周小虎, 谢鑫, 刁欣蕊, 等. pH 循环法制备豌豆-草鱼双蛋白及营养特性分析 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(12): 147−155. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025090118
ZHOU Xiaohu, XIE Xin, DIAO Xinrui, et al. Preparation and Nutritional Characterization of Pea–Grass Carp Dual-Protein by pH Cycling Method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(12): 147−155. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025090118

· 研究与探讨 ·

pH 循环法制备豌豆-草鱼双蛋白及营养特性分析

周小虎[1,2,3,4], 谢　鑫[2], 刁欣蕊[2], 陈　捷[2], 赵良忠[2], 陈　浩[2], 李　杨[1,3,*], 吕　平[1,3], 李　斌[1,3], 刘书成[4]
（1.东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030;
2.邵阳学院食品与化学工程学院, 豆制品加工与安全控制湖南省重点实验室, 湘味特色食品绿色加工与装备湖南省工程研究中心, 湖南邵阳 422000;
3.浙江道济农业科技发展有限公司, 浙江嘉兴 314000;
4.广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524000）

摘　要: 为获得性能优良且具有优异营养特性的共沉淀双蛋白，本研究系统探讨了不同溶解 pH（2.0、3.0、9.0、10.0 和 11.0）对豌豆-草鱼双蛋白（Co）营养品质及理化特性的影响，测定其最适沉淀 pH、基本成分、粒径、Zeta-电位、蛋白质亚基组成、氨基酸组成、消化特性等。结果表明，Co 的最适沉淀 pH 为 5.0；pH 循环法制备的 Co 均属于优质蛋白质，含有异源蛋白主要亚基，氨基酸种类齐全，其中蛋氨酸含量明显高于豌豆蛋白。理化分析显示，碱法 Co（Co9、Co10 和 Co11）相比酸法（Co2、Co3）具有较高的 α-螺旋和较低的 β-折叠比例；SDS-PAGE 实验表明，碱法有利于回收易消化的蛋白组分；碱法 Co 具有较小的粒径和较高的 Zeta-电位绝对值。营养特性分析表明，Co10 粗蛋白含量达 86.98%，必需氨基酸/总氨基酸比值为 40%，体外消化率及其修正的氨基酸分别为 86.16%、1.04。Co10 具有商业推广应用价值。综上，pH 循环的碱法是制备豌豆-草鱼双蛋白的理想策略，更具营养优势。

关键词: pH 循环, 豌豆, 草鱼, 双蛋白, 营养特性, 消化率
中图分类号: TS254.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)12−0147−09
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025090118
本文网刊:

Preparation and Nutritional Characterization of Pea–Grass Carp Dual-Protein by pH Cycling Method

ZHOU Xiaohu[1,2,3,4], XIE Xin[2], DIAO Xinrui[2], CHEN Jie[2], ZHAO Liangzhong[2], CHEN Hao[2], LI Yang[1,3,*], LÜ Ping[1,3], LI Bin[1,3], LIU Shucheng[4]
（1.College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;
2.College of Food Science and Chemical Engineering, Shaoyang University, Hunan Provincial Key Laboratory of Soybean Products Processing and Safety Control, Hunan Engineering Research Center of Green Processing and Equipment of Hunan-style Food, Shaoyang 422000, China;
3.Zhejiang Daoji Agricultural Science and Technology Development Co., Ltd., Jiaxing 314000, China;
4.College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524000, China）

Abstract: To obtain high quality co-precipitated dual proteins with desirable functional properties and enhanced nutritional

收稿日期: 2025−09−12
基金项目: 广东省水产品加工与安全重点实验室开放基金课题（GDPKLAPPS2205）; 邵阳市科技计划项目（2024GZ1001, 2024PT4043）; 湖南省教育厅科学研究项目 (25B0707)。
作者简介: 周小虎（1989−）, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 豆制品加工与安全控制, E-mail: foodxiaohu@hnsyu.edu.cn。
*** 通信作者:** 李杨（1981−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 粮食、油脂及植物蛋白工程, E-mail: liyanghuangyu@163.com。

value, this study systematically evaluated the effects of varying dissolution pH levels (2.0, 3.0, 9.0, 10.0, and 11.0) on the nutritional and physicochemical properties of pea-grass carp dual protein (Co). Parameters including optimal precipitation pH, proximate composition, particle size, Zeta potential, protein subunit composition, amino acid profile, and digestibility were analyzed. Results indicated that the optimal precipitation pH for Co was 5.0. All Co samples prepared by the pH cycling method were identified as high-quality proteins, containing major heterologous protein subunits and a full spectrum of amino acids, with methionine content significantly higher than that of pea protein alone. Physicochemical analyses revealed that alkaline-processed Co samples (Co9, Co10, and Co11) exhibited higher α-helix and lower β-sheet ratios compared to acid-processed ones (Co2, Co3). SDS-PAGE results demonstrated that the alkaline method facilitated the enrichment of readily digestible protein fractions. Alkaline-processed Co also showed smaller particle sizes and higher absolute Zeta potential values. Nutritional profiling indicated that Co10 had a crude protein content of 86.98%, an essential-to-total amino acid ratio of 40%, and *in vitro* protein digestibility and corrected amino acid score of 86.16% and 1.04, respectively. These attributes support the commercial potential of Co10. In conclusion, the alkaline pH cycling method represents a promising approach for preparing pea–grass carp dual protein with superior nutritional benefits.

Key words: pH cycling; pea; grass carp; dual-protein; nutritional characterization; digestibility

蛋白质作为人类的必需营养素之一，为人类的生长发育提供了必需氨基酸[1]。然而，单一来源的膳食蛋白容易造成营养缺乏症，因此在我国提出“双蛋白战略”背景下，开发兼具优良营养与功能特性的动植物复合蛋白产品逐渐成为研究热点[2-3]。豌豆种植广泛，具有成本低、蛋白质含量高、赖氨酸丰富及低致敏性等优点[4]。豌豆与大豆等豆类作物相似，其第一限制性氨基酸为蛋氨酸，限制了其在食品体系中的广泛应用[5]。草鱼是四大家鱼之一，常年位居中国淡水鱼产量第一；草鱼蛋白消化率高，且富含蛋氨酸，属于优质动物蛋白，但其溶解度差、稳定性低，常需复合加工以改善性能[6−7]。因此，豌豆蛋白与草鱼蛋白有复合成为双蛋白的潜质。

pH 循环法是制备共沉淀双蛋白（Co-precipitated proteins, Co）的常用技术，先将异源蛋白置于同一极端酸性或碱性溶液中，使其结构部分展开，而后将 pH 调回到异源蛋白的中间等电点，此过程中异源蛋白“熔球”因带相反（正、负）电荷而发生静电互作主导的重折叠，并形成新的构象[8]。目前，pH 循环法已被广泛应用于制备多种双蛋白体系，如大豆-罗非鱼[8]、豌豆-乳清[9] 等。研究表明，采用 pH 循环法制备双蛋白可以有效改善单一蛋白质的氨基酸组成，提高消化率，获得更为良好的营养特性[10−11]。此外，溶解 pH 会显著影响蛋白质的理化性质，导致其功能和营养特性的变化[12-13]。郑惠娜等[14] 研究发现，在碱性条件下提取的牡蛎蛋白具备更优的营养特性。因此，在蛋白质提取过程中，选择合适的 pH 至关重要。目前，国内外对单一蛋白质的营养与功能研究较多，但对双蛋白复合体系，尤其是豌豆-草鱼双蛋白的研究仍较为缺乏，尚未见系统探讨溶解 pH 对其营养特性影响的报道。

