

不同来源豌豆分离蛋白高水分挤压特性

李同庆¹, 张金闯^{1*}, 刘浩栋¹, 胡安娜¹, 蔡姗姗², 王 强^{1*}

(1. 中国农业科学院农产品加工研究所/农业农村部农产品加工综合性重点实验室, 北京 100193;
2. 潍坊食品科学与加工技术研究院, 潍坊 261100)

摘 要: 高水分挤压技术(水分含量 40%~80%)制备的植物基肉制品具有更接近动物肉质构品质的特征, 其中, 以豌豆蛋白为原料的应用备受关注。然而, 不同来源的豌豆分离蛋白(pea protein isolate, PPI)品质功能特性差异明显, 高水分挤压特性尚不明确, 这不利于豌豆蛋白在植物基肉制品中的开发应用。为探究 PPI 原料品质及冷却成型温度对高水分挤出物品质的影响, 该研究选取了 5 种商业 PPI, 探究其组分含量、粒径、溶解性、凝胶性等差异, 并探究了在不同冷却成型温度条件下(65、90 ℃)的高水分挤压特性。结果表明, PPI 的原料品质、冷却成型温度与挤出物的质地品质密切相关, 溶解度高(21.24%~25.51%)且凝胶性强(0.84 N~1.14 N)的 PPI 更有利于纤维结构的形成(组织化度>1.5), 同时发现, 较低的冷却成型温度下, 溶解度与组织化度呈显著正相关($P<0.05$), 提高冷却成型温度后, PPI 挤出物结构更加致密, 能够显著提高 PPI 挤出物的弹性($P<0.05$), 溶解度与组织化度呈显著正相关($P<0.05$), 凝胶强度与组织化度呈极显著正相关($P<0.01$)。该研究为豌豆蛋白在高水分挤压植物基肉制品产品创制中的应用提供支撑。

关键词: 蛋白; 质构特性; 微观结构; 豌豆分离蛋白; 功能特性; 高水分挤压

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202212110

中图分类号: TS214.9 文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2023)-05-0224-08

李同庆, 张金闯, 刘浩栋, 等. 不同来源豌豆分离蛋白高水分挤压特性[J]. 农业工程学报, 2023, 39(5): 224-231. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202212110 <http://www.tcsae.org>

LI Tongqing, ZHANG Jinchuang, LIU Haodong, et al. Characterization of the high moisture extrusion of pea protein isolate from various sources[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2023, 39(5): 224-231. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202212110 <http://www.tcsae.org>

0 引 言

预计到 2050 年, 世界人口将达到 100 亿, 食物的需求量将增加 70%, 肉类需求量将达到 4.55 亿 t^[1], 仅依靠动物养殖模式或将不能满足人类对蛋白质的需求。以植物蛋白为原料制备的植物基肉制品具有高蛋白、零胆固醇、零激素、富含膳食纤维等特点^[2], 符合科学膳食和健康生活的理念^[3], 将植物基肉制品部分替代动物肉, 在可持续发展、低碳减排、营养改善等方面具有重要意义^[4-5]。

豌豆是世界上主要的豆科作物之一, 全球年产量约为 1 350 万 t, 在 90 多个国家有种植^[6], 由于其产量较高、营养价值高、成本低等优点被广泛应用于食品工业。豌豆中蛋白质含量约为 24%, 其中清蛋白约占 20%, 球蛋白约占 60%, 豌豆蛋白的氨基酸种类齐全^[7], 致敏性低, 生物利用度高^[8-9], 此外, 其吸水能力和结合脂肪能力较

强^[10], 且营养价值高、不含胆固醇, 是用于制备植物基肉制品的优选植物蛋白, 因此受到广泛关注。MORENO 等^[11]探究了豌豆分离蛋白(pea protein isolate, PPI)的凝胶能力及 TG 酶改性后对 PPI 的影响, 研究发现, 在 23% PPI 凝胶中添加 5 U/g 的 TG 酶, 其凝胶强度增强, 凝胶网络结构也更加稳定, 可用于植物基肉制品的开发。ZHANG 等^[12]探究了挤压过程中水分含量对 PPI 结构和功能特性的影响, 结果表明, 挤压显著降低 PPI 的溶解度和发泡能力, 挤出物的泡沫稳定性随着水分含量的增加而降低。挤压使蛋白质在高温、压力和剪切力的作用下被破坏, 解聚后的蛋白质在温度和水分的影响下重组形成蛋白质聚集体。FERAWATI 等^[13]以 PPI 为原料探究了原料特性对挤出物品质的影响, 研究表明挤出物的质地受蛋白含量、灰分含量、持水能力等因素的影响, 灰分含量较高(5%)、持水性低(3 mL/g)、蛋白含量高(81%)的挤出物质地较硬, 同时发现脂肪含量较低(0.2%)的 PPI 挤出物纤维结构更加丰富。

高水分挤压技术(水分含量 40%~80%)能够生产出与动物肉质相似的植物基肉制品^[14], 具有高效率、低排放、少耗能、营养损失小等特点^[15]。IMMONEN 等^[16]研究了燕麦蛋白对 PPI 高水分挤出物的质构品质的影响, 结果显示, 挤压温度对挤出物的纤维结构的影响显著, 较高的挤压温度(170 ℃)能够促进纤维结构形成, 且添加一定比例的燕麦蛋白(质量分数为 30%)有利于 PPI 纤维结构形成。OSEN 等^[17]探究发现, 尽管不同 PPI 的基

收稿日期: 2022-12-15 修订日期: 2023-02-24

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFC2101402); 中国农业科学院农产品加工研究所创新工程院所重点任务青年创新专项(CAAS-ASTIP-Q2022-IFST-05); 潍坊食品科学与加工技术研究院财政基金科研专项(WFIFST-2022-01)

作者简介: 李同庆, 研究方向为植物蛋白高水分挤压技术。

Email: tongqingli2019@163.com

*通信作者: 王强, 博士, 研究员, 研究方向为植物蛋白结构与品质调控。

Email: wangqiang06@caas.cn

*通信作者: 张金闯, 博士, 副研究员, 研究方向为植物蛋白高水分挤压技术。Email: zhangjinchuang1002@163.com

本成分相似,但其功能特性及蛋白原料的变性程度影响挤压机中熔融物的黏度,且提升挤压温度会减弱因蛋白原料品质差异所造成的影响。QIN等^[18]利用闭腔流变仪模拟了高水分挤压过程中PPI在热能和机械能的作用下的变化及TG酶的交联作用。结果表明,高温促进了二硫键的形成,且适当添加TG酶可以促进蛋白分子的交联,而过量的TG酶(2%)会抑制二硫键的形成。然而,不同来源的PPI品质功能特性存在差异,高水分挤压特性尚不明确,不利于豌豆蛋白在植物基肉制品中的开发应用。

