

花生蛋白富集组分与多糖接枝对其结构特性的影响

赵冠里¹, 刘岩¹, 苏新国¹, 王强², 胡源媛³

(1. 广东食品药品职业学院食品学院, 广东广州 510520) (2. 中国农业科学院农产品加工所, 北京 100193)

(3. 广东省贸易职业技术学校, 广东广州 510507)

摘要: 本研究以花生脱脂粉为原料, 采用低温冷沉法分离制备了花生蛋白富集组分, 花生蛋白富集组分与麦芽糊精以 1:1 混合, 在 60 °C 湿度 79% 的干热条件下, 花生球蛋白富集组分反应 1~7 d, 伴花生球蛋白富集组分反应 8~24 h, 运用 SDS-PAGE 电泳表征了花生蛋白富集组分与多糖接枝反应进行的情况, 采用热特性与荧光光谱等手段表征了花生分离蛋白与多糖的接枝反应产物结构特性的变化。SDS-PAGE 分析表明花生球/伴球蛋白富集组分已经在干热条件下与麦芽糊精发生交联反应生成大分子的接枝产物, 伴花生球蛋白相比花生球蛋白富集组分更易与麦芽糊精发生美拉德反应。花生蛋白富集组分与麦芽糊精的混合或者接枝反应显著地改善了蛋白组分的热稳定性。花生蛋白富集组分随着糖接枝反应程度的加深其空间结构先变得松散, 而后再再次变得更加紧凑。

关键词: 花生蛋白富集组分; 糖接枝; 结构特性

文章编号: 1673-9078(2017)8-110-115

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.8.017

Effects of Conjugation with Maltodextrin on the Conformational Properties of Arachin/conarachin-rich Fractions

ZHAO Guan-li¹, LIU Yan¹, SU Xin-guo¹, WANG Qiang², HU Yuan-yuan³

(1. Guangdong Food and Drug Vocational College, School of Food Science Guangzhou 510520, China)

(2. Institute of Agro-food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

(3. Guangdong Trade Vocational Technical School Guangzhou 510507, China)

Abstract: The arachin/conarachin-rich fractions were isolated from defatted peanut flour by cryoprecipitation in this study. The peanut protein-rich fractions were mixed with maltodextrin in a 1:1 weight ratio. At a temperature of 60 °C and a relative humidity of 79%, arachin-rich and conarachin-rich fractions underwent glycosylation reactions for one to seven days and 8 to 24 h, respectively. The extent of glycosylation between peanut protein-rich fractions and polysaccharides was characterized using sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), and the changes in the conformational properties of the glycosylation products of peanut protein isolates and polysaccharides were investigated using thermal properties and fluorescence spectra. The SDS-PAGE analysis indicated arachin/conarachin-rich fractions underwent cross-linking reaction with maltodextrin to generate macromolecular grafted products under dry-heating conditions. The subunits of conarachin-rich fraction readily underwent Maillard reaction with maltodextrin than those of the arachin-rich fraction. The thermal stability of peanut protein fractions was remarkably improved by mixing or conjugation of peanut protein-rich fractions with maltodextrin. The conformational structure of peanut protein-rich fraction became loose and subsequently compact with increasing extent of glycosylation.

Key words: peanut protein rich fraction; glycosylation modification; conformational properties

蛋白质与多糖之间的美拉德反应能够改善其功能特性, 尤其是改善溶解性和表面特性^[1]。多糖与蛋白质的接枝产物具有亲水/疏水的两性特质, 其能在保持界面稳定的情况下能以较低的浓度吸附于两相界面上, 并且使界面层在加热、低 pH 值或者高离子强度

收稿日期: 2017-07-05

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (2014A030313767)

作者简介: 赵冠里 (1980-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 蛋白质化学与工程

通讯作者: 苏新国 (1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品质量与安全

等相对恶劣的环境下仍然保持相对稳定, 阻止或减缓相分离现象的发生^[2]。不同来源的蛋白质具有不同的氨基酸组成及构象特性, 则它们与多糖发生美拉德反应的效率和程度亦有所不同^[3]。花生球蛋白相对于伴球蛋白具有更紧凑的空间构象, 导致花生分离蛋白 (PPI) 与葡聚糖 (dextran) 在干热条件下反应 7 d 后, 其球蛋白组分仍未参与糖接枝反应, 因此其功能特性的改善主要归因于伴球蛋白与多糖反应生成的接枝产物。花生球蛋白占总蛋白含量的 50% 以上, 促进花生球蛋白组分与多糖的接枝反应可能会进一步改善花生