鉴于溶解 pH 在调节蛋白质营养特性方面的关键作用，本研究以豌豆-草鱼共沉淀双蛋白（Co）为研究对象，系统比较了不同溶解 pH（2.0、3.0、9.0、10.0、11.0）条件下 Co 的基本组成、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶（Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE）电泳、氨基酸组成、消化率、氨基酸评分、Zeta-电位、粒径及二级结构等指标，探究 pH 循环法对豌豆-草鱼双蛋白理化及营养特性的影响，为 Co 在食品工业中的广泛应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄豌豆　广东金威玛豆业；草鱼　湛江市鹤地水库渔业有限公司；普通型透析膜（8000~14000 Da）　上海源叶；胃蛋白酶（猪源）（1∶15000）　阿拉丁生化科技股份有限公司；T8150-10 胰蛋白酶（1∶250）　北京索莱宝科技有限公司；SDS-PAGE 蛋白凝胶电泳试剂盒、Bradford 蛋白检测试剂盒　上海碧云天公司；其余化学试剂均为分析纯　购自国药公司。

JYL-co12 料理机　九阳公司；VAP 450 定氮仪　广州格哈特仪器有限公司；TENSOR27 傅里叶变换红外光谱仪　德国 Bruker 公司；L8900 型氨基酸分析仪　日本岛津公司；FMalvern Zetasizer Nano ZS 粒径分析仪　英国 Malvern 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 pH 循环法提取豌豆和草鱼蛋白　参考 Liu 等[8] 的方法略作修改，将黄豌豆研磨后过 150 μm 筛制得豌豆粉，草鱼背部白肉剪切打浆制成鱼浆，备用。将豌豆粉按 1∶9（w/w）比例加入到 4 ℃ 纯水中，充分搅拌。使用酸碱调节液（1 mol/L HCl 或 NaOH）分别调整溶解 pH 为 2.0、3.0、9.0、10.0、11.0，搅拌 15 min 使其充分溶解，离心（12000×g、20 min、4 ℃），除去沉淀，取上清液，混入酸碱调节液（1 mol/L HCl 或 NaOH），充分搅拌，分别调节沉淀 pH 至 4.0、4.5、5.0、5.5 和 6.0，离心（12000×g、20 min、4 ℃），收集沉淀。使用鱼浆作为原料，重复豌豆蛋白制作步骤制备草鱼蛋白。

1.2.2 最适沉淀 pH 的测定　采用 pH 循环法分别制备豌豆和草鱼蛋白沉淀物，分别设置 5 个溶解 pH（2.0、3.0、9.0、10.0、11.0）与 5 个沉淀 pH（4.0、4.5、

5.0、5.5、6.0），溶解 pH 和沉淀 pH 之间两两组合，采用凯氏定氮法测定上述 25 组沉淀物中的蛋白含量，并据此计算蛋白提取率。最大蛋白提取率对应最适沉淀 pH。在此基础上，结合 pH 循环法对蛋白质的改性作用，确定制备双蛋白的最适沉淀 pH 条件[15]。

$$蛋白提取率(\%) = \frac{沉淀物蛋白含量(g)}{原料中蛋白含量(g)} \times 100$$

1.2.3　不同溶解 pH 条件下 Co 的制备　蛋白质作为两性分子，其溶解性在等电点处最低。基于这一特性，实验选取酸性（pH2.0、3.0）与碱性（pH9.0、10.0、11.0）区间作为溶解条件。前期研究已确定 Co 最佳沉淀 pH，本研究重点考察溶解 pH 通过改变蛋白质电荷与构象，从而调控其营养特性。在明确 Co 最佳沉淀 pH 后，先将豌豆粉和草鱼肉按质量比 1∶1 混合后溶解于 pH2.0、3.0、9.0、10.0、11.0 的水溶液中，诱导蛋白沉淀，沉淀经去离子水洗涤后，调节 pH 至 7.0，透析后进行冷冻干燥（48 h）[15]，研磨后得到 5 种不同溶解条件下制备的 Co 粉末，分别命名为 Co2、Co3、Co9、Co10 和 Co11。

1.2.4　基本成分分析　水分、蛋白质、脂肪及灰分含量分别依据 GB 5009.3-2016《食品中水分的测定》（直接干燥法）、GB 5009.5-2016《食品中蛋白质的测定》（凯氏定氮法）、GB 5009.6-2016《食品中脂肪的测定》（索氏提取法）和 GB 5009.4-2016《食品中灰分的测定》（干法灰化法）进行测定。

1.2.5　粒径和 Zeta-电位　将 5 种 Co 分别溶于蒸馏水中，使其浓度为 0.1 mg/mL，然后于 25 ℃ 下使用 Malvern Zetasizer Nano ZS 测定平均粒径以及 Zeta-电位，仪器参数设定如下：样品折射率为 1.107，溶剂（水）折射率为 1.330，每个样品在测量前于 25 ℃ 下平衡 2 min[16]，随后进行三次独立重复测量并取平均值。

1.2.6　SDS-PAGE 电泳　参考 Wang 等[17] 的方法略作修改，将蛋白浓度为 1%（w/v）的 5 种 Co 溶液分别与不含二硫苏糖醇（DTT）的上样缓冲液（4×）混合，依次上样。电泳在浓缩胶（5%）和分离胶（10%）组成的系统中进行，电压分别为 80 V 和 120 V。凝胶用考马斯亮蓝超快染色液染色 3 h 后使用去离子水脱色后拍照。

1.2.7　傅里叶变换红外光谱分析　参考文献 [17] 方法，将 5 种 Co 分别与 KBr 按 1∶50（w/w）的比例混合均匀，然后压成 1 mm 厚的透明薄片。采用傅里叶变换红外光谱仪在 500~4000 cm^{-1} 范围内采集光谱，扫描次数为 64 次，分辨率设为 4 cm^{-1}，测定环境控制在 25 ℃、50% 相对湿度。使用 PeakFit 软件（版本 4.12）对傅里叶变换红外光谱中的酰胺 I 带（1600~1700 cm^{-1}）进行解卷积和曲线拟合，以进行二级结构分析。

