

糖基化修饰对油茶油脂体界面结构及稳定性的影响

牛屹菲¹, 蒋方程^{1,2}, 李 钰¹, 郭 城¹, 刘玉彪³, 金伟平¹

(1. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 武汉 430023; 2. 罗格斯新泽西州立大学, 美国 新泽西州 08901; 3. 武汉中粮科技食品有限公司, 武汉 430415)

摘要: 油脂体是植物种子储油细胞器, 由单层磷脂与界面蛋白共同稳定。为增加油脂体的 pH 稳定性, 选用葡萄糖和乳糖为羰基供体, 通过糖基化修饰油茶油脂体的界面结构。通过粒径及 Zeta - 电位的变化综合评估油脂体物理稳定性, 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳考察油脂体膜蛋白分子质量变化, 采用 Thermo Scientific Pierce BCA 试剂盒分析油脂体膜蛋白溶解度的变化, 并利用拉曼共聚焦显微镜观察油脂体界面结构的变化。结果表明: 糖基化反应增大了油茶油脂体粒径, 但粒径分布更均匀, 而 Zeta - 电位未发生显著变化 ($p > 0.05$); 葡萄糖和乳糖与油脂体质量比分别为 2:1 和 5:1 时糖基化油脂体膜蛋白溶解度最高, 分别比对照组 (未糖基化油脂体) 提升了 26.8 倍和 16.1 倍。糖基化后油脂体膜蛋白分子质量小幅增大; 拉曼光谱分析表明糖与油脂体膜蛋白成功接枝。综上, 糖基化有利于提高油茶油脂体稳定性。

关键词: 油茶油脂体; 糖基化; 界面结构; 油脂体膜蛋白; 稳定性

中图分类号: TS225.1; TS201.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2024)07-0040-07

Effect of glycosylation on interfacial structure and stabilities of oil body extracted from *Camellia oleifera* seed

NIU Yifei¹, JIANG Fangcheng^{1,2}, LI Yu¹, GUO Cheng¹,
LIU Yubiao³, JIN Weiping¹

(1. School of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. Rutgers University, New Jersey 08901, United States of America;

3. Wuhan COFCO Food Technology Co., Ltd., Wuhan 430415, China)

Abstract: Oil body is the oil storage organelle in oilseeds, which is stabilized by a monolayer of phospholipids and membrane proteins. In order to increase the pH stability of oil body, glucose and lactose were used as carbonyl donors to modify the interfacial structure of oil bodies (OBs) extracted from *Camellia oleifera* seed via glycosylation. The physical stabilities of OBs were evaluated via particle size and Zeta - potential. The molecular weight and solubility of OBs membrane protein were investigated by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis and Thermo Scientific Pierce BCA kit, respectively. The interfacial structure of OBs was observed by Raman - confocal microscope. The results showed that the glycosylation reaction increased the particle size of *Camellia oleifera* OBs, but the particle size became more uniform, and the Zeta - potential did not change significantly ($p > 0.05$). Under the conditions of mass ratio of glucose to OBs 2:1, and mass ratio of lactose to OBs 5:1, the glycosylated OBs

membrane protein exhibited the highest solubility, with increase of 26.8 times and 16.1 times compared with the control (unglycosylation), respectively. The molecular weight of OBs membrane protein increased slightly after glycosylation. Raman spectra analysis showed that the glucose and lactose were successfully grafted on membrane proteins of OBs. In conclusion,

收稿日期: 2023-04-13; 修回日期: 2024-03-03

基金项目: 国家自然科学基金项目“带电多糖对油体蛋白有机溶剂诱导下疏水聚集的(保护-去保护)机制研究”(批准号 32072152)

作者简介: 牛屹菲 (1998), 女, 硕士研究生, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程 (E-mail) ny9806@163.com。

通信作者: 金伟平, 教授, 博士 (E-mail) jwpacademic@outlook.com。

glycosylation is beneficial for improving the stability of OBs.

Key words: *Camellia oleifera* oil body; glycosylation; interfacial structure; oil body membrane protein; stability

油茶籽是油茶的主要产油部分,其含有 25% ~ 35% 的油脂,并且油中的不饱和脂肪酸含量很高^[1]。油脂体(OBs)是植物种子中重要的储油细胞器,其结构类似于水包油型乳液。油脂体内核为三酰甘油酯,稳定内核的天然界面膜由单层磷脂和界面蛋白组成^[2]。这些界面蛋白被统称为油脂体膜蛋白,主要包括油体蛋白、油体钙蛋白和油体固醇蛋白。油脂体中不到 2% 的界面蛋白稳定了 70% 以上的油脂,这主要归功于界面蛋白独特的结构^[3]。以油体蛋白为例,其分子由两亲性 N - 末端、中心疏水区和两亲性 C - 末端组成,中心疏水区嵌入油相,两端的两亲性区域横跨在油水界面处,降低油水界面张力^[4],从而稳定油脂。油脂体作为一种天然乳液可直接添加于食品体系中^[5],其稳定性是应用开发的先决条件,而其稳定性受多种因素的影响,其中应用环境的 pH 对其稳定性有显著影响。Iwanaga 等^[6]研究发现,大豆油脂体的等电点在 pH 4.0 左右,在 pH 远离等电点(pH 2.0 和 pH 8.0)时油脂体粒径较小,为 0.3 μm ; pH 为 4.0 时粒径变大,大多数油脂体粒径超过 10 μm ,发生了失稳现象,这与界面蛋白在等电点表面电荷减少、蛋白质易聚集等性质有关。对油脂体界面蛋白进行改性可提升油脂体的稳定性,扩大油脂体的应用范围。