因此,本文选取了5种商业PPI,探究其组分含量、粒径、溶解性、凝胶性等差异,分析了不同PPI挤出物在不同冷却成型温度条件的质构特性与宏观、微观观察,对比了挤压过程及冷却成型温度对原料及挤出物的内源荧光、表面疏水性和二级结构变化特点。本研究可为高水分挤压制备植物基肉制品在PPI原料的选择及冷却成型温度的设定方面提供参考,为豌豆蛋白在高水分挤压植物基肉制品产品创制中的应用提供支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

A1、A2 PPI购于罗盖特贸易(上海)有限公司,B1、B2 PPI由山东禹王生态食业有限公司提供,C1 PPI购于山东烟台双塔食品股份有限公司;小麦淀粉,常熟市宏新淀粉有限公司;浓硫酸、氢氧化钠,国药集团化学试剂有限公司;0.1 mol/L盐酸标准溶液,北京海岸鸿蒙标准物质技术有限责任公司;Lowry法蛋白含量测定试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;0.01 mol/L磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)稀释液,北京索莱宝科技有限公司,试验所用试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

试验主要仪器包括:FMHE 36-24同向啮合双螺杆挤压机,湖南富马科食品工程技术有限公司;CR-400色差计,浙江杭州彩普科技有限公司;K1100型全自动凯氏定氮仪,济南海能仪器有限公司;SU8010型扫描电镜,日本Hitachi公司;TA-XT plus质构仪,英国Stable Micro Systems公司;F2500型荧光分光光度计,日本Hitachi公司;LYNX 4000型高速离心机,美国Thermo Scientific公司;Spectra MAX型多功能酶标仪,美国Molecular Devices公司;TENSOR 27型傅立叶变换红外光谱仪,德国Bruker公司;Mastersizer3000激光粒度仪,英国马尔文仪器有限公司;D7200尼康照相机,日本Nikon Corp公司。

1.3 试验方法

1.3.1 原料基本理化性质测定

原料基本理化性质测定包括水分含量(梅特勒-托利多HE53快速水分测定仪)、粗蛋白(GB/T 5009.5-2016(第一法))、粗脂肪(GB/T 5009.6-2016(第一法))、灰分(GB/T 5009.4-2016(第一法))、色差(CR-400色差计)、外观拍照(D7200 Nikon相机)。

1.3.2 PPI原料粒径分布测定

参考SUN等^[19]的方法,略有修改,用蒸馏水配置蛋

白质量浓度为50 mg/mL的溶液,在2 800 r/min转速下涡旋2 min,以水为分散介质(折射率为1.33)使用Mastersizer3000激光粒度仪测定蛋白原料的粒度分布。

1.3.3 PPI原料溶解度测定

参考张金闯^[20]的方法,略有修改,以氮溶指数(nitrogen solvable index, NSI)表示蛋白的溶解度,称取0.5 g蛋白原料,加入20 mL 0.01 mol/L, pH值为7.6的PBS, 25℃下浸提1 h后,离心(12 000×g, 25℃, 15 min)取上清液,利用Lowry法测定蛋白浓度,根据标准曲线计算出蛋白浓度($y=2.6095x-0.0594$, $R^2=0.9855$, x 为吸光度, y 为蛋白浓度)。

$$N_{NSI} = \frac{\text{上清液蛋白质量浓度}(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})}{\text{总蛋白质量浓度}(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.4 PPI原料凝胶强度测定

将5种PPI分别制成质量分数为20%的储备液,放入规格为250 mL烧杯中,搅拌15 min至无块状,保鲜膜封口后置于90℃水浴中处理2 h,冷却至常温后,置于4℃冰箱冷藏,12 h后观察凝胶情况,测试前于25℃下放置30 min。PPI凝胶于烧杯中利用TA-XT plus质构仪测定其凝胶强度,条件设定为:Gel测定模式,探头类型P/0.5,测前、测中、测后速度分别设置为2.0、1.0和2.0 mm/s,穿刺程度50%,接触触发力为0.03 N。探头下压至10 mm时出现的最大的力定义为凝胶强度。每组样品平行测定10次,去掉2个最大值和2个最小值,取平均值。

1.3.5 PPI高水分挤压试验

根据前期的试验研究与优化,以PPI为原料,添加2%质量分数的小麦淀粉,混合均匀后静置12 h,设置喂料速度为8 kg/h,含水率为60%,螺杆转速为240 r/min,挤压温度为60-80-145-150-130℃,将高、低模具冷却成型温度进行对比,分批设定为90℃与65℃,待稳定后取样,真空包装,置于-18℃冷冻保存,部分样品冻干后磨粉并过60目筛网(孔径为0.25 mm),用于后续分析。

1.3.6 PPI挤出物质构特性测定

挤压样品的硬度、弹性、咀嚼度用质构仪测定,产品切成长宽高为15 mm×15 mm×5 mm的方块,质构仪设置为TPA模式,探头选择P/36R,测前、测中、测后速度为2.0、1.0、2.0 mm/s,压缩形变为50%。每个样品重复操作10次,去掉2个最大值和最小值,取平均值。

组织化度的测定:样品裁剪为边长为15 mm×15 mm×5 mm的方块。探头选择A/CKB,测试前速度2.0 mm/s,测试速度1.0 mm/s,测试后速度2.0 mm/s,剪切程度75%。每个样品重复测定10次,去掉两个最大值和最小值,取平均值。采用垂直于挤出方向与沿模头挤出方向的剪切力比值定量表征产品纤维化程度的大小,即组织化度。

$$\text{组织化度} = \frac{\text{横切所做的功}}{\text{纵切所做的功}} \quad (2)$$

1.3.7 PPI挤出物宏观与微观结构

宏观结构:将PPI挤出物从中部撕开后固定,用尼康D7200微焦距高清照相机拍照。微观结构:采用扫描

电镜观察挤出物的内部微观结构, 将新鲜的样品切成大小约 5 mm×3 mm×1 mm 的薄片, 戊二醛固定 48 h, 脱水并采用超临界 CO₂ 进行干燥, 然后用导电双面胶将胶带样品粘在圆形铝台上, 喷金。在 10 kV 加速电压条件下拍取 500 倍与 5 000 倍的照片。

