

# 不同种类糖对燕麦蛋白糖基化产物 功能性质及结构的影响

许英一<sup>1</sup>, 马鑫蕊<sup>1</sup>, 徐艳霞<sup>2</sup>, 王宇<sup>2</sup>, 林巍<sup>1</sup>, 王彪<sup>1</sup>, 王德香<sup>2</sup>

(1. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院, 黑龙江齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

**摘要:**为提高燕麦蛋白(OP)的功能性质,提高其品质,分别采用葡萄糖(G)、乳糖(L)、壳寡糖(C)、海藻酸钠(S)对燕麦蛋白进行湿法糖基化改性,探究4种不同分子大小的糖对燕麦蛋白糖基化产物(G-OP、L-OP、C-OP、S-OP)功能性质及结构的影响。结果表明:4种糖基化燕麦蛋白的溶解性较改性前均有较大提高,其中L-OP的溶解度(pH 7)较改性前提高了64.23个百分点;4种糖基化燕麦蛋白的乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)均显著提高( $p < 0.05$ ),其中C-OP的EAI和ESI较改性前分别增加了8.91 m<sup>2</sup>/g和21.26个百分点;4种糖基化燕麦蛋白的持水性、吸油性、体外消化性及表面疏水性较改性前均显著提高( $p < 0.05$ );SDS-PAGE、傅里叶红外光谱、荧光光谱分析表明,糖链的引入使OP空间结构发生了变化,证明了OP分别与4种糖发生共价结合生成糖蛋白。综上,虽然蛋白的糖基化反应是一种化学改性,但由于没有任何化学试剂参与,通过自发反应发生共价交联,生成具有良好功能性质的蛋白糖基化共价复合物,属于“绿色加工工艺”,适合高品质改性植物蛋白的研制。

**关键词:**燕麦蛋白;糖基化;功能性质;结构

中图分类号:TS210.1;TS201.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)02-0048-07

## Effects of different sugars on functional properties and structure of oat protein glycosylation products

XU Yingyi<sup>1</sup>, MA Xinrui<sup>1</sup>, XU Yanxia<sup>2</sup>, WANG Yu<sup>2</sup>, LIN Wei<sup>1</sup>,  
WANG Biao<sup>1</sup>, WANG Dexiang<sup>2</sup>

(1. College of Food and Bioengineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China;  
2. Animal Husbandry and Veterinary Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161005, Heilongjiang, China)

**Abstract:** In order to improve the functional properties of oat protein (OP) and improve its quality, OP was modified by wet glycosylation with glucose (G), lactose (L), chitosan (C) and sodium alginate (S) respectively to explore the effects of four sugars of different molecular masses on the functional properties and structure of oat protein glycosylation products (G-OP, L-OP, C-OP, S-OP). The results showed that the solubility of the four glycosylated oat proteins was greatly improved, and the solubility (pH 7) of

L-OP increased by 64.23 percentage points compared with that without modification. The emulsifying activity index (EAI) and emulsifying stability index (ESI) of the four glycosylated oat proteins were significantly improved ( $p < 0.05$ ), in which the EAI and ESI of C-OP increased by 8.91 m<sup>2</sup>/g and 21.26 percentage points respectively compared with those before modification. The water holding capacity, oil absorption, in vitro digestibility and surface hydrophobicity of the four

收稿日期:2021-08-12;修回日期:2022-07-08

基金项目:黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(145109316);黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目“植物性食品加工技术特色学科专项”(YSTSXX201824);黑龙江省农业科学院“农业科技创新跨越工程”专项(HNK2019CX16);黑龙江省农业科学院“农业科技创新跨越工程”专项(HNK2019CX15-5)

作者简介:许英一(1971),女,教授,硕士生导师,硕士,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程(E-mail) wyxy-1@163.com。

glycosylated oat proteins were significantly improved ( $p < 0.05$ ) compared with OP. SDS - PAGE, Fourier infrared spectroscopy and fluorescence spectrum analysis showed that the introduction of sugar chains changed the spatial structure of OP, further proving that OP covalently bound four sugars and formed glycoproteins. In summary, although the glycosylation reaction of protein is a kind of chemical modification, covalent cross - linking occurs through spontaneous reaction without the participation of any chemical reagent to produce covalent protein glycosylation complexes with good functional properties, which belongs to the "green processing technology", and is suitable for the development of high - quality modified plant proteins.