分离蛋白的功能特性。在之前的研究中,采用饱和硫酸铵法分离制备的花生球蛋白组分与右旋糖酐在干热条件下接枝反应,证明了采用经分离纯化的花生球蛋白组分与多糖进行美拉德反应能够显著地提高糖接枝反应效率和改善蛋白多糖接枝产物的功能特性^[4]。然而,饱和硫酸铵法分离制备的花生球蛋白和伴球蛋白组分虽具有更高的分离纯度,但制备方法本身很难实现工业化生产。在本文中将以冷沉法分离制备的花生球/伴球蛋白富集组分与多糖在干热条件下进行糖接枝反应,研究多糖接枝对花生球蛋白富集组分结构特性的影响。

1 材料与方法

1.1 原料和试剂

脱脂花生粉,购于山东蓝山集团。花生球蛋白富集组分(自制);玉米油(食品级,市售);标准蛋白系列:蓝色葡聚糖(2000 ku),伴清蛋白(75 ku),醛缩酶(158 ku),铁蛋白(440 ku)和甲状腺球蛋白(669 ku);牛血清白蛋白(BSA),Sigma公司;1-苯胺基-8-萘磺酸、福林酚试剂、甲叉双丙烯酰胺、5-5'-二硫代-2-硝基苯甲酸、甘油,Sigma分装; β -巯基乙醇(2-ME)、丙烯酰胺、过硫酸胺、溴酚蓝,Genview分装;N,N,N',N'-四甲基乙二胺,Aldrich分装;考马斯亮蓝R-250,天津市天新精细化工开发中心;其他试剂均为实验用分析纯级。

1.2 主要仪器设备

杜马斯定氮仪NDA 701,意大利VELP公司;荧光分光光谱仪F-2500,日本日立公司;DSC TA(Q200),美国TA Instruments;紫外-可见分光光度计,日本日立公司;流变仪Physica MCR 301,奥地利Anton Paar有限公司;粒度分布仪Micro trac S3500,美国Microtrac有限公司;高压均质机AH100D,加拿大ATS公司。

1.3 试验方法

1.3.1 花生球蛋白与伴球蛋白富集组分的制备

脱脂花生粉分散于离子强度为0.2 M、pH值8.0、料液比为1:10的磷酸缓冲液中,分散液于室温下搅拌提取1 h后在20℃、8000 r/min下离心30 min。离心后上清液在2℃的冰箱中放置16 h后于2℃、8000 r/min下离心20 min。离心后的沉淀分散于去离子水中并冷冻干燥,所得样品即为花生球蛋白富集组分。冷沉离心后的上清液用2 M的HCl调整pH值至4.5后于20℃、8000 r/min下离心20 min,所得到的沉淀分

散于去离子水,用2 M的NaOH将pH调至中性,冷冻干燥后得到伴花生球蛋白富集组分样品^[5]。

1.3.2 花生球蛋白富集组分与麦芽糊精接枝物(arachin-dextran conjugates)的制取

花生球蛋白富集组分与多糖(1:1)的混合水溶液冻干后,置于含饱和KBr(控制相对湿度为79%)的反应器中,于60℃下反应。每隔相应时间取一定量样品。最终产物再次冻干并保存于-18℃下备用^[6]。

1.3.3 接枝产物 SDS-PAGE 分析

SDS-PAGE根据Laemmli(1970)报道的方法^[7],分离胶浓度为12%,浓缩胶浓度为4%。样品制备:蛋白样品溶于SDS-PAGE样品缓冲液,0.125 mol/L Tris-HCl缓冲液,含1%(m/V)SDS、2%(V/V)巯基乙醇、5%(V/V)甘油和0.025%(m/V)溴酚蓝,电泳前煮沸5 min。上样量为10 μ L,凝胶电泳于恒流模式下进行,在浓缩胶中电流40 mA,进入分离胶后增至80 mA。凝胶染色液采用0.25%考马斯亮蓝(R-250)溶液,采用高甲醇的醋酸溶液脱色,甲醇/冰乙酸/去离子水按227:37:236(V/V/V)。