1.3.8 PPI 及挤出物的内源荧光测定

参考 JIANG 等^[21]的测定方法, 略有修改。PPI 原料与挤出物样品分别溶于 0.01 mol/L pH 值为 7.6 的 PBS 中, 配制成 20 mg/mL 的蛋白溶液, 25 ℃ 下 300 r/min 磁力搅拌 2 h, 之后 10 000×g 离心 15 min, 测定上清液蛋白浓度, 加入 PBS 稀释将蛋白质浓度稀释至 0.25 mg/mL, 对其进行内源性荧光光谱分析。激发波长设定为 290 nm, 扫描速度为 60 nm/s, 扫描范围为 300~450 nm, 狭缝宽为 2.5 nm。

1.3.9 PPI 及挤出物的表面疏水性测定

参考 FEYZI 等^[22]的试验方法, 略有修改。PPI 原料与挤出物各称取 0.1 g 于 10 mL 试管中, 加入 10 mL 0.01 mol/L pH 值 7.0 的 PBS 缓冲液, 振荡均匀后于 10 000×g、25 ℃ 条件下离心 20 min。得到的上清液分别用 PBS 稀释 0、2、4、8、10 倍。采用 Lowry 法测定稀释后的蛋白质含量, 重复 3 次取平均值。0.024 g ANS 溶解于 10 mL PBS 中。将 20 μL ANS 溶液加入到 4 mL 蛋白溶液中, 震荡均匀后避光放置。利用荧光分光光度计测定荧光强度, 发射波长 (*Em*) 和激发波长 (*Ex*) 分别为 470 和 390 nm, 以荧光强度对蛋白浓度做图, 斜率为被测样品的表面疏水性指数 (*H₀*)。

1.3.10 PPI 原料及挤出物的二级结构测定

参考 ZHANG 等^[23]的试验方法, 采用傅立叶变换红外光谱仪测定 PPI 原料与挤出物的二级结构, 光谱范围为 400~4 000 cm⁻¹, 分辨率为 4 cm⁻¹, 信号扫描累加 64 次, 每个样品测 3 次, 取平均值。采用 OPUS 5.5 和 peak fit 4.12 软件对酰胺 I 带 (1 600~1 700 cm⁻¹ 之间) 进行相应的图谱处理分析, 指认各子峰位置与二级结构成分的对对应关系, 获得蛋白质二级结构比例。

1.4 数据处理与分析

采用 Origin 2021 软件绘图, 采用 SPSS19.0 软件对数据进行处理与分析, 每组试验至少重复 3 次, 结果以平均值±标准差表示, 采用 Duncan 多重比较法进行显著性分析 (*P*<0.05), 皮尔逊双变量法进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 不同 PPI 原料的理化性质和功能特性分析

由表 1 可知, 在蛋白质含量方面, B1 与 B2 的蛋白含量最高 (88.07%和 87.50%, %表示质量分数, 下同), 其次是 A1 与 A2 (84.89%和 83.75%), C1 的蛋白含量最低 (82.56%)。此外, B1 的脂肪含量最高 (2.32%), C1 的灰分最高 (5.12%)。

由表 2 与图 1 可知, A1、A2 两种 PPI 粒径大小无显著性差异, 与 B2 相比, B1 在 *D*×10 与 *D*×50 的粒径分布较大, 在 *D*×90 粒径分布无显著性差异, 在 5 种 PPI 中 C1 的粒径最大, B2 的粒径最小。NSI 表示蛋白的溶解性, 主要是由于加工 (如高温处理、喷雾干燥等) 过程使蛋

白质分子伸展导致疏水性残基暴露, 导致 PPI 的 NSI 显著降低^[17,24]。由表 2 可知, A1、A2 及 B1 3 种 PPI 的溶解度较高, 分别为 24.03%、23.60%及 25.51%, B2 的溶解度较低为 21.24%, C1 的溶解度最低, 只有 16.66%。B1 的凝胶强度最高, 达到了 1.14 N, 其次为 B2, 凝胶强度为 0.84 N, A1、A2、C1 的凝胶强度在 0.40~0.50 N, 且其凝胶强度之间无显著性差异, 这与蛋白含量有关, 蛋白质分子聚集并形成有序的网状结构, 蛋白质含量较高会增加凝胶的硬度、弹性^[25]。

表 1 PPI 原料基本理化性质
Table 1 Fundamental physicochemical characteristics of PPI raw materials

样品编号 Sample number	水分 Moisture/%	蛋白 (干基) Protein (dry base)/%	脂肪 (干基) Fat (dry base)/%	灰分 (干基) Ash (dry base)/%	外观 Appearance
A1	8.46±0.02a	84.89±0.79b	0.64±0.03c	4.38±0.24b	
A2	7.53±0.29b	83.75±0.93bc	2.19±0.15ab	4.17±0.19bc	
B1	8.27±0.07a	88.07±0.14a	2.32±0.08a	3.47±0.33d	
B2	8.25±0.08a	87.50±0.44a	2.06±0.22b	3.68±0.25cd	
C1	6.87±0.24c	82.56±0.06c	0.30±0.02d	5.12±0.62a	

注: 同一列中不同字母代表差异显著 (*P*<0.05)。下同。
Note: Different letters in the same column represent significant differences (*P*<0.05). Same below.

表 2 PPI 原料的功能特性及粒径比较
Table 2 Comparison of functional properties and particle size of PPI raw materials

样品编号 Sample number	功能特性 Functional properties		粒径 Particle size/μm		
	氮溶指数 Nitrogen solvable index/%	凝胶强度 Gel strength/N	<i>D</i> ×10	<i>D</i> ×50	<i>D</i> ×90
A1	24.03±1.97a	0.40±0.04c	21.08±2.41bc	96.68±10.56ab	247.50±18.70a
A2	23.60±2.31ab	0.50±0.03c	23.60±1.70b	103.20±3.30b	253.00±12.10a
B1	25.51±1.25a	1.14±0.16a	18.58±2.30c	75.80±8.19c	202.50±32.40bc
B2	21.24±0.38b	0.84±0.06b	14.07±3.82d	61.13±12.55d	178.75±16.68c
C1	16.66±3.29c	0.48±0.07c	33.88±3.06a	113.75±2.50a	230.50±5.07ab

注: *D*×10, *D*×50, *D*×90 分别表示粒径小于其颗粒占 10%, 50%, 90%。
Note: *D*×10, *D*×50 and *D*×90 respectively indicate that the particle size is less than 10%, 50% and 90% of the particles.