**Key words:** oat protein; glycosylation; functional property; structure

燕麦被称为“第三主粮”，具有降血脂、降血糖、增强免疫力、抗氧化等多种保健功能<sup>[1]</sup>。燕麦中蛋白质含量一般为 11.19% ~ 19.85%，其氨基酸均衡且配比合理，籽粒中蛋白质含量高于其他谷物<sup>[2]</sup>。燕麦蛋白的溶解性等功能性性质较差，限制了其在食品加工领域中的应用。目前提高蛋白质功能性性质的方法主要有物理法、化学法和酶法等。蛋白质糖基化改性是利用蛋白质与糖的接枝反应形成共价复合物而实现对蛋白质的化学改性，具有反应过程温和、产物无毒等优点。

近年来，采用糖基化反应修饰蛋白质已受到国内外学者的广泛关注，将改性的蛋白质作为添加剂应用于食品配方中是一种极具潜力的方法。通过糖基化改性，产物的溶解性、乳化性、凝胶性以及抗氧化活性等功能性性质有不同程度的提高<sup>[3-6]</sup>。关于燕麦蛋白的糖基化改性也有报道，如张蓓<sup>[7]</sup>研究了不同单糖、多糖与燕麦分离蛋白接枝改性，比较了不同糖基化产物功能性性质，发现葡萄糖与燕麦分离蛋白的糖基化产物溶解性大幅提高，而多糖特别是 40 kDa 葡聚糖与燕麦分离蛋白反应生成的糖基化产物具有较高的乳化活性和乳化稳定性。但关于燕麦蛋白与壳寡糖等低聚糖糖基化改性鲜有报道。本试验拟选用葡萄糖、乳糖、壳寡糖、海藻酸钠对燕麦蛋白进行湿法糖基化改性，比较单糖、低聚糖和多糖 3 种类型糖对燕麦蛋白糖基化产物功能性性质及结构的影响，揭示燕麦蛋白糖基化产物结构与功能性性质之间的构效关系，以期对燕麦蛋白的开发及应用提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

燕麦，黑龙江省农科院畜牧兽医分院实验基地；葡萄糖、乳糖、海藻酸钠、壳寡糖均为分析纯，浙江金壳药业有限公司；邻苯二甲醛、胃蛋白酶、胰蛋白酶，Sigma 公司；牛血清白蛋白标准品，中国药品生物制

品检定所；其他试剂均为分析纯。

SHA - C 型恒温水浴振荡器，金坛市天竟实验仪器厂；PC/PLCLD - 53 型真空冷冻干燥机，美国 Millrock 公司；TDL - 5A 型台式离心机，上海安亭科学仪器厂；DF - 11 型集热式磁力加热搅拌器，山东东易日盛仪器有限公司；PB - 10 型 pH 计，北京赛多利斯仪器有限公司；IKA T25 型高剪切分散乳化机，德国 IKA 集团；Spectrum One 型傅里叶变换红外光谱仪，美国 Perkin Elmer 公司；TU - 1901 型紫外可见分光光度计，北京普析通用仪器有限责任公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 燕麦蛋白的提取

参考张蓓<sup>[7]</sup>的方法并略作修改，采用碱溶酸沉法提取燕麦蛋白。燕麦籽粒磨粉过筛，正己烷脱脂。将脱脂燕麦粉以料水比 1:8 (质量体积比) 配制溶液，用 1 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 10，在 50 °C 水浴振荡 2 h，以 10 000 r/min 离心 10 min，上清液用 1 mol/L HCl 调 pH 至 4.2，静置 30 min，离心 (10 000 r/min, 10 min) 取沉淀，水洗沉淀 2 次，调 pH 至 7.0，冷冻干燥，得到燕麦蛋白 (OP)。

#### 1.2.2 燕麦蛋白糖基化产物的制备

参考 Zhu 等<sup>[8]</sup>的方法并略作修改。准确称取一定量的燕麦蛋白，将其分散于 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH 9) 中，于 35 °C 磁力搅拌 1 h 使燕麦蛋白完全分散，按照一定比例分别加入葡萄糖 (Glucose, G)、乳糖 (Lactose, L)、壳寡糖 (Chitosan, C)、海藻酸钠 (Sodium alginate, S)，于 35 °C 磁力搅拌 3 h。置于一定温度的水浴中加热反应一定时间后，冰浴冷却至室温。于 4 °C 透析 24 h 除去未反应的糖，冷冻干燥后得到燕麦蛋白 - 葡萄糖、燕麦蛋白 - 乳糖、燕麦蛋白 - 壳寡糖、燕麦蛋白 - 海藻酸钠 4 种产物，分别记为 G - OP、L - OP、C - OP、S - OP。