糖基化是一种基于美拉德反应的化学改性方法。美拉德反应是食品制造中一种自发的非酶褐变反应,其反应初期为羰基化合物(还原糖)和氨基化合物(氨基酸及蛋白质)之间的缩合反应^[7],反应中期和反应末期易生成类黑精,危害人体健康。通过优化糖基化反应条件将美拉德反应控制在反应初期,可避免有害物质生成并同时改善蛋白质功能性质。张蓓^[8]制备了燕麦分离蛋白-葡聚糖共聚物,其稳定的乳液具有更小的液滴粒径和更好的储藏稳定性,且在不同 pH 条件下共聚物稳定的乳液均具有最小的粒径。雷苗^[9]制备了乳清分离蛋白-乳糖共聚物,在 pH 5.0 时,乳清分离蛋白稳定的乳液粒径大于 500 nm,而共聚物稳定的乳液粒径较小(360 nm)且具有较小的分散系数,表明乳清分离蛋白-乳糖共聚物稳定的乳液具有更好的稳定性。综上,糖基化在改善蛋白质界面性质方面具有较大优势。油脂体表面的界面蛋白具有两亲性,若能改善

其界面性质,可广泛应用于食品添加,目前还未有研究者将糖基化改性技术应用于界面蛋白质性质的改善,且关于油茶油脂体的研究也较少。

本文以油茶油脂体为主要原料,以葡萄糖和乳糖为羰基供体,与油脂体膜蛋白 C - 端和 N - 端的氨基酸在油水界面处发生糖基化反应,通过对油茶油脂体界面修饰,以增强油茶油脂体物理稳定性。采用粒径、Zeta - 电位、聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS - PAGE)对油茶油脂体的物理稳定性和膜蛋白分子质量进行评估,并通过拉曼共聚焦显微镜检测界面结构的变化,以期为实现一种温和、环保的界面蛋白修饰方法提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

油茶籽,浙江衢州油茶种子供应商;葡萄糖、乳糖、尿素、蔗糖、碳酸钠、氢氧化钠、氯化钠、丙酮、石油醚、氯仿和甲醇,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

TGL 16 高速离心机,长沙英泰仪器有限公司;Spectra MAX 酶标仪,美国 Molecular Devices 公司;Mini - Protean 垂直电泳仪、ChemiDoc MP 化学发光凝胶成像系统,美国 Bio - Rad 公司;ZEN3600 马尔文激光粒度仪、Zetasizer Nano ZS 动态光散射仪,英国马尔文仪器有限公司;DXR 2xi 拉曼共聚焦显微镜,英国 Renishaw 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 糖基化油茶油脂体的制备

油茶油脂体的制备:油茶油脂体的提取和纯化参考 Chen 等^[10]的方法进行,即称取一定量油茶籽放入匀浆机,按料液比 1:9 的比例加入超纯水匀浆,80 μm (200 目)纱布过滤,向滤液中加入 2.5% 蔗糖并调节 pH 为 11,室温搅拌 30 min,以 6 000 r/min 离心 30 min,取上层膏状体。按照料液比 1:5 的比例依次加入 8 mol/L 尿素溶液和 0.01 mol/L Na_2CO_3 溶液重复洗涤 2 次,每次洗涤后以 10 000 r/min 离心 10 min 进行分离,最后得到高纯度的油茶油脂体(对照组)。

糖基化油茶油脂体的制备:将高纯度的油茶油脂体稀释至质量浓度为 0.2 g/mL,将葡萄糖或乳糖溶液(0.2 g/mL)分别与油脂体悬浮液按照质量比

5:1、2:1、1:1、1:2、1:5 的比例混合,调节 pH 为 11。将共混体系密封置于 90 °C 油浴条件下反应 60 min,反应期间以 300 r/min 的速度搅拌,以保持宏观均一。反应结束后,立即取出样品在冰浴中冷却,以 10 000 r/min 离心 10 min,分离上层得到糖基化油脂体。

1.2.2 油茶油脂体粒径及 Zeta - 电位的测定

采用马尔文激光粒度仪测定糖基化前后油脂体的粒度分布,测定条件:油相和水相的反射指数分别为 1.47(吸光度为 0.001)和 1.33。油脂体的粒径用体积加权平均直径($d_{4,3}$)来表示。将油脂体稀释 200 倍后用动态光散射仪(自动模式)测定其 Zeta - 电位。