1.2.8　氨基酸组成分析　5 种 Co 的氨基酸组成测定参考文献 [18] 方法。样品采用恒沸 6 mol/L HCl 在 110 ℃ 下水解 24 h，将水解产物转移至 50 mL 容量瓶并用蒸馏水定容。水解液经邻苯二甲醛（OPA）柱前衍生后，使用全自动氨基酸分析仪进行测定。此外，色氨酸含量采用碱水解法测定，即使用 5 mol/L NaOH 在 110 ℃ 下水解 22 h 后分析；半胱氨酸的含量采用甲酸氧化法测定，即将样品与甲酸-过氧化氢混合溶液（9∶1，v/v）于 0~4 ℃ 反应 16~18 h，经冷冻干燥去除残余试剂后，再按前述酸水解流程处理并通过氨基酸分析仪进行定量分析[19]。

1.2.9　体外消化率的测定　参考 Kaspchak 等[20] 方法略作修改，配制胃蛋白酶（3.33 mg/mL）与各待测蛋白（3.0 mg/mL）的混合溶液，在 pH2.0、37 ℃ 条件下振荡 1.5 h，随后中和至 pH7.0 完成胃消化。肠消化阶段，向胃消化液中加入胰蛋白酶溶液（0.5 mg/mL，以 pH7.0 的 0.1 mol/L PBS 缓冲液配制），恒温（37 ℃）搅拌 3.0 h，最后加入 Na_2CO_3 快速调整 pH 至 10.0，终止消化。体外消化率（IVPD）由下式计算：

$$IVPD(\%) = \frac{消化的蛋白含量}{总蛋白含量(3.0\,mg/mL)} \times 100$$

1.2.10　氨基酸评分和消化率修正的氨基酸评分　氨基酸评分（AAS）计算参考 1985 年 FAO/WHO 推荐的营养品质评价法[21]，将样品中各必需氨基酸含量与相应氨基酸需求参考模式进行比较，其比值得出各氨基酸评分，其中得分最低者为限制性氨基酸。参考文献 [18,22]，体外蛋白质消化率修正的氨基酸评分（PDCAAS）通过氨基酸评分（AAS）和蛋白质样品的体外蛋白质消化率（IVPD）来计算：

$$AAS = \frac{样品中必需氨基酸含量}{参考蛋白中必需氨基酸含量} \times 100$$

$$PDCAAS = AAS/100 \times IVPD$$

1.3　数据处理

实验结果以平均值±标准差表示，每组测量独立重复至少三次。所有数据均使用 Origin 2024 和 IBM SPSS Statistics 25.0 软件进行数据处理与统计分析。显著性水平设定为 $P<0.05$，不同字母表示样品间具有显著性差异。

2　结果与分析

2.1　豌豆和草鱼蛋白最适沉淀 pH 的确定

双蛋白的营养学特点是氨基酸互补，然而考虑营养价值评价标准以及加工成本，首先应以提取率为考察指标优化 pH 循环处理条件。将去皮豌豆粉、草鱼背部白肉进行 pH 循环处理（溶解 pH 为 2.0、3.0、9.0、10.0、11.0，沉淀 pH 为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0）的蛋白提取率情况见图 1 和图 2。由此可见，pH 循环处理条件决定了两种异源蛋白质的提取率，其中溶解 pH 为 11.0 时蛋白提取率总体最高，该趋势与文献 [23] 报道的 pH 循环法制备大豆-罗非鱼双蛋白

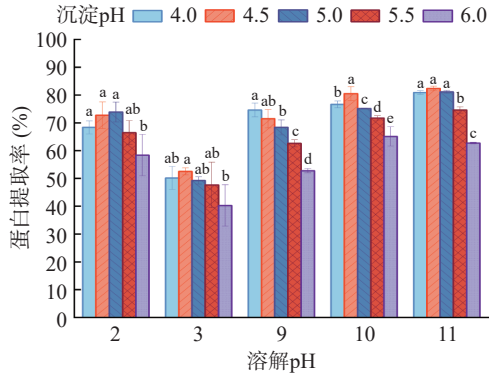


图 1 pH 循环处理条件对豌豆蛋白提取率的影响

Fig.1 Effect of pH cycling treatment conditions on the extraction rate of pea protein

注: 不同字母表示不同沉淀 pH 样品间具有显著性差异, $P<0.05$。

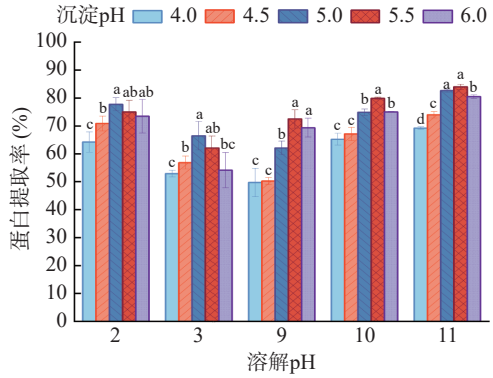


图 2 pH 循环处理条件对草鱼蛋白提取率的影响

Fig.2 Effect of pH cycling treatment conditions on the protein extraction rate of grass carp

注: 不同字母表示不同沉淀 pH 样品间具有显著性差异, $P<0.05$。

在 pH11 时获得最高蛋白溶解度的结果相一致。豌豆蛋白与草鱼蛋白在提取率最高时对应的沉淀 pH 分别为 4.0~5.0 和 5.0~5.5, 该结果与豌豆球蛋白(pI≈4.5)[24] 及草鱼肌原纤维蛋白(pI≈5.5)[25] 的等电点相近。基于 pH 循环法的技术原理, 即通过设定中间等电点促使异源蛋白发生静电相互作用, 进而调控其结构与功能, 本研究将 Co 的最适沉淀 pH 确定为 5.0。在此沉淀 pH 条件下, 豌豆蛋白与草鱼蛋白的提取率分别可达 49.25%~81.13% 与 62.12%~82.63%, 实现了两种蛋白的高效共提取。

2.2 基本成分分析

对不同溶解 pH 下制备的 Co 样品的基本成分进行分析, 结果如表 1 所示。所有样品的粗蛋白含量均高于 80%, 纯度较高, 属优质蛋白。该结果主要归因于 pH 循环法可高效提取清蛋白、球蛋白[26] 以及肌浆蛋白[27] 等主要蛋白组分, 并有效去除非蛋白杂质。随着 pH 升高, 粗蛋白含量升高, Co11(87.13%)的粗蛋白含量最高, Co10 略低于 Co11 但差异不显著($P>0.05$), Co2 和 Co3 粗蛋白含量较低, 且两者间无显著差异, 其中, Co3(82.32%)含量最低, 这可能是较高的溶解 pH 增强了蛋白质的溶解性, 积累结构蛋白和贮藏蛋白, 使羧基离子化、氨基去质子化, 从而

表 1 不同溶解 pH 条件下制备的 Co 的基本成分分析

Table 1 Basic component analysis of Co prepared under different dissolution pH conditions