### 1.2.3 接枝度测定

参考 Yu 等<sup>[9]</sup>的方法,采用 OPA 法测定糖基化接枝度。

### 1.2.4 溶解性测定

采用氮溶解指数(NSI)表征溶解性,参考文献[10]的方法测定。取 1 g 样品,加入 50 mL 水溶解,用 1 mol/L 盐酸或 1 mol/L NaOH 溶液分别调节 pH 至 2 ~ 11,振荡 30 min,在 5 000 r/min 下离心 30 min,取上清液测定含氮量。按下式计算氮溶解指数。

$$I_{NS} = c_1/c \times 100\% \quad (1)$$

式中: $I_{NS}$ 为氮溶解指数; $c_1$ 为上清液的含氮量; $c$ 为样品中的含氮量。

### 1.2.5 乳化活性及乳化稳定性测定

参考张慧莹等<sup>[11]</sup>的方法。用 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 7.0)配制质量浓度为 1 g/L 的蛋白溶液,将蛋白溶液与大豆油混合(体积比 30:10),以 12 000 r/min 均质 1 min。将溶液分别静置 0、10 min,然后在其底部取出 50  $\mu$ L 乳浊液,加 5 mL 1 g/L 的十二烷基硫酸钠(SDS)溶液,涡旋混合,在 500 nm 处测定吸光度。乳化活性指数(EAI)及乳化稳定性指数(ESI)分别通过公式(2)、公式(3)计算。

$$I_{EA} = (2 \times T \times A_0 \times N)/(C \times \phi \times 10^4) \quad (2)$$

$$I_{ES} = A_{10}/A_0 \times 100\% \quad (3)$$

式中: $I_{EA}$ 为乳化活性指数, $m^2/g$ ; $A_0$ 为零时刻的吸光度; $T$ 为 2.303; $N$ 为溶液稀释倍数; $\phi$ 为溶液中油的体积分数(0.25); $C$ 为样品质量浓度,g/mL; $I_{ES}$ 为乳化稳定性指数; $A_{10}$ 为静置 10 min 的吸光度。

### 1.2.6 持水性、吸油性测定

称取 0.1 g 样品于离心管中,分别加入 5 mL 去离子水或 5 mL 大豆油,涡旋振荡 5 min 后于室温下静置 30 min,以 8 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液称质量。持水性( $C_{WH}$ )及吸油性( $C_{FA}$ )的计算见公式(4)。

$$C_{WH}(C_{FA}) = (m_2 - m_1)/m_0 \quad (4)$$

式中: $m_0$ 为样品质量,g; $m_1$ 为样品与离心管的总质量,g; $m_2$ 为离心后样品与离心管的总质量,g。

### 1.2.7 体外消化性测定

参考王晓杰等<sup>[12]</sup>的方法,采用一步消化法和两步消化法测定样品的体外消化性。一步消化法:配制一定浓度的样品溶液,加入 2 mg 胃蛋白酶,于 37  $^{\circ}$ C 下消化 2 h,离心,测定上清液在 280 nm 处的吸光度。两步消化法:配制一定浓度的样品溶液,加入 2 mg 胃蛋白酶,于 37  $^{\circ}$ C 下消化 1 h;灭酶冻干,将

干燥产物配制成一定浓度的溶液,加入 6 mg 胰蛋白酶,于 37  $^{\circ}$ C 下继续消化 1 h,离心,测定上清液在 280 nm 处的吸光度。

### 1.2.8 表面疏水性测定

参考文献[13]采用 ANS 荧光探针法进行表面疏水性指数( $H_0$ )的测定,并略有改动。用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7)配制质量浓度分别为 0.012 5、0.025、0.05、0.1、0.2 mg/mL 和 0.4 mg/mL 的燕麦蛋白及其糖基化产物溶液,加入 20  $\mu$ L 8 mmol/L ANS 荧光探针,涡旋混合。室温下避光反应 15 min,在激发波长 390 nm、发射波长 470 nm、狭缝 5 nm 的条件下测定燕麦蛋白及其糖基化产物与 ANS 结合物的相对荧光强度,以样品质量浓度为横坐标、相对荧光强度为纵坐标作图,得到线性回归曲线的初始斜率即为表面疏水性指数。

### 1.2.9 SDS-PAGE 分析

参考余瑞元等<sup>[14]</sup>的方法并略有改动。采用 12% 分离胶、5% 浓缩胶进行垂直夹板电泳。样品质量浓度 2 mg/mL,上样量 15  $\mu$ L,电泳电压 100 V,当指示剂前沿距电泳槽胶底 0.5 cm 时,停止电泳,关闭电源。取下凝胶分别用考马斯亮蓝染色和 Schiff 试剂(PAS)染色。