1.2.3 油茶油脂体膜蛋白 SDS - PAGE 分析

取 40 μL 糖基化前后的油脂体悬浮液,加入 10 μL SDS - PAGE 蛋白制样专用上样缓冲液,沸水中加热 10 min 使蛋白质变性,以 3 000 r/min 离心 60 s,将下层样品进行 SDS - PAGE 分析。SDS - PAGE 分析条件:恒流模式;上样量 5 ~ 10 μL ;浓缩胶(5%)阶段电压设置为 60 V,运行 30 min;进入分离胶(15%)后电压保持 60 V,运行 90 min。取出凝胶后,倒入适量的考马斯亮蓝 G250 染色液染色 30 min,然后脱色,直至凝胶背景清晰。最后,用凝胶成像仪拍照并分析。

1.2.4 油茶油脂体膜蛋白溶解度的测定

参考 Jin 等^[11]的方法提取油茶油脂体膜蛋白。在油脂体中依次加入冷丙酮、石油醚,涡旋后离心,去除冷丙酮、石油醚,再加入氯仿 - 甲醇(体积比 2:1)溶液,涡旋后离心,将沉淀置于通风橱中自然干燥,得到油茶油脂体膜蛋白,室温保存。

称取一定量的油茶油脂体膜蛋白,加入 10 mmol/L pH 7.0 磷酸盐缓冲溶液(PBS),使其充分溶解。再根据 Thermo Scientific Pierce BCA 试剂盒操作规范,采用酶标仪测定其在 562 nm 处的吸光度,再根据以牛血清白蛋白为标准品绘制的标准曲线方程[$y = 0.833 3x + 0.210 4 (R^2 = 0.99)$,其中 x 为牛血清白蛋白质量浓度, y 为吸光度]计算油脂体膜蛋白溶解度。

1.2.5 pH 对油茶油脂体粒径、Zeta - 电位、界面结构的影响

使用超纯水稀释油脂体 20 倍,用 0.1 mol/L HCl 溶液或 0.1 mol/L NaOH 溶液分别调节 pH 至 2.0、4.0、6.0 和 8.0。参考 1.2.2 方法测定样品的粒径和 Zeta - 电位。参考 Chen 等^[10]的方法采用拉曼共聚焦显微镜测定样品的微观结构和界面结构。观察物镜选用 50 倍长焦距镜头,选定特定油水界面

处,采用 785 nm 波长激光,在 600 ~ 3 000 cm^{-1} 范围采集拉曼光谱,数据采集时间为 10 s。

1.2.6 数据处理

所有实验均平行测定 3 次,结果以“平均值 \pm 标准偏差”表示。采用 Origin 2019 作图,实验结果通过 SPSS 18 软件进行单因素方差分析,显著性水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 糖基化对油茶油脂体褐变程度、粒径及 Zeta - 电位的影响

褐变是糖基化反应程度的重要评价指标之一。在糖基化反应过程中,通过观察反应体系颜色的深浅,可以判断糖基化的反应程度^[12]。糖基化对油茶油脂体褐变程度的影响如图 1 所示。

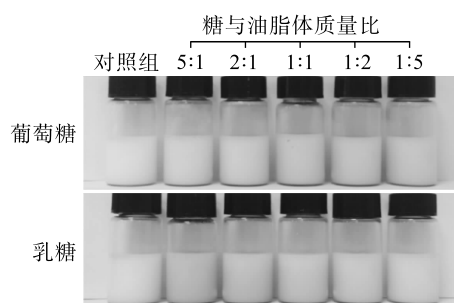


图 1 糖基化前后油茶油脂体的褐变程度变化

由图 1 可知,糖基化反应后所有样品均发生明显褐变,随着加糖量的增加,褐变程度逐渐增大,原因可能是拥挤的大分子环境可以有效增加蛋白质与还原糖的接触率,促进糖基化反应^[13]。在糖与油脂体质量比相同的条件下,乳糖组样品的褐变程度强于葡萄糖组,说明乳糖与油脂体膜蛋白反应更加剧烈,能较快进入美拉德反应高级阶段形成褐变物质,这与赵艳娜^[14]发现的相较于葡萄糖,乳糖具有较高的反应活性和张蓓^[8]发现的在相同反应条件下乳糖与燕麦分离蛋白反应体系的褐变程度大于葡萄糖与葡聚糖的实验结果一致。