样品	水分(%)	粗蛋白(%)	粗脂肪(%)	灰分(%)
Co2	5.33±0.02^{a}	82.71±0.21^{c}	5.03±0.88^{a}	5.04±0.25^{a}
Co3	5.04±0.15^{a}	82.32±0.56^{c}	5.32±1.02^{a}	4.23±0.31^{b}
Co9	3.94±0.02^{c}	85.60±0.77^{b}	3.37±0.39^{b}	4.10±0.39^{b}
Co10	4.24±0.06^{b}	86.98±0.18^{a}	3.69±0.46^{b}	3.52±0.17^{c}
Co11	4.33±0.12^{b}	87.13±0.24^{a}	3.23±0.55^{b}	2.77±0.34^{d}

注: 不同字母表示样品间具有显著性差异($P<0.05$)。

提高了粗蛋白的含量[28]。从食品保藏角度考虑, 低脂体系更有利于产品稳定贮藏。碱法制备的 Co 脂肪含量显著低于酸法, 表明碱法脱脂效率更高。这与碱性条件下发生的皂化反应有关, 生成的具有表面活性的脂肪酸盐会吸附于水气界面, 从而在离心过程中更易被去除[29]。综上所述, 五种 Co 均具备较高的粗蛋白含量, 适用于双蛋白食品的开发与应用; 碱溶提取的 Co10、Co11 的粗蛋白含量分别为 86.98% 和 87.13%, 同时粗脂肪含量较低(3.69% 和 3.23%), 符合低脂高蛋白的消费需求, 更具应用潜质。

2.3 粒径和 Zeta-电位

溶解 pH 对 Co 平均粒径和 Zeta-电位的影响如图 3 和图 4 所示。由图 3 可知, Co 的平均粒径分布于 3.61~12.63 μm, 且存在显著性差异($P<0.05$)。随着 pH 增大, Co 的平均粒径逐渐减小, 在 Co2 时粒径最大(12.63±0.14 μm), 这可能与蛋白质在酸性条件

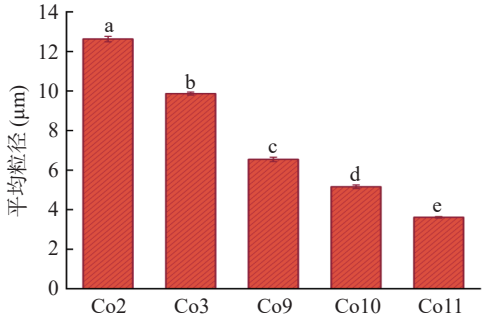


图 3 不同溶解 pH 对 Co 平均粒径的影响

Fig.3 Effect of different dissolution pH on the average particle size of Co

注: 不同小写字母表示数据差异显著, $P<0.05$; 图 4 同。

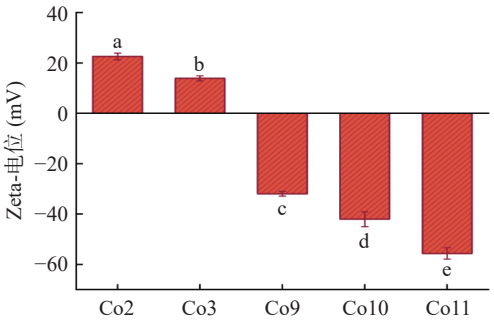


图 4 不同溶解 pH 对 Co Zeta-电位的影响

Fig.4 Effect of different dissolution pH on Co Zeta-potentiall

下的低溶解性有关，而碱性环境则有助于蛋白分散与溶解[30]。Das 等[31] 研究苋菜蛋白时也发现了类似趋势，即随溶解 pH 增加，蛋白粒径减小。

Zeta-电位可表示蛋白质溶液中的吸引力和排斥力。由图 4 可知，碱性条件下制备的 Co9（−31.96±0.94 mV）、Co10（−42.08±2.96 mV）和 Co11（−55.66±2.28 mV）的 Zeta-电位绝对值显著高于酸性条件下的 Co2 和 Co3（P<0.05），其中碱性条件负电荷含量的增加可归因于氨基和羧基的去质子化[32]。此外，有研究表明高绝对值的 Zeta-电位可通过增强静电排斥作用有效提高蛋白质体系的稳定性，抑制聚集行为[12]。Sun 等[33] 研究发现蛋白质消化率的提升与粒径减小和电位增加密切相关。因此，在碱性溶解条件下所制备的 Co 具有较高的 Zeta-电位绝对值，有助于减少蛋白质聚集；同时其较小的粒径可增大比表面积，暴露更多酶切位点，为消化酶提供更佳作用条件，提示具有较高的蛋白质消化率[34]。

2.4　SDS-PAGE 电泳分析

非还原 SDS-PAGE 电泳在不使用还原剂 DTT 条件下进行，可尽量保持双蛋白自然组成[35]，如图 5 所示。5 种 Co 都包含了豌豆蛋白和草鱼蛋白中的典型蛋白质亚基条带，包括肌球蛋白重链 MHC（200~210 kDa）、convicilin（70 kDa），legumin α+β（62 kDa）、vicilin（50 kDa）、肌动蛋白 AC（42 kDa）、legumin α（38 kDa）、原肌球蛋白 TM（35 kDa），legumin β（22 kDa）以及可溶性聚集体 aggregates，与文献 [36−37]报道一致，说明 pH 循环法能高效提取异源蛋白的各类亚基，为营养互补提供了物质基础。由图 5 可知，酸性溶解 pH 条件下制备的 Co（Co2 和 Co3）中 vicilin、原肌球蛋白 TM 条带强度明显低于碱性样品，可见酸溶条件下部分蛋白变性程度

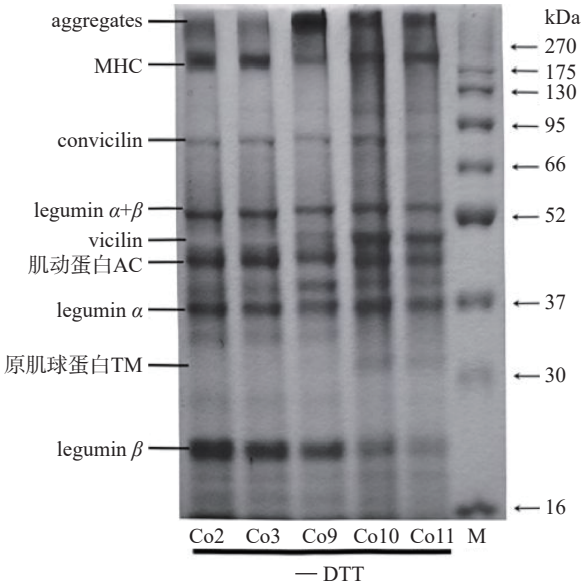


图 5　不同溶解 pH 制备的 Co 的非还原 SDS-PAGE 图

Fig.5　Non-reducing SDS-PAGE plots of Co prepared with different dissolution pH

大[38]。此外，碱法 Co 的可溶性聚集体（aggregates）和 vicilin 多于酸法 Co，说明碱性环境更利于二硫键介导的共价交联形成。已有研究指出，二硫键[39] 与 vicilin[40] 含量与蛋白质构象柔性正相关，据此推测碱性 Co 在消化过程中更易与酶结合，可能具备更优的消化特性。综上，碱性溶解条件有助于更全面地回收蛋白组分，并促进有利于消化的结构特征形成。