### 1.2.10 荧光光谱分析

采用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.6)配制 0.4 mg/mL 的蛋白样品溶液。参照文献[15],为降低酪氨酸残基干扰,在荧光光谱激发波长 290 nm、扫描发射光谱范围 300 ~ 400 nm、激发和发射狭缝宽度均为 5 nm 条件下测定样品荧光光谱。

### 1.2.11 傅里叶红外光谱(FTIR)分析

称取一定量蛋白样品,加入溴化钾,研磨均匀,压成均一透明的薄片,用傅里叶变换红外光谱仪测定得红外光谱图。测定条件:扫描范围 4 000 ~ 400  $cm^{-1}$ ,分辨率 4  $cm^{-1}$ ,精度 0.01  $cm^{-1}$ ,扫描次数 32 次,环境温度 25  $^{\circ}$ C。

### 1.2.12 数据处理

应用 SPSS19.0 软件进行数据处理,各组数据结果以“平均值  $\pm$  标准差”表示,采用 Duncan's 多重比较法进行显著性检验( $p < 0.05$  表示具有统计学意义)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同种类糖与燕麦蛋白糖基化产物的最优制备工艺条件及接枝度

课题组前期单因素试验和正交试验确定 G-OP 最优反应条件为燕麦蛋白质量浓度 2 g/100 mL、G 与 OP 质量比 3:1、反应时间 80 min、反应温度

95 ℃,接枝度为(19.82 ± 0.09)% ;L-OP 最优反应条件为燕麦蛋白质量浓度 2 g/100 mL、L 与 OP 质量比 2:1、反应时间 80 min、反应温度 95 ℃,接枝度为(17.86 ± 0.07)% ;C-OP 最优反应条件为燕麦蛋白质量浓度 1 g/100 mL、C 与 OP 质量比 2:1、反应时间 80 min、反应温度 95 ℃,接枝度为(13.08 ± 0.92)% ;S-OP 最优反应条件为燕麦蛋白质量浓度 2 g/100 mL、S 与 OP 质量比 1:1、反应时间 60 min、反应温度 95 ℃,接枝度为(13.91 ± 1.13)%。

## 2.2 不同种类糖与燕麦蛋白糖基化产物的溶解性

燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物在 pH 2 ~ 11 条件下溶解度的变化情况如图 1 所示。

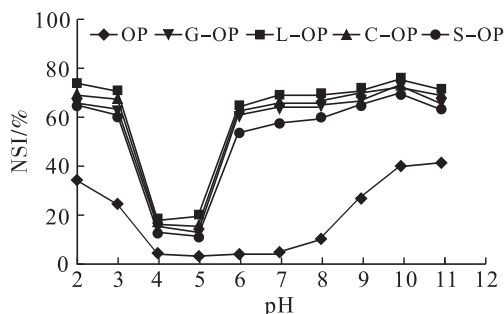


图 1 燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物的溶解度

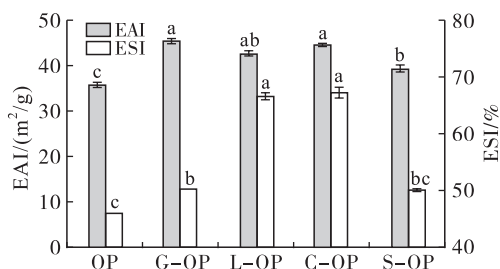
由图 1 可以看出,与燕麦蛋白相比,4 种糖基化燕麦蛋白的溶解性均有较大提高,这与夏秀芳等<sup>[16]</sup>的研究结果相符,即糖基化改性蛋白与未改性蛋白相比溶解度增幅较大。这是由于糖类带有大量亲水羟基,经糖基化反应后生成的共价复合物的亲水基团数目增多,从而提高了燕麦蛋白的溶解性。在 pH 7 和 pH 10 时,燕麦蛋白的溶解度分别为 4.32% 和 39.30%,4 种糖基化产物中 L-OP 的溶解度最高,分别为 68.55% 和 74.45%。糖的种类也会影响糖基化产物的溶解性。Chevalier 等<sup>[17]</sup>研究发现,不同糖(阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、乳糖、鼠李糖、核糖)与  $\beta$ -乳球蛋白糖基化反应产物溶解性不同,表明糖的种类是糖基化反应改善蛋白质功能性质的重要因素;Seo 等<sup>[18]</sup>的研究结果同样表明不同糖对糖基化产物溶解度的影响不同。

## 2.3 不同种类糖与燕麦蛋白糖基化产物的乳化活性和乳化稳定性

燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物的 EAI 和 ESI 如图 2 所示。

由图 2 可以看出,与燕麦蛋白相比,4 种糖基化燕麦蛋白的 EAI 和 ESI 都显著提高( $p < 0.05$ ),这与夏秀芳等<sup>[16]</sup>的研究结果相符,即糖基化改性可显