1.3.4 热学特性分析

参照Meng等人^[8]的方法,采用差示扫描量热法(Differential Scanning Calorimetry, DSC)分析蛋白热特性。10%的球蛋白或伴球蛋白分散液在室温下放置1 h后,吸取10 μ L蛋白分散液至铝盒,压盘,以空盘为对照。温度扫描范围:0~200℃;升温速率:10℃/min;保护气氮气流速:50 mL/min。采用the universal analyzer 2000软件计算蛋白质的变性起始温度(T_m)、变性温度(T_d)、半峰宽($\Delta T_{1/2}$)和变性焓变(ΔH)。所有的实验结果为三次测定值的平均值。

1.3.5 荧光光谱分析

采用RF-5301 PC荧光分光光度计测定花生球蛋白或伴球蛋白的荧光光谱。蛋白分散于10 mmol/L磷酸缓冲液(pH 7.0)中,蛋白浓度为0.15 mg/mL。荧光发散光谱分析以蛋白质分子内部的荧光基团为探针,为了降低酪氨酸的贡献,荧光光谱在290 nm激发,扫描发散光谱为300~400 nm,激发和发射狭缝宽均为5 nm^[9]。

1.3.6 数据分析

实验中所有数据都是三次测定的平均值,利用一维方差分析的LSD或Tamhane比较样品平均值之间的差异显著性。Origin Pro 7.5统计分析数据并制图。

2 结果与讨论

2.1 SDS-PAGE 电泳

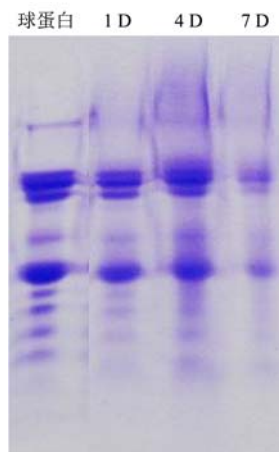


图1 花生球蛋白富集组分与麦芽糊精(1:1)干热反应不同时间的SDS-PAGE图谱

Fig.1 SDS-PAGE patterns of non-incubated arachin-rich + maltodextrin and arachin-rich + maltodextrin mixtures (weight ratio 1:1) dry-heated for various time periods

SDS-PAGE 电泳可被用来鉴定蛋白质与多糖之间的美拉德交联反应是否已经发生,并可直观地表征这一接枝反应进行的程度^[10]。在电泳分析中,应用考马斯亮蓝染色来鉴定蛋白质亚基条带在接枝反应中的变化并用来确认多糖与蛋白质的接枝反应是否发生并表征其反应的程度。花生球蛋白富集组分亚基条带在反应过程中的变化如图 1 所示。随着接枝反应的进行,花生伴球蛋白所在的特征性亚基条带(66 ku)和低分子量条带逐渐消失,同时干热处理期间,与花生球蛋白相关的亚基条带数目与含量也观察到显著的较少(图 1)。此外,随着反应诱导时间从 1 d 增至 4 d,在凝胶电泳胶片上端接近浓缩胶与分离胶交界的区间处出现了一条较宽且逐渐加深的电泳条带(图 1)。这一结果表明多糖已经与花生球蛋白富集组分通过交联反应生成了高分子的蛋白质与多糖的复合物,由于花生球蛋白富集组分亚基与多糖交联后分子量增加,故复合物特征的电泳条带位于胶片上端。当干热反应进行到 7 d,花生球蛋白富集组分的亚基条带数目和浓度降到最低,同时蛋白与多糖反应的复合物的浓度也随之降低,这可能是由于长时间的干热反应使蛋白发生了较为严重的热变性从而产生了不易溶解的大分子聚合物,在电泳样品制备过程中随蛋白及蛋白多糖复合物在加样缓冲液中沉淀导致的。

伴花生球蛋白富集组分亚基条带在糖接枝反应过程中的变化如图 2 所示。随着接枝反应的进行,伴花生球蛋白组分所在的特征性亚基条带浓度显著降低,同时干热处理期间,与花生球蛋白相关的亚基条带数目与含量也观察到显著的减少(图 2)。此外,随着反应诱导时间从 8 h 增至 24 h,在凝胶电泳胶片上

端接近浓缩胶与分离胶交界的区间处出现了一条较宽且逐渐加深的电泳条带(图 2)。表明麦芽糊精已经与伴花生球蛋白富集组分通过交联反应生成了高分子的蛋白质与多糖复合物。图 2 可知,伴花生球蛋白富集组分能够在 1 d 之内发生显著多糖接枝反应,相比花生球蛋白富集组分更易与麦芽糊精发生美拉德反应。