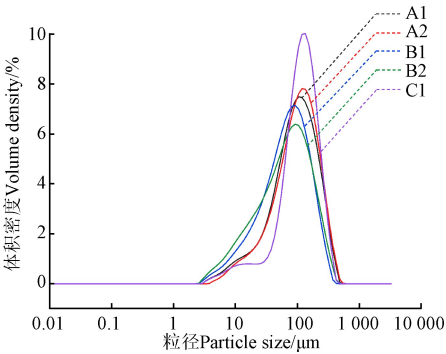


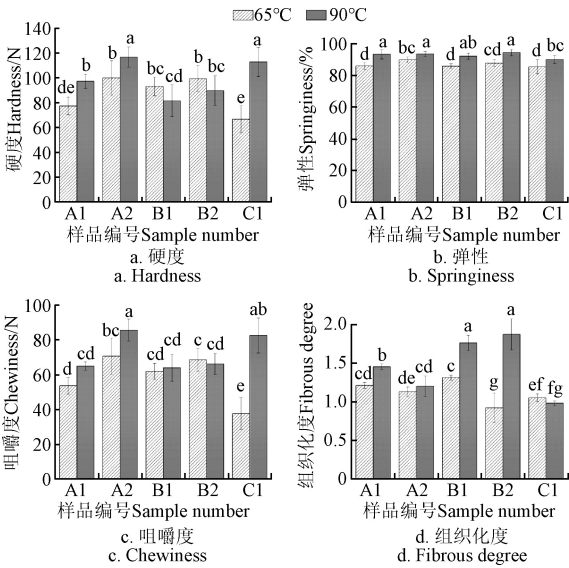
图 1 不同 PPI 原料粒径分布图
Fig.1 Particle size distribution of different PPI raw materials

2.2 不同 PPI 挤出物质构特性分析

由图 2 可知,相比 65 ℃ 的冷却成型温度,90 ℃ 冷却成型温度条件下,5 种 PPI 的弹性(图 2b)均显著增加,这主要因为冷却成型温度升高能够进一步促进蛋白交联^[26]。同时发现,提高冷却成型温度后,A1、A2、C1 挤出物的硬度、咀嚼度均有显著增加($P<0.05$),其中 C1 的硬度由 66.74 N 提高到 112.90 N,咀嚼度由 37.53 N 提高到 82.52 N,而 B1 与 B2 挤出物的硬度和咀嚼度无显著变化。由组织化度对比可知(图 2d),A1、A2、B1、B2 挤出物的组织化度在 90 ℃ 的冷却成型温度下均有增加,其中 B1 与 B2 组织化度大于 1.5,这可能是因为溶解度较高、凝胶性强的 PPI 在冷却模具中呈现层状流动时有利于蛋白分子链重排、聚合、交联,从而促进各向异性纤维结构形成^[27-28]。同时,提高冷却成型温度能够有效降低熔融体的黏度^[17,29],减少物料间的摩擦,同样有助于蛋白质分子的重排与交联^[26,30]。而 C1 的组织化度并无显著变化,这可能与原料溶解性较低($NSI<16.66\%$)而不利于挤出物各向异性结构的形成,因为溶解度较低的蛋白原料在挤压机中需要更高的机械能才能使其组织化^[28]。

由原料品质与挤出物质构品质相关性分析(表 3)可知,在较低的冷却成型温度下,氮溶指数与挤出物的硬度、咀嚼度呈极显著正相关关系($P<0.01$),与组织化度呈显著正相关($P<0.05$),说明蛋白原料的溶解度较高,可能有利于提高产品的硬度、咀嚼度及组织化度;较高的冷却成型温度下,溶解度与挤出物的弹性呈极显著正相关($P<0.01$),与组织化度呈显著正相关($P<0.05$),凝胶强度与挤出物的硬度呈显著负相关($P<0.05$),与组

织化度呈极显著正相关($P<0.01$),说明较高的冷却成型温度下,溶解度和凝胶强度可能共同影响着挤出物的质地品质。同时,较低的冷却温度下,水分、蛋白、脂肪和灰分与挤出物的组织化度无显著相关性,而提高温度后,挤出物的组织化度与水分、蛋白呈极显著正相关($P<0.01$),与脂肪呈显著相关($P<0.05$),与灰分呈显著负相关($P<0.05$),这说明水分、蛋白、脂肪及灰分与挤出物质构品质的相关性会随冷却成型温度的变化而改变。



注：上标不同字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。
Note: Different letters of superscript indicate significant different at the 0.05 level.

图 2 PPI 挤出物质构特性对比
Fig.2 Comparison of PPI extrudates' textural characteristics

表 3 原料品质与挤出物质构品质的相关性
Table 3 Correlation of raw materials and extrudates' texture quality

指标 Items	65 ℃				90 ℃			
	硬度 Hardness	弹性 Springiness	咀嚼度 Chewiness	组织化度 Fibrous degree	硬度 Hardness	弹性 Springiness	咀嚼度 Chewiness	组织化度 Fibrous degree
水分 Moisture	0.448	0.043	0.565*	0.316	-0.551*	0.562*	-0.633*	0.834**
蛋白 Protein	0.499	-0.108	0.534*	0.179	-0.742**	0.302	-0.651**	0.952**
脂肪 Fat	0.812**	0.370	0.846**	0.130	-0.264	0.432	-0.094	0.621*
灰分 Ash	-0.778**	-0.165	-0.781**	-0.158	0.365	-0.355	0.258	-0.594*
氮溶指数 Nitrogen solvable index	0.648**	0.387	0.731**	0.616*	-0.160	0.646**	-0.158	0.534*
凝胶强度 Gel strength	0.472	0.012	0.413	0.237	-0.532*	0.201	-0.339	0.726**

注：“***”为 $P<0.01$, 表示极显著相关, “*”为 $P<0.05$, 表示显著相关, “-”表示负相关。
Note: “***” is $P<0.01$, means very significant correlation, “*” is $P<0.05$, means significantly correlated, “-” means negative correlation.