著提高蛋白的乳化性能。燕麦蛋白分别与不同分子大小的含羟基糖共价结合后,糖基化燕麦蛋白的亲水能力增加,使其同时具有双亲结构,其中疏水基团溶于油相,亲水糖类溶于水相,表面吸附能力增强,能够稳定地分散于油水界面上,平衡了油滴间的聚集,从而导致 EAI 和 ESI 均增加。与燕麦蛋白相比,C-OP 的 EAI 和 ESI 分别增加了 8.91  $\text{m}^2/\text{g}$  和 21.26 百分点。4 种糖基化燕麦蛋白的乳化活性大小为 G-OP > C-OP > L-OP > S-OP,乳化稳定性大小为 C-OP > L-OP > G-OP > S-OP。造成这种差异的原因可能是蛋白与不同种类糖发生糖基化反应引起的主要构象改变不同,这通常与糖的分子质量相关。



注:同一指标不同小写字母表示差异显著( $p < 0.05$ )。

下同

图 2 燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物的 EAI 和 ESI

## 2.4 不同种类糖与燕麦蛋白糖基化产物的持水性、吸油性

燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物的持水性和吸油性如图 3 所示。

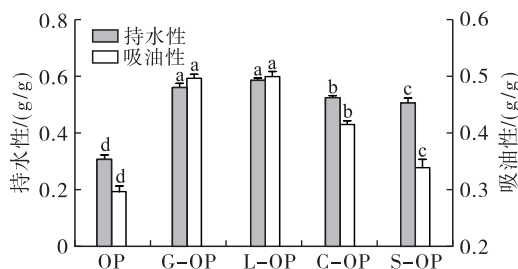


图 3 燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物的持水性和吸油性

由图 3 可以看出,与燕麦蛋白相比,4 种糖基化燕麦蛋白的持水性和吸油性都显著提高( $p < 0.05$ ),持水性分别提高了 79.23% (G-OP)、87.33% (L-OP)、67.77% (C-OP) 和 61.81% (S-OP),吸油性分别提高了 68.01% (G-OP)、69.02% (L-OP)、40.37% (C-OP) 和 14.60% (S-OP)。这是由于亲水性糖基的导入提高了蛋白质的持水能力,同时使吸油性增加。4 种糖基化燕麦蛋白的持水性、吸油性大小均为 L-OP > G-

OP > C-OP > S-OP。迟涛等<sup>[19]</sup>研究发现,乳清蛋白糖基化修饰能够显著提高乳清蛋白的吸油能力,同时持水能力也有所提高,与本研究结果一致。

## 2.5 不同种类糖与燕麦蛋白糖基化产物的体外消化性

体外消化性是通过模拟消化器官的消化过程,使大分子蛋白在胃蛋白酶和胰蛋白酶作用下分解成水溶性的小分子物质,通过测定消化液在 280 nm 处吸光度可评价待测蛋白的可消化程度。燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物的体外消化性如图 4 所示。

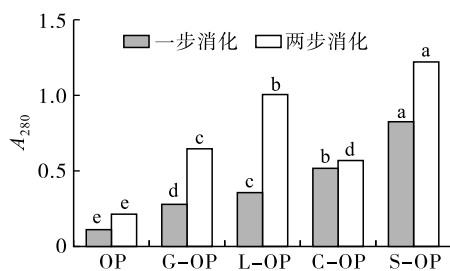


图 4 燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物的体外消化性

由图 4 可以看出,与燕麦蛋白相比,4 种糖基化燕麦蛋白的一步消化和两步消化的吸光度都显著提高( $p < 0.05$ ),说明糖基化改性显著提高了燕麦蛋白的体外消化能力( $p < 0.05$ )。糖基化燕麦蛋白更易于被胃蛋白酶及胰蛋白酶作用,这是由于含羟基糖的导入引起蛋白质分子的结构发生部分解析叠,使其更易被消化酶分解,被机体吸收利用,在一定程度上提高了燕麦蛋白的营养品质。4 种糖基化燕麦蛋白一步消化的体外消化性大小为 S-OP > C-OP > L-OP > G-OP,两步消化的大小为 S-OP > L-OP > G-OP > C-OP。