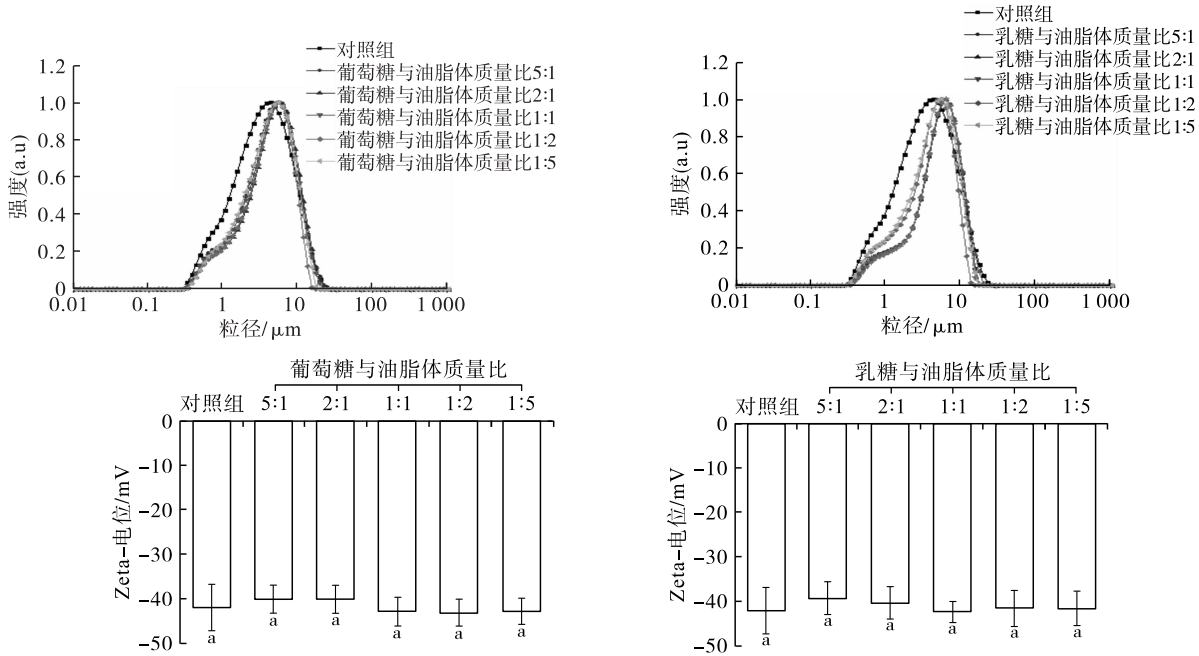
糖基化对油茶油脂体粒径及 Zeta - 电位的影响如图 2 所示。

由图 2 可知:对照组的粒径为 $(4.29 \pm 0.16) \mu\text{m}$,且粒径分布较宽;油茶油脂体与葡萄糖或乳糖发生不同程度的糖基化反应后,粒径分别增大至 $(5.37 \pm 0.62) \mu\text{m}$ 和 $(5.12 \pm 0.60) \mu\text{m}$,但无显著差异($p > 0.05$),糖基化后油茶油脂体粒径分布变窄,说明粒径分布更加均一。葡萄糖和乳糖对油茶油脂体粒径的影响具有一定的差异,可能与糖的分子质量和羟基基团数量不同等有关^[15]。由图 2 还可知,糖基化前后油茶油脂体的 Zeta - 电位未发生明显变

化($p > 0.05$),可能是由于葡萄糖和乳糖呈电中性,没有引入过多带电荷基团所致。糖基化前后油茶油脂体 Zeta - 电位的绝对值均大于 30 mV,因此油脂体均保持稳定分散状态^[16]。

乳液稳定性的评价指标有颗粒粒径、粒径分布

以及表面所带电荷等^[17],其中油脂体粒径变小,粒径分布较为均一,以及表面所带电荷绝对值变大均可认为油脂体稳定性提升。综合评定,糖基化修饰可提升油茶油脂体的稳定性。



注:不同小写字母表示具有显著差异($p < 0.05$)。下同

图2 糖基化前后油茶油脂体的粒径及 Zeta - 电位变化

2.2 糖基化对油茶油脂体膜蛋白分子质量的影响

糖基化对油茶油脂体膜蛋白分子质量的影响如图3所示。

由图3可知,对照组油脂体膜蛋白主要由两种蛋白质组成,分别为油体蛋白,分子质量约为14 kDa,以及油体钙蛋白,分子质量约为26 kDa和30 kDa,这与Jin^[11]、Feng^[18]等的来源于油茶种子的油脂体界面蛋白主要由油体蛋白(13.8 ~ 16.9 kDa)和油体钙

蛋白(27 kDa)组成的研究结果相似。糖基化后,油体蛋白和油体钙蛋白的分子质量均小幅增大,原因是葡萄糖和乳糖接枝到蛋白质上,导致平均分子质量增加;然而糖基化后蛋白质条带变得模糊,推测原因为大量糖接枝导致蛋白质质量占比出现一定程度的下降。这与Zhang等^[19]发现的乳清分离蛋白-乳糖共聚物的分子质量从15 kDa和30 kDa增加至19 kDa和40 kDa,且条带变得模糊的现象一致。