2.5　二级结构

蛋白质二级结构也会显著影响它们的消化率[41]。由图 6 可知，五种 Co 的二级结构均以 β-折叠为主，占比介于 40.35%~50.27% 之间。不同 pH 溶解的 Co 二级结构存在明显差异，碱性溶解条件（Co9、Co10、Co11）的 α-螺旋和无规卷曲显著高于酸性溶解条件 Co2、Co3（P<0.05），而 β-折叠显著低于酸性溶解条件 Co2、Co3（P<0.05）。其中 Co10 中的 α-螺旋含量最高（19.54%±0.11%），而 β-折叠和无规卷曲含量最低（40.35%±0.10%）。β-折叠作为疏水构象，常以刚性堆叠形式存在于蛋白质聚集体中，其含量较高时会阻碍消化酶作用，从而降低蛋白质消化率[42]。王馨蕊等[43] 研究发现，β-折叠与大豆蛋白的体外消化率呈显著负相关。由此可推断，碱性溶解条件下制备的 Co（尤其是 Co10）因其较低的 β-折叠含量和较高的 α-螺旋比例，表现出更优的消化特性。

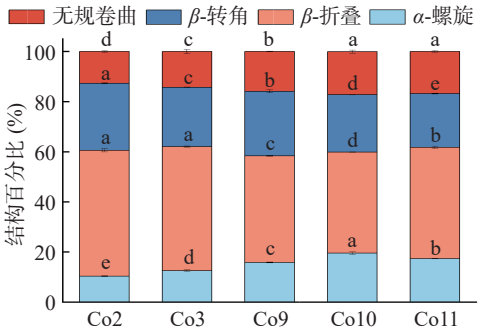


图 6　不同溶解 pH 条件下制备的 Co 的二级结构占比

Fig.6　Proportion of secondary structures of Co prepared under different dissolution pH conditions

2.6　氨基酸组成分析

氨基酸组成是影响蛋白质营养价值的关键因素，5 种 Co 氨基酸组成如表 2 所示。由表 2 可知，5 种 Co 所含氨基酸种类齐全，必需氨基酸含量介于 31.31~36.03 g/100 g，非必需氨基酸含量在 52.05~55.81 g/100 g 之间。所有 Co 的蛋氨酸（Met）含量（1.69~2.17 g/100 g）均显著（P<0.05）高于单一豌豆蛋白（0.09 g/100 g）[44]，表明双蛋白复合有效弥补了豌豆蛋白中蛋氨酸的不足。Co 中谷氨酸（Glu）、天冬氨酸（Asp）、赖氨酸（Lys）和亮氨酸（Leu）含量较为丰富，其中 Lys 为含量最高的必需氨基酸，Glu 为最主要的非必需氨基酸，这与 Tian 等[45] 研究相似。不同溶解 pH 下 Co 氨基酸含量差别显著（P<0.05），随着溶解 pH 升高，丝氨酸（Ser）和丙氨酸（Ala）含量增加，

表 2 不同溶解 pH 条件下制备的 Co 的氨基酸组成(g/100 g)

Table 2 Amino acid composition of Co prepared under different dissolution pH conditions (g/100 g)

氨基酸	Co2	Co3	Co9	Co10	Co11
苏氨酸Thr*	3.43±0.21^{c}	3.54±0.05^{c}	3.66±0.08^{b}	3.85±0.16^{a}	3.82±0.12^{ab}
缬氨酸Val*	3.88±0.04^{d}	4.07±0.07^{c}	4.27±0.12^{b}	4.66±0.05^{a}	4.59±0.08^{a}
蛋氨酸Met*	1.69±0.01^{d}	1.85±0.03^{c}	2.03±0.07^{b}	2.17±0.04^{a}	2.16±0.05^{a}
异亮氨酸Ile*	3.59±0.12^{c}	3.72±0.08^{c}	3.99±0.15^{b}	4.34±0.02^{a}	4.25±0.12^{ab}
亮氨酸Leu*	6.35±0.04^{e}	6.59±0.06^{d}	6.91±0.08^{c}	7.59±0.03^{a}	7.42±0.06^{b}
苯丙氨酸Phe*	3.62±0.02^{e}	3.73±0.04^{d}	3.89±0.03^{c}	4.23±0.05^{a}	4.14±0.03^{b}
赖氨酸Lys*	7.12±0.18^{d}	7.38±0.04^{c}	7.69±0.11^{b}	8.03±0.03^{a}	7.92±0.08^{b}
色氨酸Trp*	1.63±0.03^{a}	1.46±0.04^{b}	1.30±0.02^{c}	1.16±0.08^{d}	1.24±0.03^{d}
天冬氨酸Asp	9.28±0.23^{e}	9.57±0.11^{d}	9.76±0.11^{c}	10.18±0.08^{a}	9.96±0.07^{b}
丝氨酸Ser	4.03±0.04^{e}	4.17±0.02^{d}	4.28±0.08^{c}	4.47±0.02^{b}	4.55±0.04^{a}
谷氨酸Glu	13.88±0.36^{d}	14.56±0.11^{c}	15.39±0.15^{b}	16.02±0.12^{a}	15.98±0.11^{a}
甘氨酸Gly	3.02±0.02^{e}	3.16±0.04^{d}	3.35±0.06^{c}	3.57±0.06^{a}	3.46±0.03^{b}
丙氨酸Ala	4.23±0.08^{e}	4.39±0.03^{d}	4.51±0.05^{c}	4.71±0.01^{b}	4.83±0.02^{a}
半胱氨酸Cys-s	0.19±0.01^{e}	0.26±0.01^{d}	0.29±0.02^{c}	0.38±0.01^{a}	0.32±0.01^{b}
酪氨酸Tyr	3.95±0.04^{a}	3.88±0.02^{b}	3.75±0.04^{c}	3.52±0.04^{d}	3.53±0.06^{d}
组氨酸His	1.47±0.02^{e}	1.64±0.03^{d}	1.71±0.01^{c}	1.96±0.03^{a}	1.92±0.04^{b}
精氨酸Arg	7.49±0.11^{a}	7.18±0.06^{b}	6.89±0.09^{c}	6.45±0.03^{e}	6.57±0.11^{d}
脯氨酸Pro	2.88±0.08^{d}	3.02±0.02^{c}	3.17±0.04^{b}	3.39±0.18^{a}	3.35±0.08^{a}
TAA	81.73	84.17	86.79	90.68	90.01
TEAA	31.31	32.34	33.69	36.03	35.54
TNEAA	52.05	53.29	54.35	55.81	55.71
TEAA/TAA(%)	38	38	39	40	39
TEAA/TNEAA(%)	60	61	62	65	64

注: *表示必需氨基酸, TAA(Total Amino Acids)表示氨基酸总量, TEAA(Total Essential Amino Acids)表示必需氨基酸总量, TNEAA(Total Non-Essential Amino Acids)表示非必需氨基酸总量; 不同小写字母表示同行数据差异显著, P<0.05。