2.3 宏观观察与微观观察分析

宏观结构由图 3 可知,65 ℃ 冷却成型温度下 A1 与 A2 分层结构不明显,质地更脆,提高冷却成型温度后,挤出物出现了分层结构,且在断裂处出现纤维丝状结构、质地更弹;B1 与 B2 在较低冷却成型温度下形成了较粗的纤维丝,而提高冷却成型温度后纤维丝较细且更加致密;C1 挤出物在改变温度前后分层结构变化不明显。由微观结构可知,在 500 与 5 000 放大倍数下均能观察到 B1 与 B2 的纤维状结构,而 A1、A2 及 C1 中未观察到明显的分层或纤维结构。相比 65 ℃ 冷却成型温度,在 90 ℃ 条件下,B1、B2 的结构更加紧凑,质地更加致密,纤维状结构更加明显,与 B1 相比,B2 的纤维排布更加整齐紧凑。此外,65 ℃ 的冷却成型温度下所有 PPI 挤出物中均有球形蛋白颗

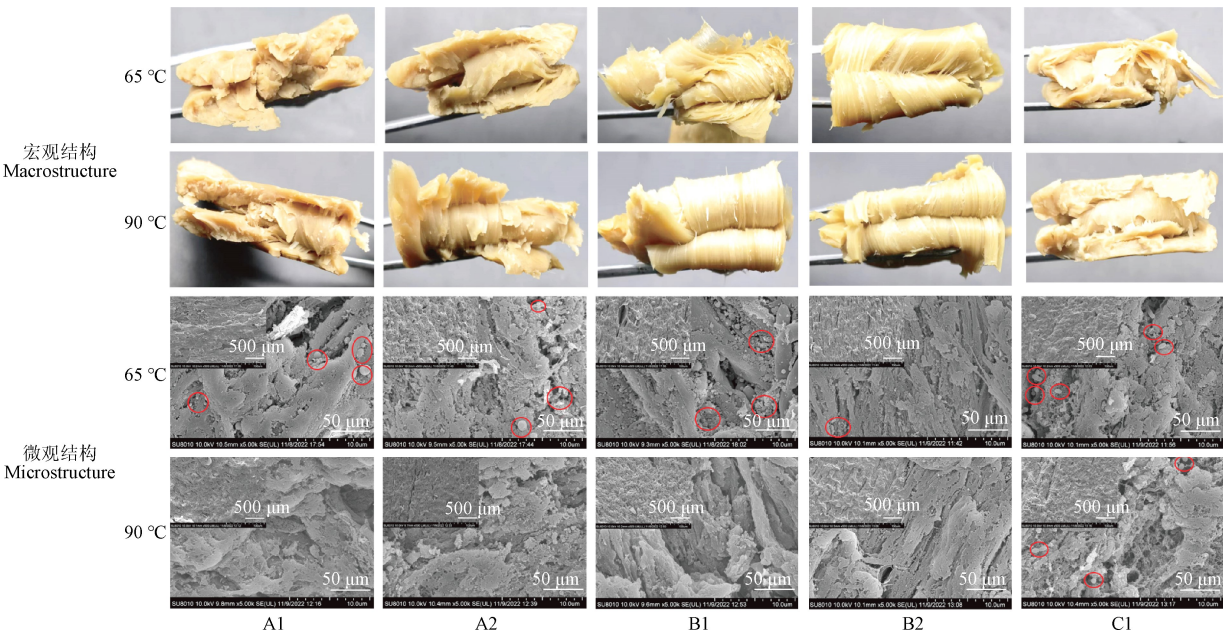
粒结构分布,而 90 ℃ 冷却成型温度下,PPI 中不存在球形蛋白颗粒(除 C1 外),这是因为较高的冷却成型温度能够促进蛋白伸展,提升产品的强韧度^[30-31],而 C1 粒径较大,不易与水水合,导致蛋白分子未能充分伸展所致^[26]。

2.4 豌豆蛋白内源荧光光谱变化分析

PPI 中约有 6% 的苯丙氨酸,4% 的酪氨酸和 1% 的色氨酸,因此可以利用蛋白质内源荧光光谱来测定蛋白质的三级结构变化^[32],最大发射波长变化如表 4 所示。对于 PPI 原料,B2 的最大发射波长最小,表明其蛋白分子结构较为紧密,发色团聚集在蛋白质分子内部。挤压过程使 PPI 的最大发射波长发生红移,这主要是因为 PPI 原料中大多数荧光残基位于蛋白质分子内,在高温、高压与剪切力的作用下,破坏了氢键、疏水键和其他维持

蛋白质空间结构的作用力^[33], 蛋白质分子链变性、伸展后在冷却模具中重排、交联形成新的蛋白结构^[34], 荧光发色团残基暴露。与 90 ℃ 冷却成型温度下的挤出物相比, 65 ℃ 冷却成型温度的挤出物的发色基团减少, 最大发射

波长发生蓝移, 这是因为较高冷却成型温度促进 PPI 蛋白分子结构收缩, 更有利于促进新的共价键生成^[35], 从而增加了蛋白质分子内与分子间的聚集性, 这与前述挤出物弹性增强、形成更加紧密的结构研究结果一致。



注：圈中为球形蛋白颗粒。
Note: spherical protein particles are marked in circles.

图 3 PPI 挤出物的宏观与微观结构图
Fig.3 The macro and micro structure photos of PPI extrudates

表 4 PPI 原料与挤出物的内源荧光最大发射波长
Table 4 Maximum emission wavelength of intrinsic fluorescence of PPI raw material and extrudates nm

样品编号 Sample number	原料 Raw materials	65 ℃	90 ℃
A1	372.75±1.06g	388.67±0.29a	382.50±0.71b
A2	372.50±0.05g	381.33±0.58b	378.75±2.47cd
B1	373.25±1.06g	381.83±1.26b	377.00±1.41e
B2	367.50±0.71h	379.50±1.00c	378.00±0.52de
C1	372.00±0.01g	381.50±0.50b	375.00±0.71f

注：表中不同字母代表差异显著 ($P<0.05$)。
Note: The different letters in the table represent significant differences ($P<0.05$).

2.5 豌豆蛋白表面疏水性变化分析

表面疏水性指数 (H_0) 表示蛋白质表面疏水基团的含量^[36-37], 蛋白质大部分疏水性残基处于分子内部, 当蛋白变性时蛋白构象发生变化, 疏水基团暴露, 导致表面疏水性增加^[38]。由表 5 可知, 原料中 B1、B2 与 C1 的 H_0 显著高于 A1 与 A2。在经过高分挤压后, A1、A2、B1、B2 的 H_0 均显著增加, 表明挤压促进了蛋白分子内部疏水性基团暴露^[33,39], 而 C1 在挤压后 H_0 降低(65 ℃), 这可能是因为 C1 的溶解度较低, 较低的冷却成型温度(65 ℃)能够使溶解度较低 PPI 的疏水基团相互作用并促进蛋白聚集, 从而导致 H_0 的降低。提高冷却成型温度后(90 ℃), A1、A2、C1 的 H_0 均增大, 而 B1、B2 的 H_0 降低, 这可能与 PPI 原料的凝胶性有关, 提高冷却成型温度会使凝胶性较强的 PPI H_0 降低、疏水基团含量降低。

表 5 PPI 原料与挤出物的表面疏水性指数 (H_0)
Table 5 Surface hydrophobicity index (H_0) of PPI raw materials and extrudates

样品编号 Sample number	原料 Raw material	65 ℃	90 ℃
A1	153.54±20.73g	324.42±15.02e	444.71±33.50ab
A2	164.52±10.34fg	411.98±61.07bc	448.09±15.83ab
B1	332.38±26.06de	461.20±30.29ab	395.93±15.89bcd
B2	310.13±29.33e	398.36±47.91bcd	373.56±13.33cde
C1	337.39±68.32de	217.7±13.51f	494.12±59.15a

注：表中不同字母代表差异显著 ($P<0.05$)。
Note: the different letters in the table represent significant differences ($P<0.05$).