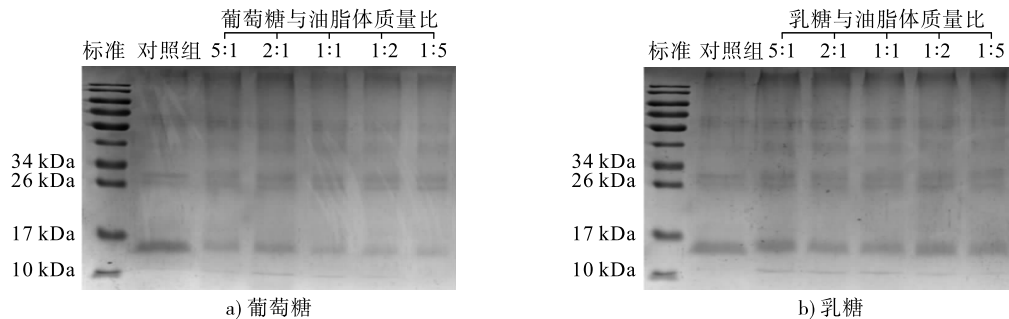


图3 糖基化前后油茶油脂体膜蛋白分子质量的变化

2.3 糖基化对油茶油脂体膜蛋白溶解度的影响

糖基化对油茶油脂体膜蛋白溶解度的影响如图4所示。

由图4可知,糖基化后,油茶油脂体膜蛋白溶解度均发生不同程度的提升,原因是糖基化反应中生

成的共聚物引入了亲水性羟基,增强了蛋白质与水分子之间的相互作用^[20],进而增加了油脂体膜蛋白的溶解度。随着葡萄糖添加量的增加,其糖基化油茶油脂体膜蛋白溶解度呈先增大后减小的趋势,在葡萄糖与油脂体质量比为2:1时达到最大值,为

(536 ± 17) $\mu\text{g/mL}$, 与对照组相比提升了 26.8 倍。随着乳糖添加量的增加,其糖基化油茶油脂体膜蛋白溶解度呈逐渐增大的趋势,在乳糖与油脂体质量比为 5:1 时达到最大值,为(322 ± 9) $\mu\text{g/mL}$,与对照组相比提升了 16.1 倍。综上,葡萄糖具有更好的油

脂体膜蛋白水溶性改性效果,对油茶油脂体膜蛋白溶解度改善效果较明显。因此,选取葡萄糖与油脂体质量比 2:1 以及乳糖与油脂体质量比 5:1 作为最优加糖量进行后续实验。

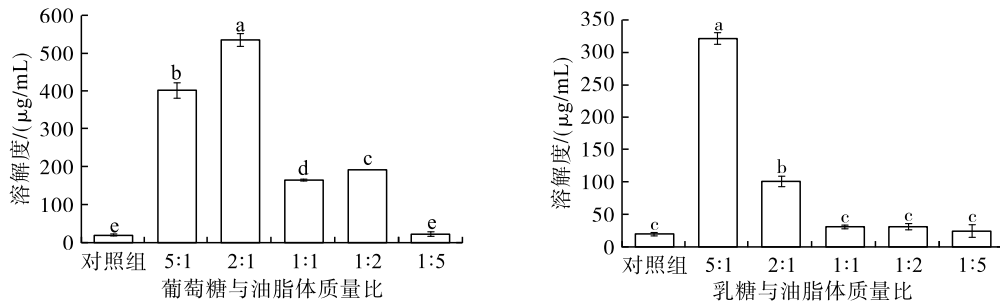


图 4 糖基化前后油茶油脂体膜蛋白溶解度的变化

2.4 不同 pH 下糖基化前后油茶油脂体的粒径及 Zeta - 电位

优选糖与油脂体质量比分别为 2:1 的葡萄糖糖基化油脂体(简称“葡萄糖组”)和 5:1 的乳糖糖基

化油脂体(简称“乳糖组”),进一步分析糖基化前后油茶油脂体在不同 pH(2.0、4.0、6.0、8.0)下的稳定性,结果如表 1 所示。

表 1 不同 pH 下糖基化前后油茶油脂体的粒径($d_{4,3}$)和 Zeta - 电位

pH	对照组		葡萄糖组		乳糖组	
	$d_{4,3}/\mu\text{m}$	Zeta - 电位/mV	$d_{4,3}/\mu\text{m}$	Zeta - 电位/mV	$d_{4,3}/\mu\text{m}$	Zeta - 电位/mV
2.0	6.5 ± 0.3^g	44.6 ± 1.2^d	14.4 ± 0.6^d	30.8 ± 1.0^f	12.5 ± 0.5^e	26.4 ± 1.6^g
4.0	38.5 ± 0.5^a	31.4 ± 0.6^f	37.7 ± 1.4^b	17.7 ± 1.0^h	28.8 ± 0.1^e	19.4 ± 0.7^h
6.0	4.7 ± 0.0^{hi}	-48.9 ± 1.3^c	5.8 ± 0.0^{gh}	-40.2 ± 1.0^e	9.7 ± 0.8^f	-53.7 ± 0.8^b
8.0	4.2 ± 0.0^i	-67.5 ± 0.4^a	5.5 ± 0.0^{gh}	-49.9 ± 1.6^c	9.5 ± 0.1^f	-49.8 ± 1.0^c