而色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和精氨酸(Arg)含量下降, 其余氨基酸则在 pH10 时达到最高值。总体而言, 碱性溶解条件下 Co 的总氨基酸含量高于酸性条件, 其中 Co10 的总氨基酸含量最高, 为 90.68 g/100 g, 说明碱性条件下溶解的 Co 具备更高的营养价值, 且 Co10 时营养价值最高。除此之外, 所有 Co 样品的必需氨基酸总量/总氨基酸(TEAA/TAA)比值为 38%~40%, 必需氨基酸总量/非必需氨基酸总量(TEAA/TNEAA)为 60%~65%, Co10 中 TEAA/TAA(40%)以及 TEAA/TNEAA(65%)均高于其他样品。通常 TEAA/TAA>36% 被认为是高质量的蛋白质[46], 因此本研究中的所有 Co 均符合高质量蛋白的要求, 且 Co10 表现最佳。

根据 FAO/WHO 于 1985 年推荐的蛋白质评价模式, 优质蛋白质需包含全部 9 种必需氨基酸, 以满足人体正常生理需求[47]。图 7 展示了五种 Co 样品中必需氨基酸组成与该模式的匹配程度。在所有 Co 中, Lys(71.2~80.3 mg/g)含量均远超于 WHO 的建议值, 但蛋氨酸+半胱氨酸(Met+Cys)和 Leu 含量相对较低。除 Co10 外, 其余样品的含硫氨基酸(Met+Cys)均未达到幼儿需要量标准(25 mg/g); 在酸性条件(Co2、Co3)下制备的样品中, Leu 含量也未满足幼儿需求(66 mg/g)。此外, 所有的芳香族氨基酸(Phe+Tyr)均高于 WHO 的建议值, 且在 pH10 时达到最大值(77.6 mg/g)。在五种 Co 中, 仅 Co10 能够全面满足 9 种必需氨基酸的需求, 表明在 pH10 条件下溶解有助于制备氨基酸组成更为均衡的蛋白产品, 在营养强化领域显示出良好的应用潜力。

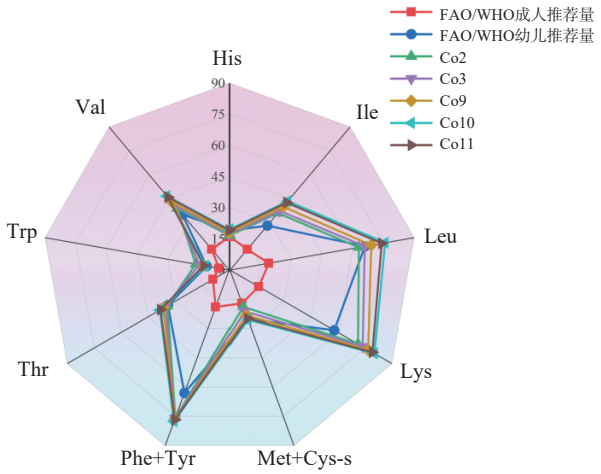


图 7 不同溶解 pH 制备的 Co 与 WHO(1985)提出的必需氨基酸需要量模式雷达图(mg/g)

Fig.7 Radar chart of the Co content and the EAA requirement pattern suggested by WHO (1985) under different dissolution pH (mg/g)

2.7 营养学评价

用氨基酸评分(amino acid score, AAS)、体外消化率(*in vitro* protein digestibility, IVPD)、消化率修正氨基酸评分(protein digestibility-corrected amino acid score, PDCAAS)评估 Co 的营养状况。AAS 通过对比食物蛋白质与人体所需蛋白质的氨基酸组成, 评估其被人体利用的效率[48]。由表 3 可知, 在不同评价标准下, Co 的第一限制性氨基酸存在差异: 成人为组氨酸(His), 幼儿为蛋氨酸+半胱氨酸(Met+Cys-s)。与其他 Co 相比, Co10 与 Co11 的 AAS 值较高, 在成人模式中分别为 121 和 120, 表明其氨基酸组成更为均衡, 能够更好地满足人体对营养的需要。

IVPD 是衡量蛋白质营养价值的重要指标[49], 其通过体外胃-肠模拟消化模型测定, 列于表 3。体外消化后, 在相同消化条件下, 碱溶 Co 的消化率高于酸溶 Co, 其中 Co10 的 IVPD 最高(86.16%±1.04%), 这可能是由于碱性条件下蛋白质变性、展开和分子内和分子间键的拉伸, 导致多肽链断裂, 使其更容易与消化酶的肽键结合[50]。此外, 有研究表明蛋白质消化率与 Arg/Lys 比值呈负相关[51]。Co2、Co3、Co9、Co10 和 Co11 的 Arg/Lys 分别为 1.05、0.97、0.90、0.80 和 0.83。因此, Co10 中较低的 Arg/Lys 比值意味着消化所需肽键数量减少, 可能有助于其更高的 IVPD。高消化率蛋白质可释放更多氨基酸, 从而提升营养利用效率[8]。PDCAAS 可用于预测蛋白

表 3　不同溶解 pH 制备的 Co 样品的 AAS、IVPD 和 PDCAAS

Table 3　AAS, IVPD and PDCAAS of Co samples prepared at different dissolution pH values

项目	标准值(mg/g)		Co2		Co3		Co9		Co10		Co11	
	成人	幼儿	成人	幼儿	成人	幼儿	成人	幼儿	成人	幼儿	成人	幼儿
His	16	19	104*	88	109*	92	113*	95	123*	103	120*	101
Ile	13	28	276	128	286	133	307	143	334	155	327	152
Leu	19	66	332	95	347	100	364	105	399	115	391	112
Lys	16	58	445	123	461	127	481	133	502	138	495	137
Met+Cys-s	17	25	111	75*	124	84*	136	93*	150	102*	146	99*
Phe+Tyr	19	63	398	120	401	121	402	121	408	123	404	122
Thr	9	34	381	101	393	104	407	108	428	113	424	112
Trp	5	11	326	148	292	133	250	114	232	105	248	113
Val	13	35	298	111	313	116	328	122	358	133	353	131
AAS			104	75	109	84	113	93	121	102	120	99
IVPD(%)			71.58±0.74^{d}		74.39±0.72^{c}		79.49±1.02^{b}		86.16±1.04^{a}		85.86±0.87^{a}	
PDCAAS			0.74	0.53	0.81	0.62	0.90	0.74	1.04	0.88	1.03	0.85

注：*为第一限制性氨基酸；不同小写字母表示同行数据差异显著，P<0.05。

质的生物学价值。在不同溶解 pH 制备的 Co 中，Co10 和 Co11 的 PDCAAS 最高，分别为 1.04 和 1.03，与鸡蛋相似[52]，表明 Co10 和 Co11 具有优异的营养品质，可作为食品工业中潜在的优质营养补充剂。