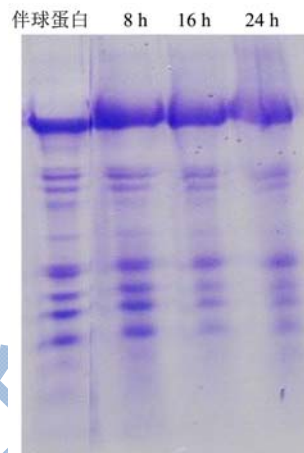


图2 花生蛋白富集组分与麦芽糊精(1:1)干热反应不同时间的SDS-PAGE图谱

Fig.2 SDS-PAGE patterns of non-incubated conarachin-rich + maltodextrin and arachin-rich + maltodextrin mixtures (weight ratio 1:1) dry-heated for various time periods

花生伴球蛋白组分更易与多糖进行糖接枝反应,花生球蛋白与多糖的反应效率和程度随着干热反应的时间延长而显著增加。然而对于之前的研究,花生分离蛋白在相同的反应条件下与多糖发生的美拉德反应程度则十分有限,花生分离蛋白中的球蛋白亚基条带并未发生明显的变化,即花生球蛋白亚基在干热处理期间并未与多糖发生美拉德反应(图 2)。本实验结果表明了经冷沉法分离提取的花生球蛋白组分与多糖接枝的反应相比碱溶酸沉的花生分离蛋白与多糖的接枝反应能够获得更好的接枝效果。

2.2 热特性

蛋白质变性是个复杂的热力学及热动力学过程,既有吸热(如氢键的断裂)又有放热(如疏水作用的破坏),但总的结果是吸热,因此可以根据热焓的大小来确定蛋白质的变性程度,一般来说,热焓值大,表示蛋白质变性小。在 DSC 图谱中,通过最大峰对应的温度和峰面积可分别确定这种变性温度和变性焓(ΔH)。变性温度代表蛋白的热稳定性,而焓变则反映蛋白质分子的疏水性和亲水性,同时也反应蛋白质分子的聚集程度。目前,热差示扫描(DSC)技术已经被许多研究者用来表征糖与蛋白质反应复合物的热特性变化情况。表 1 为花生球蛋白富集组分、花生球蛋

白富集组分-麦芽糊精混合物经历了不同热处理时间的热特性变化数据。如表 1 所示,花生球蛋白中的球蛋白组分的变性温度为 104.78 °C。这一温度显著低于花生球蛋白富集组分-麦芽糊精混合物和不同热处理时间糖接枝反应产物中相应组分的热变性温度。对花生球蛋白-麦芽糊精混合物的热处理使球蛋白组分的变性温度逐渐降低。在未经热处理的蛋白-多糖混合物样品中,花生球蛋白组分的焓变值低于花生球蛋白富集组分对照样品中相应组分的焓变值。随着热处理时间的增加,花生球蛋白组分的焓变值均呈现逐渐降低的趋势。

一般来说,蛋白质热变性温度(T_d)越高,则其热稳定性越好。由此可以判断,在本实验条件下,与多糖的混合和接枝反应显著的改善了花生球蛋白富集组分的热稳定性,这一结果与 Ibanoglu 等的报道一致。蛋白质的聚集和疏水性键的断裂皆属于放热反应,放热反应会使蛋白质在差示扫描测试中获得的焓变值(ΔH)降低。赵冠里等研究认为位于蛋白质分子之间的多糖大分子会增加蛋白质分子之间的空间位阻,进而减少了因蛋白质分子表面疏水性交互作用而发生聚集的几率,并解释了花生分离蛋白-右旋糖苷的混合物中的球蛋白组分焓变值增加的原因^[4]。然而,在本实验中花生球蛋白富集组分与麦芽糊精混合物中的花生球蛋白组分的焓变值呈现了降低的趋势,这可能是由于在热处理之前球蛋白组分由于体系中较高的电荷浓度或者由于相分离导致的蛋白质聚集而已经发生了部分变性。另外,随着对蛋白-多糖混合物热处理时间的增加,蛋白组分的焓变值逐渐降低,这一结果可能的产生有两方面的原因,其一是由于蛋白质在加热期间发生热变性使焓变降低;其次,是由于糖与蛋白质发生美拉德交联反应促使焓变降低,这是因为多糖与蛋白质之间的美拉德反应同样属于会使焓变值降低的放