注:同一个指标不同字母表示具有显著差异($p < 0.05$);Zeta - 电位以绝对值分析显著性

由表 1 可知,对照组、葡萄糖组和乳糖组油脂体的粒径($d_{4,3}$)均随 pH 的降低而先增大后减小,在 pH 4.0 时达到最大值,原因是 pH 4.0 接近油茶油脂体膜蛋白的等电点,油脂体通过静电引力发生聚集现象,导致粒径变大。在 pH 为 2.0、6.0 和 8.0 的条件下,糖基化油茶油脂体的粒径均大于对照组的,而在 pH 为 4.0 时,糖基化油茶油脂体的粒径小于对照组的,其中葡萄糖组为(37.7 ± 1.4) μm ,乳糖组为(28.8 ± 0.1) μm 。由于乳液粒径大小是评价乳液稳定性的重要依据,而粒径较小的颗粒形成的乳液具有更好的稳定性^[21],因此糖基化有利于提高油茶油脂体在 pH 4.0 处的稳定性。原因是糖的接枝延长了油脂体膜蛋白的两亲性区域,增大了油脂体之间的排斥力,且 pH 4.0 接近等电点,此时油脂体膜蛋白溶解度最低,处于最疏水状态,从而使糖基化油脂体粒径在 pH 4.0 时减小^[22]。

由表 1 还可知,3 组油脂体在 pH 6.0 和 8.0 时均带负电荷,且绝对值均大于 40 mV。由此可见,糖基化未明显改变油茶油脂体的电荷性质,但 pH 6.0

和 8.0 时强大的静电排斥作用可使油脂体保持均匀分散的状态,增强了体系稳定性;与对照组相比,糖基化油茶油脂体在 pH 4.0 时的 Zeta - 电位减小。

由于油茶油脂体粒径在 pH 6.0 和 pH 8.0 的条件下没有显著差异,因此使用拉曼共聚焦显微镜观察油茶油脂体在 pH 2.0、4.0 和 6.0 时界面结构变化。

2.5 不同 pH 下糖基化前后油茶油脂体的界面结构

共聚焦拉曼光谱是将激光聚焦在显微镜观察到的样品局部结构上形成一个小光斑,以获得该微观结构部分物质的拉曼散射光谱信息^[23]的一种可用于原位分析油水界面蛋白结构的新技术。采用拉曼共聚焦显微镜观察油茶油脂体的微观结构,并探究糖基化前后油茶油脂体膜蛋白化学键的变化。以糖与油脂体质量比分别为 2:1 的葡萄糖糖基化油脂体(葡萄糖组)和 5:1 的乳糖糖基化油脂体(乳糖组)进一步分析糖基化前后油茶油脂体在不同 pH(2.0、4.0、6.0)下微观结构的变化,结果如图 5 所示。

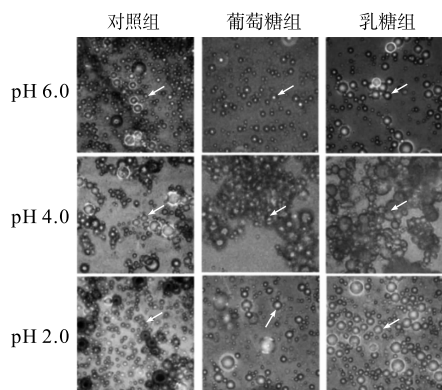


图5 不同pH下糖基化前后油茶油脂体微观结构的变化

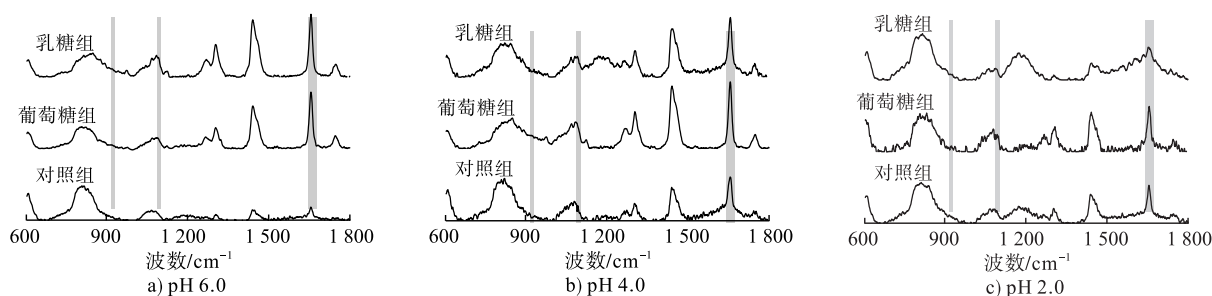


图6 不同pH下糖基化前后油茶油脂体液滴油水界面局部的拉曼光谱扫描图谱

由图6可知,油茶油脂体膜蛋白的特征峰包括酰胺I带($1\ 600 \sim 1\ 700\ \text{cm}^{-1}$)、酰胺II带($1\ 480 \sim 1\ 580\ \text{cm}^{-1}$)和酰胺III带($1\ 230 \sim 1\ 300\ \text{cm}^{-1}$)^[24]。葡萄糖特征峰在 $800 \sim 1\ 300\ \text{cm}^{-1}$ 之间^[25],乳糖的特征峰在 $800 \sim 1\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 之间^[23]。 $920\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰归因于葡萄糖中C—O—C的振动^[25], $1\ 085\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰归因于乳糖中C—O—C的伸缩振动^[23]。在不同pH条件下,葡萄糖组在 $920\ \text{cm}^{-1}$ 处出现新的峰,乳糖组在 $1\ 085\ \text{cm}^{-1}$ 处出现新的峰,分别为葡萄糖和乳糖的特征峰,表明在界面处进行了糖基化接枝。