3　结论

上述结果表明，Co 的最适沉淀 pH 为 5.0，且碱性条件下制备的 Co 营养品质显著优于酸性条件。5 种 Co 所含氨基酸种类齐全，其蛋氨酸(Met)含量(1.69~2.17 g/100 g)显著高于单一豌豆蛋白(P<0.05)，表明双蛋白复合有效弥补了植物蛋白的蛋氨酸不足。溶解 pH 对 Co 的结构特性具有显著影响(P<0.05)。碱溶提取的 Co 具有较高的 Zeta-电位绝对值和较小的粒径，其中 Co11 的粒径最小(3.61 μm)，电位绝对值最大(-55.66±2.28 mV)。二级结构分析显示，碱溶提取的 Co(特别是 Co10)具有较高的 α-螺旋和较低的 β-折叠含量。SDS-PAGE 图谱进一步表明，所有 Co 均含异源蛋白主要亚基，且碱性溶解条件有助于更全面地回收蛋白组分，并促进有利于消化的结构特征形成。在营养特性方面，碱性提取 Co 的总氨基酸含量高于酸性条件，其中 Co10 总氨基酸含量最高(90.68 g/100 g)，体外消化率达 86.82%。在碱性样品中，Co11 粗蛋白含量最高(87.13%)，脂肪含量较低(3.23%)；而 Co10 综合表现最优，营养价值最为突出，具有膳食营养强化剂的应用价值。本研究结果不仅为高营养品质双蛋白的制备提供了理论依据，也为开发新型蛋白强化食品提供了优质原料与技术支持。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 钟夏雨, 刘果, 彭辉, 等. 不同烹饪方式对鸽肉蛋白质结构和体外消化特性的影响[J]. 食品工业科技, 2026, 47(1): 129−138. [ZHONG X, LIU GUO, PENG HUI, et al. The influence of different cooking methods on the protein structure and *in vitro* digestion characteristics of pigeon meat[J]. Food Industry Science and Technology, 2026, 47(1): 129−138.]

[2] LOPEZ C, WEBER M, RABESONA H, et al. Emulsions stabilized by pea protein-rich ingredients as an alternative to dairy proteins for food sustainability: Unveiling the key role of pea endogenous lipids in the surface-induced crystallization of milk fat[J]. Current Research in Food Science, 2024, 9: 100921.

[3] ALVES A C, TAVARES G M. Mixing animal and plant proteins: Is this a way to improve protein techno-functionalities?[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 97: 105171.

[4] 雷一铭, 李佳琪, 毕晟赟, 等. 超高压处理对豌豆蛋白物化特性的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(24): 31−39. [LEI Y M, LI J Q, BI S Y, et al. The influence of Ultra-high Pressure treatment on the physicochemical properties of pea protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(24): 31−39.]

[5] 付晓航, 张顺亮, 赵燕, 等. 植物蛋白肉营养与安全性研究进展[J]. 食品科学, 2025, 46(20): 442−450. [FU X H, ZHANG S L, ZHAO Y, et al. Research progress on nutrition and safety of plant-based protein meat[J]. Food Science, 2025, 46(20): 442−450.]

[6] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2024: 24−25. [Fisheries Administration of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Aquatic Products Technology Extension Station, Chinese Society of Fisheries. China fisheries statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2024: 24−25.]

[7] LI X, HONG P, XIE M, et al. Formation of hydrophilic co-assemblies with improved functional properties between tilapia protein isolate and sodium caseinate[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 153: 110016.

[8] LIU Q, TAN L, HONG P, et al. Tilapia-soybean protein co-precipitates: Focus on physicochemical properties, nutritional quality, and proteomics profile[J]. Food Chemistry: X, 2024, 21: 101179.

[9] ZHAO R, FU W, LI D, et al. Structure and functionality of whey protein, pea protein, and mixed whey and pea proteins treated by pH shift or high-intensity ultrasound[J]. Journal of Dairy Science, 2024, 107(2): 726−741.

[10] WANG R, WANG T, FENG W, et al. Rice proteins and cod proteins forming shared microstructures with enhanced functional and nutritional properties[J]. Food Chemistry, 2021, 354: 129520.