热反应。

表 1 为花生球蛋白富集组分、花生球蛋白富集组分-麦芽糊精混合物经历了不同热处理时间的热特性变化数据。如表 2 所示,伴花生球蛋白富集组分的热特性数据显示其具有两个变性峰,这是由于伴花生球蛋白富集组分相比花生球蛋白富集组分具有更低的分离纯度,其所对应的花生伴球与花生球蛋白组分的变性温度分别为 94.67 °C 和 103.5 °C。伴花生球蛋白富集组分与麦芽糊精的混合及糖接枝反应,对其中的伴花生球蛋白组分的热特性没有显著影响,然而其中的球蛋白组分的变性温度显著增加,这可能是由于位于蛋白质分子之间的多糖大分子会增加蛋白质分子之间的空间位阻,进而减少了因蛋白质分子表面疏水性交互作用而发生聚集的几率。伴花生球蛋白-麦芽糊精混合物的热处理使两种蛋白组分的焓变值低于伴花生球蛋白富集组分对照样品中相应组分的焓变值。随着热处理时间的增加,花生蛋白组分的焓变值均呈现逐渐降低的趋势。

表 1 不同干热反应时间花生球蛋白富集组分(AR)-麦芽糊精(M)接枝产物的热特性

Table 1 DSC characteristics of arachin rich-maltodextrin (ARM) grafted products subjected to dry-heating for varying time periods

样品	花生球蛋白	
	$T_d/^\circ\text{C}$	$\Delta H/(\text{J/g})$
AR	104.78±0.13 ^d	22.18±0.12 ^a
ARM 0 d	107.13±0.16 ^a	18.36±0.16 ^b
ARM 1 d	107.42±0.15 ^a	14.47±0.13 ^c
ARM 4 d	106.72±0.21 ^b	14.40±0.12 ^c
ARM 7 d	105.96±0.19 ^c	13.62±0.17 ^d

注:不同的上标表示同一列不同处理方式样品差异显著性($p<0.05$)。

表 2 不同干热反应时间伴花生球蛋白富集组分(AR)-麦芽糊精(M)接枝产物的热特性

Table 2 DSC characteristics of conarachin rich-maltodextrin (CRM) grafted products subjected to dry-heating for varying time periods

样品	伴花生球蛋白		花生球蛋白	
	$T_{d1}/^\circ\text{C}$	$\Delta H_1/(\text{J/g})$	$T_{d2}/^\circ\text{C}$	$\Delta H_2/(\text{J/g})$
CR	94.67±0.14 ^a	2.28±0.07 ^a	103.5±0.11 ^c	1.42±0.13 ^b
CRM	94.59±0.18 ^a	1.97±0.02 ^b	104.9±0.15 ^b	1.65±0.06 ^a
CRM 8 h	94.73±0.16 ^a	1.69±0.08 ^c	107.5±0.26 ^a	0.72±0.03 ^c
CRM 16 h	94.76±0.21 ^a	1.54±0.03 ^d	107.8±0.22 ^a	0.46±0.02 ^d
CRM 24 h	94.48±0.25 ^a	1.50±0.06 ^d	107.3±0.21 ^a	0.24±0.05 ^e