3 结论

以葡萄糖和乳糖与油茶油脂体界面上的油脂体膜蛋白发生糖基化反应,探究了糖基化反应对油茶油脂体界面结构的影响。结果显示:糖基化反应增大了油茶油脂体的粒径,但粒径分布更加均一,Zeta-电位未发生显著变化($p > 0.05$)。糖基化改性后,油茶油脂体膜蛋白分子质量小幅增大。糖与油脂体质量比分别为2:1和5:1时,糖基化油脂体膜蛋白溶解度提升了26.8倍(葡萄糖)和16.1倍(乳糖),葡萄糖具有更好的油茶油脂体膜蛋白水溶性改善效果。糖基化使油茶油脂体在接近等电点(pH 4.0)处的粒径显著减小($p < 0.05$),提升了油茶油脂体的稳定性。综上,糖基化有利于提升油茶油脂体的稳定性,为绿色、高效、原位糖基化修饰界面蛋白提供了理论依据,但油茶油脂体膜蛋白在油水和气液

由图5可知,当pH从2.0升高到4.0再升高到6.0时,3组油茶油脂体液滴分布依次呈现分散均匀、聚集、再次分散均匀的变化趋势。pH 6.0时糖基化前后油茶油脂体均具有最小的粒径,与其2.4中的粒径测定结果相吻合;在pH 4.0时,油茶油脂体发生聚集并失稳,形成不规则的大油滴,而糖基化油茶油脂体则出现了大团的聚集状,该现象佐证了糖基化改性可提升油茶油脂体稳定性。

为进一步研究粒径变化背后界面结构的差异,从显微图片中采集特定部位的拉曼光谱图进行界面键合分析,结果如图6所示。

等界面处的分布行为还需进一步深入系统研究。

参考文献:

- [1] 李雪,谭运寿,马贵刚,等.山茶籽油研究应用进展[J].中国粮油学报,2017,32(11):191-196.
- [2] 武艺.油茶种子油体及油体蛋白加工稳定性的研究[D].武汉:武汉轻工大学,2020.
- [3] ZAABOUL F, RAZA H, CHEN C, et al. Characterization of peanut oil bodies integral proteins, lipids, and their associated phytochemicals[J].J Food Sci, 2018, 83(1): 93-100.
- [4] JIANG P L, TZEN J T C. Caleosin serves as the major structural protein as efficient as oleosin on the surface of seed oil bodies[J]. Plant Signal Behav, 2010, 5(4): 447-449.
- [5] 徐泽健.花生油体制备及其稳定性研究[D].郑州:河南工业大学,2017.
- [6] IWANAGA D, GRAY D A, FISK I D, et al. Extraction and characterization of oil bodies from soy beans: A natural source of pre-emulsified soybean oil[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(21): 8711-8716.
- [7] NAIK R R, WANG Y, SELOMULYA C. Improvements of plant protein functionalities by Maillard conjugation and Maillard reaction products[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022, 62(25): 7036-7061.
- [8] 张蓓.燕麦蛋白质糖基化改性及乳化性研究[D].江苏无锡:江南大学,2015.
- [9] 雷苗.糖基化修饰调控乳清分离蛋白界面性质及应用于递送蔓荆子黄素的研究[D].武汉:武汉轻工大学,2015.
- [10] CHEN C, PAN Y, NIU Y, et al. Modulating interfacial