## 2.6 不同种类糖与燕麦蛋白糖基化产物的表面疏水性

燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物的表面疏水性如图 5 所示。

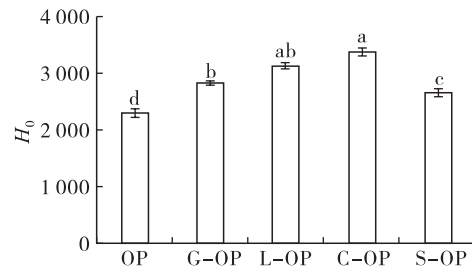


图 5 燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物的表面疏水性

由图 5 可以看出,与燕麦蛋白相比,4 种糖基化燕麦蛋白的表面疏水性都显著提高( $p < 0.05$ ),原因可能是燕麦蛋白在天然状态下,疏水基团大部分埋藏在蛋白质分子内部,分布在表面的疏水基团极少,随着糖基化反应的进行,燕麦蛋白部分结构受热展开,内部疏水基团暴露,处于内部位置的芳香族氨基酸分子的侧链逐渐暴露于水溶液中,ANS 探针与蛋白质的疏水基团特异性结合,导致表面疏水指数增加。4 种糖基化燕麦蛋白的表面疏水性大小为 C-OP > L-OP > G-OP > S-OP。糖基化产物表面疏水性高于原蛋白的变化趋势与王晨莹<sup>[20]</sup>和林伟静<sup>[21]</sup>的研究结果一致。

## 2.7 SDS-PAGE

SDS-PAGE 是判断蛋白中以共价键结合糖的重要手段,也可以验证不同种类糖对燕麦蛋白结构及组成产生的变化。对燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物分别进行考马斯亮蓝染色和 PAS 染色的 SDS-PAGE 图谱如图 6 所示。

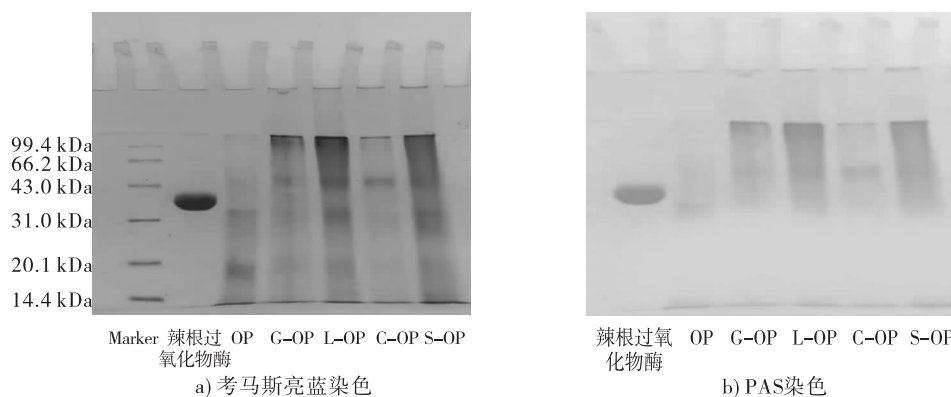


图 6 燕麦蛋白及其 4 种糖基化产物的 SDS-PAGE 图谱

由图 6a 可以看出,与燕麦蛋白相比,4 种糖基化产物蛋白质亚基谱带颜色变浅,这是因为燕麦蛋白与 4 种糖发生反应后,其活性基团减少,使燕麦蛋

白分子与考马斯亮蓝结合减少,导致糖基化后蛋白质亚基谱带颜色变浅。此外,4 种糖基化产物在分离胶上端区域出现明显加深的谱带,这是因为当 4

种糖与燕麦蛋白发生共价交联后,部分蛋白质亚基分子质量显著增加,无法通过凝胶而滞留于分离胶的顶端。由图6b可以看出,糖基化反应后,在高分子质量区域颜色变深,这说明有大分子物质在此处聚集,即燕麦蛋白与4种糖分子之间产生共价结合,生成了相对分子质量较大的物质。这与任孟珂等<sup>[22]</sup>的研究结果一致。试验结果证明了燕麦蛋白与4种糖发生了糖基化接枝反应。