注:不同的上标表示同一列不同处理方式样品差异显著性($p<0.05$)。

2.3 内部荧光光谱

2.3.1 花生球蛋白富集组分内部荧光光谱

花生球蛋白富集组分-麦芽糊精混合物及其热处理不同时间的接枝产物的荧光发射光谱如图 3 所示。当激发光波长为 290 nm 时,花生球蛋白富集组分的

荧光峰在 325.5 nm 处被发现。花生球蛋白富集组分-麦芽糊精混合物的荧光峰波长与花生球蛋白富集组分相比并未发现显著移动。随着对蛋白质-多糖混合物热处理 1 d 后,其最大荧光峰波长(λ_{\max})增加至 326 nm,向右红移了 0.5 nm,随着干热反应时间的延长其最大荧光峰波长逐渐减小,糖接枝反应至 7 d 时,荧光峰波长蓝移至 322.5 nm 处。结果表明,相对于花生球蛋白富集组分对照样,麦芽糊精与花生球蛋白的接枝反应会使其蛋白内部的色氨酸残基所处的微环境最开始变得更加亲水,随着干热时间的延长其内部色氨酸所处的微环境重新变得更加疏水,这意味着麦芽糊精与花生球蛋白富集组分在本实验条件下的接枝反应会诱导蛋白质肽链呈现先展开后折叠卷曲的趋势,对应其三级结构则先松散而后变得更加紧凑。这可能是由于在干热反应初始阶段,热处理会使蛋白质的肽链伸展,有利于蛋白质内部游离的赖氨酸残基与还原性的多糖发生接枝反应,随着加热时间的延长,更多暴露的疏水性氨基酸会发生进一步的相互作用,诱导蛋白质肽链重新折叠卷曲,使其空间结构变得更加紧凑。此外,蛋白质-多糖混合物的荧光强度显著低于花生球蛋白对照样品的荧光强度,并且随着干热处理时间的延长,荧光强度逐渐降低。这一现象可以归因于多糖分子链对蛋白质分子的屏蔽作用。

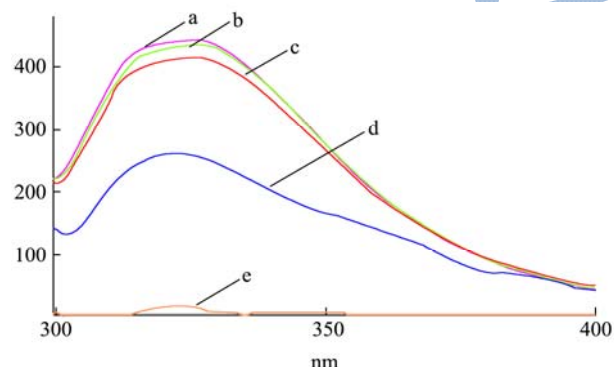


图3 花生球蛋白富集组分-麦芽糊精混合及其热处理产物的内部荧光发射光谱

Fig.3 Extrinsic emission fluorescence spectra of the mixture of arachin-rich fraction and maltodextrin and their heat treatment products

注: a表示花生球蛋白富集组分; b表示花生球蛋白富集组分-麦芽糊精; c表示花生球蛋白富集组分-麦芽糊精60℃,干热反应1 d; d表示花生球蛋白富集组分-麦芽糊精60℃,干热反应4 d; e表示花生球蛋白富集组分-麦芽糊精60℃,干热反应7 d。

2.3.2 伴花生球蛋白富集组分内部荧光光谱

伴花生球蛋白富集组分-麦芽糊精混合物及其热处理不同时间的接枝产物的荧光发射光谱如图 4 所示。当激发光波长为 290 nm 时,伴花生球蛋白富集

组分的荧光峰在 341.5 nm 处被发现。伴花生球蛋白富集组分-麦芽糊精混合物的荧光峰波长与伴花生球蛋白富集组分相比向右红移 0.5 nm。随着对蛋白质-多糖混合物热处理 8 h 后,其最大荧光峰波长(λ_{\max})降低至 341 nm,向左蓝移了 0.5 nm,随着干热反应时间的延长其最大荧光峰波长逐渐减小,糖接枝反应至 24 h,荧光峰波长蓝移至 340.5 nm 处,相对伴花生球蛋白富集组分空白样品其最大荧光峰向左蓝移了 1 nm。

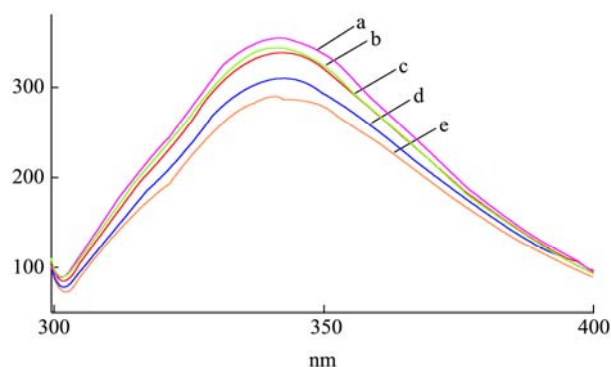


图4 伴花生球蛋白富集组分-麦芽糊精混合及其热处理产物的内部荧光发射光谱

Fig.4 Extrinsic emission fluorescence spectra of the mixture of conarachin-rich fraction and maltodextrin and their heat treatment products