2.6 豌豆蛋白二级结构变化分析

在红外光谱中, PPI 二级结构的变化主要反映在酰胺 I 波段 ($1\ 600\sim1\ 700\text{ cm}^{-1}$) 中每个亚峰含量的变化上^[40-41], α -螺旋和 β -折叠是紧密且有序的结构, 而 β -转角和无规则卷曲结构是松散且无序的结构^[42-43], PPI 原料及其挤出物二级结构组成如表 6 所示。PPI 原料的二级结构比例中由大到小依次为 β -折叠、 α -螺旋、 β -转角、无规则卷曲结构, 相比 PPI 原料, 所有挤出物的二级结构中 β -折叠比例略有减少。这表明, PPI 原料及其挤出物主要以 β -折叠为主要结构^[12], 而挤压过程导致 β -折叠结构减少, 无规则卷曲结构增加, 这与 ZHANG 等^[12]的研究结果一致。冷却成型温度对 5 种 PPI 挤出物的 β -折叠结构比例影响并不显著, 而提高冷却成型温度 A1、A2、B1、B2 中的 α -螺旋结构比例减少, β -转角比例增加, 而 C1 与之相反, 在 90 ℃ 的冷却条件下降低了 β -转角结构比例, 增加了 α -螺旋结构比例。

表 6 PPI 原料与挤出物的二级结构对比

Table 6 Comparison of secondary structure of PPI raw materials and extrudates

%

样品编号 Sample number	β -折叠 β -Sheet			无规则卷曲 Random coil			α -螺旋 α -Helix			β -转角 β -Turn		
	原料 Raw materials	65 °C	90 °C	原料 Raw materials	65 °C	90 °C	原料 Raw materials	65 °C	90 °C	原料 Raw materials	65 °C	90 °C
A1	43.34± 2.79ab	37.43± 1.30b	38.89± 2.28ab	9.32± 1.56bc	11.50± 0.82abc	13.24± 0.78ab	25.28± 5.76bcd	31.83± 2.75a	28.03± 3.12abcd	19.95± 6.80ab	19.24± 2.83ab	19.84± 2.96ab
A2	41.94± 2.95ab	40.76± 5.12ab	40.92± 1.17ab	7.37± 0.96c	12.32± 6.10abc	12.13± 1.86abc	31.78± 1.62a	28.31± 2.11abcd	15.06± 1.85cd	18.91± 1.42ab	18.61± 4.64b	22.82± 0.79ab
B1	45.00± 4.10a	40.21± 4.91ab	40.43± 0.40ab	10.55± 1.80abc	14.74± 3.32a	12.19± 1.17abc	26.86± 2.90abcd	28.32± 2.99abcd	27.43± 2.87abcd	20.42± 0.17ab	16.72± 2.14b	19.95± 2.77ab
B2	44.48± 6.03a	42.20± 1.91ab	41.42± 1.12ab	7.22± 4.27c	9.39± 1.55bc	9.62± 1.41abc	29.35± 2.84abc	30.73± 3.08ab	28.71± 3.39abcd	18.95± 0.95ab	17.67± 3.46b	20.25± 3.55ab
C1	43.37± 3.92ab	38.07± 0.19ab	40.78± 6.01ab	12.06± 1.56abc	13.49± 0.81ab	10.08± 4.30abc	26.35± 1.04abcd	23.41± 1.02d	27.12± 2.46abcd	18.21± 3.81b	25.03± 0.32a	22.03± 3.18ab

注：同一列中不同字母代表差异显著 ($P<0.05$)。Note: Different letters in the same column represent significant differences ($P<0.05$).

3 结 论

本文通过测定不同来源豌豆分离蛋白 (pea protein isolate, PPI) 的组分含量、粒径分布、溶解性、凝胶性等差异, 以及对比了不同冷却成型温度条件下 (65、90 °C) PPI 的高水分挤压特性。研究发现, PPI 的原料品质、冷却成型温度与挤出物的质地密切相关, 溶解度高 (21.24%~25.51%)、凝胶性强 (0.84~1.14 N) 的 PPI 有利于蛋白分子链重排、聚合、交联, 从而促进各向异性纤维结构形成 (组织化度>1.5), PPI 的粒径较大不利于在高水分挤压过程中的水合过程, 进而影响挤出物的质地品质。冷却成型温度是影响挤出物质构品质的重要因素, 较高的冷却成型温度下 (90 °C) 使 PPI 挤出物结构更加致密, 促进蛋白颗粒向纤维结构转变, 显著提高 PPI 挤出物的弹性。较高的冷却成型温度使 A1、B1、C1 挤出物的硬度和咀嚼度显著增加, 而对 B1、B2 的硬度和咀嚼度无显著影响。此外, 90 °C 的冷却成型温度更有利于新的共价键增加, 促进蛋白质的聚集。表面疏水性变化分析显示, 挤压过程导致疏水性基团增加, 同时疏水性基团的增加会促进蛋白质聚集。本文为以 PPI 为原料通过高水分挤压技术制备植物基肉制品在原料选择与模具冷却成型温度设定方面提供理论依据, 为新型植物基肉制品的产品研发和品质提升提供参考。

【参 考 文 献】

- [1] KUMAR R, HEGDE A, SHARMA K, et al. Microalgae as a sustainable source of edible proteins and bioactive peptides-current trends and future prospects[J]. Food Research International, 2022, 157: 111338.
- [2] 王强, 张金闯. 高水分挤压技术的研究现状、机遇及挑战[J]. 中国食品学报, 2018, 18(7): 1-9.
WANG Qiang, ZHANG Jinchuang. Research status, opportunities and challenges of high moisture extrusion technology[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(7): 1-9. (in Chinese with English abstract)
- [3] 黄培文, 陈林, 丁婷, 等. 高压均质对油脂预乳化大豆拉丝蛋白素食香肠质构特性的影响[J]. 农业工程学报, 2022, 38(19): 269-276.
HUANG Peiwen, CHEN Lin, DING Ting, et al. Effects of

pre-emulsification of oil treated by high pressure homogenization on the texture properties of textured fibril soy protein vegetarian sausages[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2022, 38(19): 269-276. (in Chinese with English abstract)