## 2.8 荧光光谱

燕麦蛋白及其4种糖基化产物的荧光光谱如图7所示。

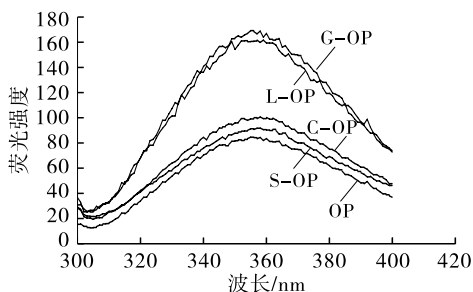


图7 燕麦蛋白及其4种糖基化产物的荧光光谱

由图7可以看出,糖基化产物的荧光强度增加,而最大荧光发射波长基本未发生变化( $\lambda_{\max} = 358$  nm),可能是糖基化反应使蛋白质分子变性展开,隐藏的非极性基团暴露出来,糖基化产物中色氨酸(Trp)残基周围微环境的极性减小,疏水性增加。由于糖基化反应疏水性(即亲油性)在一定程度上增强,可能有利于蛋白质分子被吸附于油水界面上,这与本试验2.6中糖基化产物表面疏水性增大,2.4中糖基化产物吸油性增加和2.3中糖基化产物乳化活性提高相一致。同时不同种类糖与蛋白质共价结合位点不同,对Trp残基周围微环境的影响不同而导致荧光强度不同。糖基化产物的最大荧光吸收强度显著高于燕麦蛋白,符合美拉德反应产物具有荧光特性的特点,这也说明糖基化产物具有荧光特性,燕麦蛋白与4种糖发生了糖基化反应。曹丽霞<sup>[23]</sup>和刘娟<sup>[24]</sup>均研究发现蛋白糖基化反应后最大荧光发射强度增加,与本研究结果一致。

## 2.9 傅里叶红外光谱(FTIR)

红外光谱是一种常用的分析蛋白质结构的方法,能够通过蛋白质在中红外区的若干特征吸收峰,灵敏地反映肽链结构的变化。燕麦蛋白及其4种糖基化产物的红外光谱图如图8所示。

由图8可以看出,在 $3\ 200 \sim 3\ 700\ \text{cm}^{-1}$ 范围内出现的吸收峰是由O—H伸缩振动引起的,与燕麦蛋白相比,糖基化产物在此波数范围内的峰宽均增大,这

可能是4种糖含有一定数量的羟基,引入燕麦蛋白后O—H伸缩振动增强<sup>[25]</sup>。在 $900 \sim 1\ 210\ \text{cm}^{-1}$ 范围内,4种糖基化产物吸收峰的强度和形状均变化明显,糖基化产物在该位置有很强的吸收,这可能是由于C—N和C—O的伸缩振动加强<sup>[26]</sup>。试验结果也进一步表明了燕麦蛋白与4种糖发生了糖基化反应。

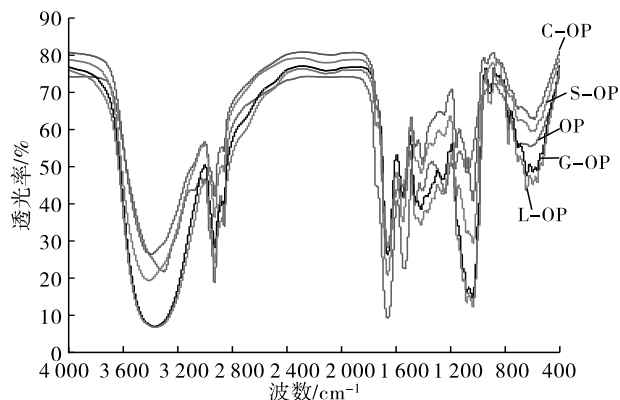


图8 燕麦蛋白及其4种糖基化产物的红外光谱图

## 3 结论

采用4种分子大小不同的糖对燕麦蛋白进行湿法糖基化改性,糖基化后燕麦蛋白的溶解性均有较大提高,其中L-OP的溶解度(pH 7)较未改性蛋白提高了64.23百分点。4种糖基化燕麦蛋白的EAI和ESI都显著提高( $p < 0.05$ ),其中C-OP的EAI和ESI较未改性蛋白分别增加了 $8.91\ \text{m}^2/\text{g}$ 和21.26百分点。4种糖基化燕麦蛋白的持水性、吸油性、体外消化性及表面疏水性均显著提高( $p < 0.05$ ),其中L-OP的持水性和吸油性分别提高了87.33%和69.02%。SDS-PAGE、荧光光谱、傅里叶红外光谱分析表明,糖链的引入使燕麦蛋白空间结构发生了变化,证明了燕麦蛋白分别与4种糖发生了共价结合,生成糖蛋白。葡萄糖、乳糖、壳寡糖和海藻酸钠4种糖与燕麦蛋白反应产物的性质有所不同,这可能与不同种类糖的结构、性质等有关。从改善燕麦蛋白的溶解性、乳化活性、持水性、吸油性等功能特性的角度看,L-OP、C-OP效果较好。

## 参考文献:

- [1] MOHAMED A, BIRESAW G, XU J Y, et al. Oats protein isolate: thermal, rheological, surface and functional properties[J]. Food Res Int, 2009, 42(1): 107-114.
- [2] 乔瑶瑶, 赵武奇, 胡新中, 等. 近红外光谱技术检测燕麦中蛋白质含量[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(8): 138-142.
- [3] MENGÍBAR M, MIRALLES B, HERAS Á. Use of soluble chitosans in Maillard reaction products with  $\beta$ -lactoglobulin. Emulsifying and antioxidant properties [J].