[11] ZHAO W, XIANG H, LIU Y, et al. Preparation of zein—soy protein isolate composites by pH cycling and their nutritional and digestion properties[J]. LWT, 2022, 159: 113191.
[12] KHETO A, SEHRAWAT R, GUL K, et al. Effect of extraction pH on amino acids, nutritional, *in-vitro* protein digestibility, intermolecular interactions, and functional properties of guar germ proteins[J]. Food Chemistry, 2024, 444: 138628.
[13] CHEN Y C, TOU J C, JACZYNSKI J. Amino acid and mineral composition of protein and other components and their recovery yields from whole Antarctic krill (*Euphausia superba*) using isoelectric solubilization/precipitation[J]. Journal of food science, 2009, 74(2): H31−H39.
[14] 郑惠娜, 张晶晶, 周春霞, 等. pH 调节法提取牡蛎蛋白及氨基酸、蛋白组成分析[J]. 中国食品学报, 2014, 14(7): 230−235. [ZHENG H N, ZHANG J J, ZHOU C X, et al. Extraction of oyster protein and amino acids by pH adjustment method, analysis of protein composition[J]. Chinese Journal of Food Science and Technology, 2014, 14(7): 230−235.]
[15] 齐慧红. 罗非鱼—豆粕共沉淀蛋白的制备及性质研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2018. [QI H H. Preparation and characterization of co-precipitated protein from tilapia muscle and soybean meal[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2018.]
[16] LIU Y, TAN M, CHEN Z, et al. Oyster (*Crassostrea hongkongensis*) protein isolates: Influence of extraction pH on physicochemical, conformational and functional properties[J]. Food Chemistry, 2025: 145549.
[17] WANG L, ZHANG X, WANG X, et al. Comparative analysis of structural characterisation and gel properties of blended/co-precipitated soy-pea dual-protein[J]. Foods, 2025, 14(16): 2867.
[18] 谭力. 罗非鱼-大豆共沉淀蛋白的营养、结构及组成研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2020. [TAN L. Research on the nutrition, structure and composition of tilapia-soybean co-precipitated protein[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2020.]
[19] 中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所. 食物营养成分测定法(第三版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1954. [Institute of Nutrition and Food Hygiene, Chinese Academy of Preventive Medicine. Determination of nutritional components in food (Third Edition)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1954.]
[20] KASPCHAK E, MAFRA L I, MAFRA M R. Effect of heating and ionic strength on the interaction of bovine serum albumin and the antinutrients tannic and phytic acids, and its influence on *in vitro* protein digestibility[J]. Food Chemistry, 2018, 252: 1−8.
[21] LISTED N A. Energy and protein requirements. Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation[J]. World Health Organization Technical Report, 1985, 724: 1.
[22] 黎露露. 大米蛋白-豌豆蛋白亲水复合物制备及起泡性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021. [LI L L. Preparation and foaming properties of rice protein-pea protein hydrophilic complex[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.]
[23] TAN L, HONG P, YANG P, et al. Correlation between the water solubility and secondary structure of tilapia-soybean protein co-precipitates[J]. Molecules, 2019, 24(23): 4337.
[24] NOLSØE H, UNDELAND I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: state of the art[J]. Food and Bioprocess Technology, 2009, 2(1): 1−27.
[25] 周春霞, 刘诗长, 王瑛, 等. 酸/碱溶解-等电点沉淀法回收罗非鱼蛋白的工艺优化及蛋白组成分析[J]. 海南师范大学学报: 自然科学版, 2015, 28(4): 390−395. [ZHOU C X, LIU S C, WANG Y, et al. Process optimization and protein composition analysis of tilapia protein recovery by acid/base dissolution-isoelectric point precipitation method[J]. Journal of Hainan Normal University: Natural Science Edition, 2015, 28(4): 390−395.]
[26] PRABHAKARAN G Y S, MOLITOR M, GOVINDASAMY-LUCEY S, et al. Heat-stable whey protein isolate made using isoelectric precipitation and clarification[J]. Journal of Dairy Science, 2024, 107(9): 6629−6642.
[27] HE X, WANG B, ZHAO B, et al. Ultrasonic assisted extraction of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein and effect of heat treatment on its *in vitro* digestion characteristics[J]. Foods, 2022, 11(5): 771.
[28] MIR N A, RIAR C S, SINGH S. Effect of pH and holding time on the characteristics of protein isolates from *Chenopodium* seeds and study of their amino acid profile and scoring[J]. Food Chemistry, 2019, 272: 165−173.
[29] XU Y S, XIA W S, JIANG Q X, et al. Acid-induced aggregation of actomyosin from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 27(2): 309−315.
[30] DAS D, PANESAR P S, SAINI C S. pH shifting treatment of ultrasonically extracted soybean meal protein isolate: Effect on functional, structural, morphological and thermal properties[J]. Process Biochemistry, 2022, 120: 227−238.
[31] DAS D, MIR N A, CHANDLA N K, et al. Combined effect of pH treatment and the extraction pH on the physicochemical, functional and rheological characteristics of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed protein isolates[J]. Food Chemistry, 2021, 353: 129466.
[32] LEE H W, LU Y, ZHANG Y, et al. Physicochemical and functional properties of red lentil protein isolates from three origins at different pH[J]. Food Chemistry, 2021, 358: 129749.
[33] SUN X, OHANENYE I C, AHMED T, et al. Microwave treatment increased protein digestibility of pigeon pea (*Cajanus cajan*) flour: Elucidation of underlying mechanisms[J]. Food Chemistry, 2020, 329: 127196.
[34] CRÉVIEU I, CARRÉ B, CHAGNEAU A M, et al. Effect of particle size of pea (*Pisum sativum* L) flours on the digestion of their proteins in the digestive tract of broilers[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1997, 75(2): 217−226.
[35] 张鸿儒, 韩迪, 谢晋, 等. 大豆-牛奶双蛋白益生菌酸奶配方的确定及其营养分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(21): 91−95. [ZHANG H R, HAN D, XIE J, et al. Determination and nutritional analysis of soy-milk dual-protein probiotic yogurt formula[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(21): 91−95.]
[36] CUI L, BANDILLO N, WANG Y, et al. Functionality and structure of yellow pea protein isolate as affected by cultivars and extraction pH[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108: 106008.
[37] QIN X, HONG P, ZHAO L, et al. Preparation, structural characterization, and functional properties of a tilapia-soybean dual proteins: Effects of different complexation modes[J]. Current Research in Food Science, 2025, 10: 101046.
[38] GEHRING C K, DAVENPORT M P, JACZYNSKI J. Functional and nutritional quality of protein and lipid recovered from fish processing by-products and underutilized aquatic species using isoelectric solubilization/precipitation[J]. Current Nutrition & Food Science, 2009, 5(1): 17−39.
[39] JOSHI M, ADHIKARI B, ALDRED P, et al. Interfacial and emulsifying properties of lentil protein isolate[J]. Food Chemistry, 2012, 134(3): 1343−1353.
[40] KIMURA A, FUKUDA T, ZHANG M, et al. Comparison of

physicochemical properties of 7S and 11S globulins from pea, fava bean, cowpea, and french bean with those of soybean french bean 7S globulin exhibits excellent properties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(21): 10273−10279.

[41] WANG Y, WANG J, WANG S, et al. Modification of glutenin and associated changes in digestibility due to methylglyoxal during heat processing[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(38): 10734−10743.

[42] DI Y, LI X, CHANG X, et al. Impact of germination on structural, functional properties and *in vitro* protein digestibility of sesame (*Sesamum indicum* L.) protein[J]. Lwt, 2022, 154: 112651.

[43] 王馨蕊, 范蓓, 费承鑫, 等. 模拟老年人胃肠道环境下发芽对大豆蛋白结构及消化特性的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(21): 196-205. [WANG X R, FAN B, FEI C X, et al. The influence of germination on the structure and digestive characteristics of soy protein under simulated gastrointestinal environment of the elderly[J]. Food Industry Science and Technology, 2025, 46(21): 196-205.]

[44] JIMÉNEZ-MUNOZ L, NIELSEN M T, ROMAN L, et al. Variation of *in vitro* digestibility of pea protein powder dispersions from commercially available sources[J]. Food Chemistry, 2023, 401: 134178.

[45] TIAN T, CHEN L, CAO X, et al. Effect of different protein ratios on *in vitro* digestive properties of soybean-wheat co-precipitated protein high-moisture extrudates[J]. Food Chemistry, 2025, 478: 143354.

[46] ADIAMO O Q, NETZEL M E, HOFFMAN L C, et al. Structure–Function relationship of Australian *Acacia* seed protein concentrates: Amino acid composition, *in vitro* protein digestibility and molecular properties[J]. Food Bioscience, 2023, 51: 102339.

[47] 刘志皋. 食品营养学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004: 78-86. [LIU Z G. Food nutrition[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2004: 78-86.]

[48] YOUNG V R. Adult amino acid requirements: the case for a major revision in current recommendations[J]. The Journal of Nutrition, 1994, 124(suppl 8): 1517S−1523S.

[49] KOWALCZEWSKI P Ł, OLEJNIK A, BIAŁAS W, et al. The nutritional value and biological activity of concentrated protein fraction of potato juice[J]. Nutrients, 2019, 11(7): 1523.

[50] SHAGHAGHIAN S, MCCLEMENTS D J, KHALESI M, et al. Digestibility and bioavailability of plant-based proteins intended for use in meat analogues: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 129: 646−656.

[51] YANG L, CHEN J H, ZHANG H, et al. Alkali treatment affects *in vitro* digestibility and bile acid binding activity of rice protein due to varying its ratio of arginine to lysine[J]. Food chemistry, 2012, 132(2): 925−930.

[52] SHEN P, GAO Z, XU M, et al. Physicochemical and structural properties of proteins extracted from dehulled industrial hempseeds: Role of defatting process and precipitation pH[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108: 106065.