- [4] DEKKERS B, BOOM R, van DER GOOT A J. Structuring processes for meat analogues[J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 81: 25-36.
- [5] LUTZ G, JOCHEN W. Alternative protein sources as technofunctional food ingredients[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2021, 12: 97-113.
- [6] GE J, SUN C-X, CORKE H, et al. The health benefits, functional properties, modifications, and applications of pea (*Pisum sativum*L.) protein: Current status, challenges, and perspectives[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2020, 19(4): 1835-1876.
- [7] LANGYAN S, YADAVA P, KHAN F N, et al. Sustaining protein nutrition through plant-based foods [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 8: 772573.
- [8] TULBEK M, LAM R S, WANG Y, et al. Pea: A Sustainable vegetable protein crop[M]//Sudarshan Nadathur: Sustainable Protein Sources. American: Academic Press, 2017: 145-164.
- [9] LAM A, KARACA A, TYLER R, et al. Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality[J]. Food Reviews International, 2018, 34(2): 126-147.
- [10] BOUKID F, ROSELL C, CASTELLARI M. Pea protein ingredients: A mainstream ingredient to (re)formulate innovative foods and beverages[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110: 729-742.
- [11] MORENO H, TOVAR C, DOMINGUEZ-TIMON F, et al. Gelation of commercial pea protein isolate: Effect of microbial transglutaminase and thermal processing[J]. Food Science and Technology, 2020, 40(4): 800-809.
- [12] ZHANG B, KANG X, CHENG Y, et al. Impact of high moisture contents on the structure and functional properties of pea protein isolate during extrusion[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 127: 107508.
- [13] FERAWATI F, ZAHARI I, BARMAN M, et al. High-moisture meat analogues produced from yellow pea and faba bean protein isolates/concentrate: Effect of raw material composition and extrusion parameters on texture properties[J]. Foods, 2021, 10(4): 843.
- [14] ZHANG J, CHEN Q, KAPLAN D L, et al. High-moisture extruded protein fiber formation toward plant-based meat substitutes applications: Science, technology, and prospect[J].

- Trends in Food Science & Technology, 2022, 128: 202-216.
- [15] 张金闯, 刘丽, 刘红芝, 等. 食品挤压技术装备及工艺机理研究进展[J]. 农业工程学报, 2017, 33(14): 275-283. ZHANG Jinchuang, LIU Li, LIU Hongzhi, et al. Research advances on food extrusion equipment, technology and its mechanism[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2017, 33(14): 275-283. (in Chinese with English abstract)
- [16] IMMONEN M, CHANDRAKUSUMA A, SIBAKOV J, et al. Texturization of a blend of pea and destarched oat protein using high-moisture extrusion[J]. Foods, 2021, 10(7): 1517.
- [17] OSEN R, TOELSTEDE S, WILD F, et al. High moisture extrusion cooking of pea protein isolates: Raw material characteristics, extruder responses, and texture properties[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 127: 67-74.
- [18] QIN J, ZHAO Y, ZHOU J, et al. Rheological properties of transglutaminase-treated concentrated pea protein under conditions relevant to high-moisture extrusion processing[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 970010.
- [19] SUN C, WU T, LIU R, et al. Effects of superfine grinding and microparticulation on the surface hydrophobicity of whey protein concentrate and its relation to emulsions stability[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 51: 512-518.
- [20] 张金闯. 高水分挤压过程中花生蛋白构象变化及品质调控[D]. 北京: 中国农业科学院农产品加工研究所, 2019. ZHANG Jinchuang. Conformational Changes and Quality Control of Peanut Protein during the High-moisture Extrusion Process[D]. Beijing: Institute of Food Science and Technology CAAS, 2019. (in Chinese with English abstract)
- [21] JIANG J, CHEN J, XIONG Y. Structural and emulsifying properties of soy protein isolate subjected to acid and alkaline pH-shifting processes[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2009, 57(16): 7576-7583.
- [22] FEYZI S, MILANI E, GOLIMOVAHHED Q. Grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein isolate: The effect of extraction optimization and drying methods on the structure and functional properties[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 74: 187-196.
- [23] ZHANG J, LIU L, JIANG Y, et al. Converting peanut protein biomass waste into "double green" meat substitutes using a high-moisture extrusion process: A multiscale method to explore a process for forming a meat-like fibrous structure[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(38): 10713-10725.
- [24] TAN M. Functional and food application of plant proteins-a review[J/OL]. Food Reviews International, 2021-08-19 [2023-01-31]. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1955918>.
- [25] KURIEN B, AGGARWAL R, SCOFIELD R. Protein extraction from gels: A brief review[J]. Methods in Molecular Biology, 2019, 1855: 479-482.
- [26] GUYONY V. High moisture extrusion of vegetable proteins for making fibrous meat analogs: A review[J/OL]. Food Reviews International, 2022-02-10[2023-01-31]. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2023816>.
- [27] RIAZI F, TEHRANI M, LAMMERS V, et al. Unexpected morphological modifications in high moisture extruded pea-flaxseed proteins: Part I, topological and conformational characteristics, textural attributes, and viscoelastic phenomena[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 136: 108304.
- [28] RIAZ M. Texturized soy protein as an ingredient[M]/YADA, R: Proteins in Food Processing. American: CRC Press, 2004: 517-558.
- [29] SCHMID E-M, FARAHNAKY A, ADHIKARI B, et al. High moisture extrusion cooking of meat analogs: A review of mechanisms of protein texturization[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, 21(6): 4573-4609.
- [30] 肖志刚, 张雪萍, 段玉敏, 等. 植物蛋白高水分挤压组织化过程中水分和冷却温度对流变特性的影响[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(5): 87-92. XIAO Zhigang, ZHANG Xueping, DUAN Yumin, et al. Effects of moisture and cooling temperature on rheological properties of plant protein during high moisture extrusion[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2022, 37(5): 87-92. (in Chinese with English abstract)
- [31] MURILLO J, OSEN R, HIERMAIER S, et al. Towards understanding the mechanism of fibrous texture formation during high-moisture extrusion of meat substitutes[J]. Journal of Food Engineering, 2019, 242: 8-20.
- [32] YANG J, ZAMANI S, LIANG L, et al. Extraction methods significantly impact pea protein composition, structure and gelling properties[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 117: 106678.
- [33] CHEN Q, ZHANG J, LIU H, et al. Mechanism of high-moisture extruded protein fibrous structure formation based on the interactions among pea protein, amylopectin, and stearic acid[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 136: 108254.
- [34] 李同庆. 酶法改性技术及其在植物基肉制品中的应用研究进展[J/OL]. 食品科学, 2022-09-30 [2023-01-31]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220929.1141.004.html>. LI Tongqing. Research progress on enzymatic modification technology and its application in plant-based meat products[J/OL]. Food Science, 2022-09-30 [2023-01-31]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220929.1141.004.html>. (in Chinese with English abstract)
- [35] CHEN Q, ZHANG J, ZHANG Y, et al. Protein-amylose/amylopectin molecular interactions during high-moisture extruded texturization toward plant-based meat substitutes applications[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 127: 107559.
- [36] ARORA B, SINGHA P, RIZVI S. Supercritical fluid extrusion: Die design and physicochemical properties of milk protein extrudates[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2021, 68: 102637.
- [37] 吴海波, 齐宝坤, 江连洲, 等. 大豆分离蛋白热性质及其空间构象对表面疏水性的影响[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(10): 42-46. WU Haibo, QI Baokun, JIANG Lianzhou, et al. Effect of thermal properties and spatial conformation of soybean protein isolate on surface hydrophobicity[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2014, 29(10): 42-46. (in Chinese with English abstract)
- [38] 曲敏, 王宇, 朱秀清, 等. 谷朊粉基共混黏合体系的构建及在素肉饼中的应用[J]. 农业工程学报, 2022, 38(19): 285-294. QU Min, WANG Yu, ZHU Xiuqing, et al. Construction of gluten based blend adhesive system and its application in vegetable meat pie[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2022, 38(19): 285-294. (in Chinese with English abstract)
- [39] CHEN Q, ZHANG J, ZHANG Y, et al. Microscopic insight into the interactions between pea protein and fatty acids during high-moisture extrusion processing[J]. Food Chemistry, 2022, 404: 134176.
- [40] GUERRERO P, BEATTY E, KERRY J, et al. Extrusion of soy protein with gelatin and sugars at low moisture content[J].