- LWT – Food Sci Technol, 2017, 75: 440 – 446.
- [4] MARTA C M, MORENO F J, VILLAMIEL M, et al. Effect of glycation and limited hydrolysis on interfacial and foaming properties of bovine  $\beta$  – lactoglobulin [J]. Food Hydrocolloid, 2016, 66: 16 – 26.
- [5] 曲悦, 王晓杰, 刘晓兰, 等. *D* – 氨基半乳糖修饰对玉米醇溶蛋白结构性质及生物活性的影响[J]. 中国油脂, 2019, 44(7): 75 – 80.
- [6] 杜沁岭, 周思懿, 吴岱泽, 等. 湿法糖基化处理大豆 11S 蛋白后的表面活性变化[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(1): 80 – 88.
- [7] 张蓓. 燕麦蛋白质糖基化改性及乳化性研究[J]. 江苏无锡: 江南大学, 2015.
- [8] ZHU D, DANODARAN S, LUCEY J A. Physicochemical and emulsifying properties of whey protein isolate (WPI) – dextran conjugates produced in aqueous solution [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58: 2988 – 2994.
- [9] YU J J, JI H, CHEN Y, et al. Analysis of the glycosylation products of peanut protein and lactose by cold plasma treatment: solubility and structural characteristics [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 158: 1194 – 1203.
- [10] 陈丽丽, 白春清, 袁美兰, 等. 草鱼多肽功能性质及营养价值[J]. 食品科学技术学报, 2016, 34(5): 33 – 42.
- [11] 张慧莹, 任健. 酶解改性对葵花分离蛋白功能性质的影响[J]. 食品工业, 2014(9): 187 – 191.
- [12] 王晓杰, 曲悦. 酶法糖基化修饰对玉米醇溶蛋白物化性质的影响[J]. 食品科技, 2018, 43(8): 270 – 276.
- [13] SHIMADA K, CHEFTEL J C. Determination of sulfhydryl groups and disulfide bonds in heat – induced gels of soy protein isolate [J]. J Agric Food Chem, 1988, 36(1): 147 – 153.
- [14] 余瑞元, 袁明秀, 陈丽蓉, 等. 生物化学实验原理和方法 [M]. 北京: 北京大学出版社, 2005.
- [15] 李丹, 魏冬旭, 贾焯, 等. 大豆 7S 球蛋白结构特性与表面疏水性相关性研究[J]. 中国油脂, 2017, 42(4): 93 – 98.
- [16] 夏秀芳, 洪岩, 郑环宇, 等. 湿法糖基化改性对大豆分离蛋白溶解性和乳化能力的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(7): 167 – 172.
- [17] CHEVALIER F, CHOBERT J M, POPINEAU Y, et al. Improvement of functional properties of  $\beta$  – lactoglobulin glycosylated through the Maillard reaction is related to the nature of the sugar [J]. Int Dairy J, 2001, 11(3): 145 – 152.
- [18] SEO S, KARBOUNE S, L'HOCINE L, et al. Characterization of glycosylated lysozyme with galactose, galactooligosaccharides and galactan: effect of glycation on structural and functional properties of conjugates [J]. LWT – Food Sci Technol, 2013, 53(1): 44 – 53.
- [19] 迟涛, 王玉堂, 王剑飞. 糖基化修饰对乳清蛋白界面性质的影响[J]. 中国乳品工业, 2018, 46(12): 16 – 19.
- [20] 王晨莹. 糖基化蛋清蛋白的制备、性质及其在纳米颗粒中的应用[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2019.
- [21] 林伟静. 糖基化改性对花生蛋白膜性能的影响及其作用机理研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [22] 任孟珂, 布冠好, 左颖昕. 葡聚糖接枝对大豆蛋白功能特性及结构的影响[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(6): 6 – 12.
- [23] 曹丽霞. 荞麦分离蛋白 – 葡聚糖共价复合物的制备及乳化性研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2014.
- [24] 刘娟. 酪蛋白 – 葡聚糖接枝改性研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2008.
- [25] SHI Y, LI R Y, TU Z C, et al. Effect of  $\gamma$  – irradiation on the physicochemical properties and structure of fish myofibrillar proteins [J]. Radiat Phys Chem, 2015, 109(10): 70 – 72.
- [26] 刘兴丽, 杨龙松, 张艳艳, 等. 多糖对马铃薯蛋白糖基化产物乳化特性及结构的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(12): 208 – 214.

· 公益广告 ·



# 节能减排，提质增效！

《中国油脂》宣