114
- [12] MUDD J B, LEAVITT R, ONGUN A, et al. Reaction of ozone with amino acids and proteins [J]. Atmospheric Environment, 1969, 3(6): 669 – 681
- [13] LUND M N, HEINONEN M, BARON C P, et al. Protein oxidation in muscle foods: a review [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2011, 55(1): 83 – 95
- [14] 李文协, 李学鹏, 刘慈坤, 等. 臭氧水漂洗对鲮鱼鱼糜品质及肌原纤维蛋白氧化的影响 [J/OL]. 食品工业科技, 2020, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20200226.1039.005.html>
- LI W X, LI X P, LIU C K, et al. Effects of ozone water rinsing on the qualities of Spanish mackerel surimi and oxidation of surimi myofibrillar proteins [J/OL]. Science and Technology of Food Industry, 2020, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20200226.1039.005.html>
- [15] 庄坤, 丁文平, 刘成龙. 臭氧处理对糯米中氨基酸组成的影响 [J]. 食品科技, 2016(5): 146 – 150
- ZHUANG K, DING W P, LIU C L. Effect of ozone treatment on the amino acid composition of glutinous rice [J]. Food Science and Technology, 2016(5): 146 – 150
- [16] LIUG, XIONG Y L. Oxidatively induced chemical changes and interactions of mixed myosin, β – lactoglobulin and soy 7S globulin [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2000, 80(11): 1601 – 1607
- [17] LIU G, XIONG Y L, BUTTERFIELD D A. Chemical, physical, and gel – forming properties of oxidized myofibrils and whey – and soy – protein isolates [J]. Journal of Food Science, 2000, 65(5): 811 – 818
- [18] ESTEVEZ M. Protein carbonyls in meat system: A review [J]. Meat Science, 2011, 89(3): 259 – 279
- [19] STADTMAN E R, LEVINE R L. Free radical – mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins [J]. Amino Acids, 25(3 – 4): 207 – 218
- [20] ZAMORAR, ALAIZ M, HIDALGO F J. Modification of histidine residues by 4,5 – epoxy – 2 – alkenals [J]. Chemical Research in Toxicology, 1999, 12(7): 654 – 660
- [21] GOROBETSM G, WASSERMAN L A, BYCHKOVA A V, et al. Thermodynamic features of bovine and human serum albumins under ozone and hydrogen peroxide induced oxidation DSC study [J]. Chemical Physics, 2019, 523: 34 – 41
- [22] MOHAMMEDO, ZHU K X, PENG W, et al. Effect of ozone gas processing on physical and chemical properties of wheat proteins [J]. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2016, 15(10): 1319 – 1326
- [23] GREENFIELD N J. Applications of circular dichroism in protein and peptide analysis [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 1999, 18(1): 236 – 244
- [24] MOHAMMADIANA M, MADADLOU A. Characterization of fibrillated antioxidant whey protein hydrolysate and comparison with fibrillated protein solution [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52: 221 – 230
- [25] HE XH, LIU H Z, LIU L, et al. Effects of high pressure on the physicochemical and functional properties of peanut protein isolates [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 36: 123 – 129.

Effects of Ozone on the Structural Characteristics of Peanut Protein

Yan Yonghong¹ Zheng Zhaojun² Lin Ye² Li Jinwei²

(Wuxi Scientific Research & Design Institute of the State Administration of Grain¹, Wuxi 214035)

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University², Wuxi 214112)

Abstract In this experiment, the peanut meal protein was treated by ozone with different time (0, 2, 5, 10 and 20 min), and the protein structural changes were characterized. The results showed that the proportions of phenylalanine, methionine, and cysteine in peanut meal protein were decreased with the increasing time of ozone treatment. As the increase of ozone treatment time (0 ~ 10 min), the contents of sulfhydryl groups were remarkably reduced, and the contents of disulfide and carbonyl groups were decreased. Similarly, ozone treatment led to a drastic elevation of denaturation temperature and endothermic enthalpy, indicating the benefit of ozone on the thermostability of peanut meal protein. The surface hydrophobicity of peanut meal protein was also reduced by 0 – 10 min ozone treatment. Besides, the spectra of circular dichroism demonstrated that ozone could change the secondary structure of peanut meal protein, presenting the structural transformation from α – helix, β – sheet and β – turn to random coil. SDS – PAGE further evidenced the formation of macromolecular protein aggregates (>250 ku), which might be attributed to the cross – link and aggregation of disulfide groups occurred in the peanut meal protein. Therefore, ozone treatment could significantly change the structural properties of peanut meal protein, mainly presented as time – dependence.

Key words peanut protein, ozone treatment, structure, disulfide groups