- Journal of Food Engineering, 2012, 110(1): 53-59.
- [41] 段庆松, 段玉敏, 肖志刚, 等. 挤压稳定化处理对米糠各组分蛋白结构及功能性质的影响[J]. 农业工程学报, 2020, 36(19): 283-290.
- DUAN Qingsong, DUAN Yumin, XIAO Zhigang, et al. Effects of extrusion stabilization on protein structure and functional properties of rice bran components[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2020, 36(19): 283-290. (in Chinese with English abstract)
- [42] GUO Z, TENG F, HUANG Z, et al. Effects of material characteristics on the structural characteristics and flavor substances retention of meat analogs[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105: 105752.
- [43] ZHOU L, ZHANG Y, ZHAO C, et al. Structural and functional properties of rice bran protein oxidized by peroxy radicals[J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20: 1456-1467.

Characterization of the high moisture extrusion of pea protein isolate from various sources

LI Tongqing¹*, ZHANG Jinchuang¹*, LIU Haodong¹, HU Anna¹, CAI Shanshan², WANG Qiang¹*

(1. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agriculture Sciences/Key Laboratory of Agro-Products Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100193, China;

2. Weifang Institute of Food Science and Processing Technology, Weifang 261100, China)

Abstract: Protein-rich food has been the ever increasing demand with the growth of the world population. Animal meat protein that is provided by the traditional breeding industry will be difficult to meet human needs. Alternatively, plant protein can be expected to serve as the demand for protein, due to the higher yield and wider resources. Therefore, the plant-based meat products can be used to partially replace animal meat with plant protein using modern processing technology. It is of great significance in sustainable development, low carbon emission reduction, and nutritional demand. Among them, peas are widely used in the food industry, because of their high yield, high nutritional value, and low cost. The pea protein can be taken as the raw material in plant-based meat products using high water extrusion technology (moisture content of 40%–80%). The products are also closer to the texture quality of animal meat. However, pea protein isolate (PPI) from various sources varied greatly, in terms of both quality and functional characteristics. It is unclear on the high moisture extrusion qualities, which made it difficult to produce the pea protein in the plant-based meat substitutes. In this study, five commercial PPIs were selected to evaluate the variations, in terms of component content, particle size, solubility, gelation, and high moisture extrusion properties at 2 different cooling temperatures (65°C, and 90°C). The findings revealed that the quality and functional properties of PPI, as well as the cooling temperature, were connected to the quality of the extrudates. The PPI with high solubility (21.24%–25.51%) and strong gelation (0.84–1.14 N) was more advantageous to the fiber structure development (fibrous degree>1.5). At the lower cooling temperature, the solubility and extrudates' hardness, and chewiness were a very significant positive correlation ($P<0.01$), and the fibrous degree was significantly positively ($P<0.05$) related to the solubility, indicating that the higher solubility of protein raw material had improved the hardness, chewiness, product, and fibrous degree. At high cooling temperatures, the solubility of the springiness of the extrudate was very significant positive correlated ($P<0.01$), the fibrous degree was a significant positive correlation ($P<0.05$), the gel strength and the rigidity of the extrudate were significantly negative correlation ($P<0.05$), very significant positive correlation ($P<0.01$) on the organization, indicating the solubility and gel strength influencing the extrusion quality. Besides, the moisture, protein, fat, and ash content were not correlated with the extrudates' fibrous degree at a lower temperature, while the high temperature after the extrudates' fibrous degree was a very significant positive correlation with the moisture and protein ($P<0.01$), correlated with the fat ($P<0.05$), and the ash content was a significantly negative correlation ($P<0.05$). Consequently, there was a significant correlation between the content of water, protein, fat, and ash, as well as the quality of extruded materials. as the cooling temperature changed. In addition, 90°C cooling temperature was more conducive to the increase of new covalent bonds, promoting protein aggregation. The surface hydrophobicity analysis showed that the extrusion process resulted in the increase of hydrophobic groups, and then promoted protein aggregation. The secondary structure showed that the increasing cooling temperature increased the proportion of the β -folding structure and the formation of the fiber structure. This finding can provide the theoretical basis for the selection of raw materials at the cooling and forming temperature for plant-based meat products that are prepared by high moisture extrusion technology. A strong reference can be offered for the product development and quality improvement of new plant-based meat products.

Keywords: protein; textural properties; microstructure; pea protein isolate; functional properties; high moisture extrusion