- structure and lipid digestion of natural camellia oil body by roasting and boiling processes [J/OL]. *Food Chem*, 2023, 402: 134198[2023-04-13]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134198>.
- [11] JIN W, PAN Y, WU Y, et al. Structural and interfacial characterization of oil bodies extracted from *Camellia oleifera* under the neutral and alkaline condition[J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2021, 141: 110911[2023-04-13]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110911>.
- [12] ZHUO X Y, QI J R, YIN S W, et al. Formation of soy protein isolate - dextran conjugates by moderate Maillard reaction in macromolecular crowding conditions[J]. *J Sci Food Agric*, 2013, 93(2): 316 - 323.
- [13] CHENG Y H, MU D C, FENG Y Y, et al. Glycosylation of rice protein with dextran via the Maillard reaction in a macromolecular crowding condition to improve solubility [J/OL]. *J Cereal Sci*, 2022, 103: 103374[2023-04-13]. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103374>.
- [14] 赵艳娜. 乳清蛋白糖基化反应特性与抗氧化活性的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2012.
- [15] BUSTOS A S, HÅKANSSON A, LINARES - PASTÉN J A, et al. Interaction between phenolic compounds and lipase: The influence of solubility and presence of particles in the IC(50) value[J]. *J Food Sci*, 2018, 83(8): 2071 - 2076.
- [16] CALABRESE V, DA SILVA M A, SCHMITT J, et al. Charge - driven interfacial gelation of cellulose nanofibrils across the water/oil interface[J]. *Soft Matter*, 2020, 16(2): 357 - 365.
- [17] 朱仁威, 武奕彤, 胡深德, 等. 八月瓜籽油纳米乳液制备及其稳定性评价[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(4): 130 - 137.
- [18] FENG J L, YANG Z J, BAI W W, et al. Transcriptome comparative analysis of two *Camellia* species reveals lipid metabolism during mature seed natural drying[J]. *Trees*, 2017, 31(6): 1827 - 1848.
- [19] ZHANG B, LEI M, HUANG W, et al. Improved storage properties and cellular uptake of casticin - loaded nanoemulsions stabilized by whey protein - lactose conjugate[J/OL]. *Foods*, 2021, 10(7): 1640[2023-04-13]. <https://doi.org/10.3390/foods10071640>.
- [20] JIMÉNEZ - CASTAÑO L, VILLAMIEL M, LÓPEZ - FANDIÑO R. Glycosylation of individual whey proteins by Maillard reaction using dextran of different molecular mass [J]. *Food Hydrocolloid*, 2007, 21(3): 433 - 443.
- [21] 赵钜阳, 姚恒喆, 石长波. 多酚与蛋白质相互作用及其对蛋白质影响[J]. *食品与生物技术学报*, 2020, 39(12): 14 - 20.
- [22] LI D, ZHAO Y, WANG X, et al. Effects of (+) - catechin on a rice bran protein oil - in - water emulsion: Droplet size, Zeta - potential, emulsifying properties, and rheological behavior[J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 98: 105306[2023-04-13]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105306>.
- [23] 李梅梅. 基于拉曼光谱生物样品中乳糖的检测及其应用[D]. 上海:上海师范大学, 2015.
- [24] RYGULA A, MAJZNER K, MARZEC K M, et al. Raman spectroscopy of proteins: A review [J/OL]. *J Raman Spectrosc*, 2013, 44(8): 4335[2023-04-13]. <https://doi.org/10.1002/jrs.4335>.
- [25] 吴小琼, 郑建珍, 刘文涵, 等. 激光拉曼光谱内标法测定葡萄糖液浓度[J]. *光谱学与光谱分析*, 2007, 27(7): 1344 - 1346.
-
- (上接第 28 页)
- [8] WEI C, XI W, NIE X, et al. Aroma characterization of flaxseed oils using headspace solid - phase microextraction and gas chromatography - olfactometry[J]. *Eur J Lipid Sci Tech*, 2013, 115(9): 1032 - 1042.
- [9] 黄宇杏, 方炜聪, 徐纯伟, 等. GC - MS - O 结合 OAV 鉴定花生油特征香气成分[J]. *现代食品科技*, 2023, 39(4): 278 - 288.
- [10] 陈璐, 刘玉兰, 朱文学, 等. 烘烤温度对浓香油莎豆油风味及综合品质的影响[J]. *中国油脂*, 2022, 47(10): 1 - 7.
- [11] 杨蕾, 赵获, 胡渊渊, 等. 不同加工方式香榧香气物质和油脂品质的比较分析[J]. *浙江农林大学学报*, 2022, 39(1): 22 - 31.
- [12] YU W, ZHONG H, FANG X, et al. Physicochemical properties and antioxidant potential of protein isolate from *Camellia* cake (*Camellia oleifera* Abel.): Effect of different processing techniques on industrial scale [J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2023, 184: 114993[2023-11-14]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114993>.
- [13] QIU S, WANG J. The prediction of food additives in the fruit juice based on electronic nose with chemometrics [J]. *Food Chem*, 2017, 230: 208 - 214.
- [14] HU Y, ZHANG Z, HUA B, et al. The interaction of temperature and relative humidity affects the main aromatic components in postharvest *Torreya grandis* nuts [J/OL]. *Food Chem*, 2022, 368: 130836 [2023-11-14]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130836>.
- [15] 王艳娜, 孟学成, 赵获, 等. 四个香榧品种种仁炒制加工后香气物质分析[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2022, 46(3): 169 - 176.
- [16] 王贺, 赵玉红, 杨凯. HS - SPME - GC - MS 结合电子鼻对 10 个品系红松籽油挥发性物质分析比较[J]. *食品科学*, 2021, 42(18): 178 - 184.
- [17] 袁桃静, 赵笑颖, 庞一扬, 等. 基于电子鼻、HS - GC - IMS 和 HS - SPME - GC - MS 对 5 种食用植物油挥发性风味成分分析[J]. *中国油脂*, 2020, 45(9): 102 - 111.