注: a表示伴花生球蛋白富集组分; b表示伴花生球蛋白富集组分-麦芽糊精; c表示伴花生球蛋白富集组分-麦芽糊精60℃干热反应8 h; d表示伴花生球蛋白富集组分-麦芽糊精60℃,干热反应16 h; e表示伴花生球蛋白富集组分-麦芽糊精60℃,干热反应24 h。

结果表明麦芽糊精与伴花生球蛋白的接枝反应会使其蛋白内部的色氨酸残基所处的微环境最开始变得更加亲水,随着干热时间的延长其内部色氨酸所处的微环境重新变得更加疏水,这意味着麦芽糊精与伴花生球蛋白富集组分在本实验条件下的接枝反应会诱导蛋白质肽链呈现先展开后折叠卷曲的趋势,对应其三级结构则先松散而后变得更加紧凑。此外,蛋白质-多糖混合物的荧光强度显著低于花生球蛋白对照样品的荧光强度,并且随着干热处理时间的延长,荧光强度逐渐降低。这一现象与花生球蛋白富集组分与麦芽糊精的糖接枝反应最大荧光峰的变化趋势一致。这可能是由于在干热反应初始阶段,热处理会使蛋白质肽链伸展,有利于蛋白质内部游离赖氨酸残基与还原性多糖发生接枝反应,随着加热时间延长,更多暴露的疏水性氨基酸会发生进一步的相互作用,诱导蛋白质肽链重新折叠卷曲,使其空间结构变重新得更加紧凑。

3 结论

花生蛋白富集组分与麦芽糊精以 1:1 混合, 在 60 °C 湿度 79% 的干热条件下, 花生球蛋白富集组分反应 1~7 d, 伴花生球蛋白富集组分反应 8~24 h, 运用 SDS-PAGE 电泳表征了花生蛋白富集组分与多糖接枝反应进行的情况, 采用热特性与荧光光谱等手段表征了花生分离蛋白与多糖的接枝反应产物结构特性的变化。SDS-PAGE 分析表明花生球/伴球蛋白富集组分已经在干热条件下与麦芽糊精发生交联反应生成大分子的接枝产物。花生球蛋白相比伴花生球蛋白富集组分更难与麦芽糊精发生美拉德反应; 花生蛋白富集组分与麦芽糊精的混合或者接枝反应显著地改善了蛋白组分的热稳定性; 与麦芽糊精的混合或者接枝反应使花生蛋白富集组分的空间构象变得先松散, 随着热处理时间的延长其空间构象又重新变得更加紧凑。

参考文献

- [1] Dickinson E. Interfacial structure and stability of food emulsions as affected by protein-polysaccharide interactions [J]. *Soft Matter*, 2008, 4(5): 932-942
- [2] Dickinson E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(6): 1473-1482
- [3] Kato A. Preparation and functional properties of protein-polysaccharide conjugates. In *surface activity of proteins* [M]. New York: Marcel Dekker, 1996
- [4] Liu Y, Zhao G L, Zhao M M, et al. Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through the maillard reaction [J]. *Food Chemistry*, 2012, 131(3): 901-906
- [5] 赵冠里. 花生蛋白及其组分制备与修饰改性技术研究[D]. 北京: 中国农科院农产品加工研究所, 2013
ZHAO Guan-li. Study on the preparation and modification technology of the peanut protein fractions [D]. Beijing: Institute of Food Science and Technology CAAS, 2013
- [6] Diftis N, Kiosseoglou V. Physicochemical properties of dry-heated soy protein isolate-dextran mixtures [J]. *Food Chemistry*, 2006, 96(2): 228-233
- [7] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. *Nature*, 1970, 227: 680-685
- [8] Meng G T, Ma C Y. Thermal properties of phaseolus angularis (Red Bean) globulin [J]. *Food Chemistry*, 2001, 73(4): 453-460
- [9] Zhao G L, Yan L, Zhao M M, et al. Effect of limited enzymatic hydrolysis on conformational and functional properties of peanut protein isolate [J]. *Food Chemistry*, 2011, 127(4): 1438-1443
- [10] Wang J S, Zhao M M, Yang X Q, et al. Improvement of emulsifying properties of wheat gluten hydrolysate / λ -carrageenan conjugates [J]. *Food Technology and Biotechnology*, 2006, 44(1): 25-32