

海藻酸钠添加量对米糠蛋白理化性质和结构特性的影响

肖志刚^{1,2}, 高岩¹, 毕崇慧¹, 周廉瞬¹, 元沅¹, 段玉敏³, 王鹏^{1,2*}

(1. 沈阳师范大学粮食学院, 辽宁沈阳 110034) (2. 渤海大学食品科学与工程学院, 辽宁锦州 121013)
(3. 沈阳师范大学实验教学中心, 辽宁沈阳 110034)

摘要: 该研究通过将海藻酸钠与米糠蛋白复合, 探讨了不同的海藻酸钠添加量 (0 wt.%、15 wt.%、30 wt.%、45 wt.%、60 wt.%、75 wt.%、90 wt.%) 对米糠蛋白的理化性质 (乳化性、乳化稳定性、起泡性、起泡稳定性、粒度、Zeta 电位) 和结构特性 (内源荧光、表面疏水性、游离巯基、二硫键、傅里叶红外光谱) 的影响。结果表明, 当海藻酸钠添加量为 45 wt.% 时, 米糠蛋白的乳化性、起泡性和起泡稳定性分别提高了 40%、18% 和 9%, 乳化稳定性提高了 20 倍以上, 此时复合物的粒径最小, 所带电荷最多。随着海藻酸钠添加量的增加, 内源荧光强度降低且发生红移, 表面疏水性增强, 游离巯基含量提高且二硫键含量降低。此外, 傅里叶红外光谱证实海藻酸钠会改变米糠蛋白的二级结构。该研究的结果以期为后续米糠蛋白-海藻酸钠复合物的应用提供理论基础。

关键词: 米糠蛋白; 海藻酸钠; 理化性质; 结构特性

文章编号: 1673-9078(2025)04-63-70

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.4.0228

Effect of Sodium Alginate Addition Amount on the Physicochemical Properties and Structural Characteristics of Rice Bran Protein

XIAO Zhigang^{1,2}, GAO Yan¹, BI Chonghui¹, ZHOU Lianshun¹, YUAN Yuan¹, DUAN Yumin³, WANG Peng^{1,2*}

(1.College of Grain Science and Technology, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China)

(2.College of Food Science and Technology, Bohai University, Jinzhou 121013, China)

(3.Experimental Teaching Center, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China)

Abstract: In this study, the effects of different sodium algae addition amounts (0 wt.%, 15 wt.%, 30 wt.%, 45 wt.%, 60 wt.%, 75 wt.%, 90 wt.%) on the physicochemical properties (emulsifying property, emulsion stability, foaming capacity, foam stability, particle size, Zeta potential) and structural characteristics (endogenous fluorescence, surface hydrophobicity, free sulfhydryl group, disulfide bond, Fourier transform infrared spectrum) of rice bran protein were investigated by complexing sodium alginate with rice bran protein. The results showed that when sodium alginate was added at 45 wt.%, the emulsifying property, foaming capacity and foaming stability of rice bran protein increased by 40%, 18% and 9%, respectively, and the

引文格式:

肖志刚,高岩,毕崇慧,等.海藻酸钠添加量对米糠蛋白理化性质和结构特性的影响[J].现代食品科技,2025,41(4): 63-70.

XIAO Zhigang, GAO Yan, BI Chonghui, et al. Effect of sodium alginate addition amount on the physicochemical properties and structural characteristics of rice bran protein [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(4): 63-70.

收稿日期: 2024-02-28

基金项目: 沈阳市中青年科技创新人才支持计划项目 (RC210305); 沈阳市粮油深加工重点实验室课题基金资助 (2023001; 2023009)

作者简介: 肖志刚 (1972-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 粮食油脂及植物蛋白工程, E-mail: zhigang_xiao@126.com

通讯作者: 王鹏 (1989-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 粮食油脂及植物蛋白工程, E-mail: wpeng_mail@126.com

emulsion stability increased by more than 20 times, with the particle size of the complex being the smallest and the charge carried being the greatest. With the increase of the addition amount of sodium alginate, the intrinsic fluorescence intensity decreased, a red shift occurred, surface hydrophobicity increased, content of free sulfhydryl group increased and content of disulfide bond decreased. In addition, Fourier infrared spectroscopy analysis confirmed that the added sodium alginate change the secondary structure of rice bran protein. The results of this study are expected to provide a theoretical basis for the subsequent application of rice bran protein-sodium alginate complex.

Key words: rice bran protein; sodium alginate; physicochemical properties; structural characteristics

大米是全球主要的粮食作物，米糠作为大米加工副产物约占总重的9%^[1]，全球每年约产生六千余万吨米糠^[2]。而米糠蛋白是一种公认的优质高值植物蛋白，其营养丰富，包含8种必需氨基酸，氨基酸组成接近FAO/WHO的建议标准^[3]。并且，相对于大豆蛋白和花生蛋白来说，米糠蛋白的致敏性较低，可用于开发低致敏性婴幼儿食品^[4]。米糠蛋白还具备一定的乳化性、发泡性、凝胶性、抗氧化和抗褐变能力，是一种在食品和医疗领域具有巨大应用潜力的植物蛋白。

由于蛋白质自身的理化性质通常无法满足食品加工的需求，因此，我们通过对蛋白质进行改性处理，以获得理想的功能性质。目前常用的蛋白质改性方法有物理、化学和酶法改性。王可心^[5]通过微波改性，降低了米糠蛋白的粒径和Zeta电位、提高了表面疏水性；孟才云等^[6]通过葡萄糖的糖基化改性，提高了米糠蛋白膜的耐水性、阻水性和隔热性；吴彬等^[7]通过胰蛋白酶限制性水解，获得了溶解性、乳化性、起泡性更好的米糠蛋白酶解物。蛋白质与多糖之间的物理结合也是拓展其应用的方法之一，Zang等^[8]利用阴离子多糖改善了米糠蛋白水解物的乳化稳定性；贾润红^[9]通过添加卡拉胶提高了米糠蛋白的乳化稳定性。

海藻酸钠是一种由 β -甘露糖醛酸和 α -古洛糖醛酸按(1 \rightarrow 4)键聚合而成的天然多糖^[10]，其具有良好的溶解性、稳定性、生物相容性、生物降解性等功能性质，并且分子中包含大量亲水基团，被广泛用于构建水凝胶^[11]和制备乳液。如今很多研究都集中在海藻酸钠与蛋白质复合，以改善其性质、扩大应用范围方面，如Zhao等^[12]指出与海藻酸钠复合后，肌原纤维蛋白的流变和乳化性能有所改善；Yao等^[13]指出2 660、3 890和4 640 ku三种分子量的海藻酸钠可以改善鸡胸肌球蛋白的持水性；白雪^[14]提出海藻酸钠可以改性大豆分离蛋白，使其形成致密的网络凝胶结构。然而，关于海藻酸钠对米糠蛋白

功能特性的影响却未见报道。基于此，本研究拟探究海藻酸钠对米糠蛋白理化性质和结构特性的作用，以期后续米糠蛋白-海藻酸钠复合物的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

脱脂米糠，购于沈阳奥达油脂有限公司；海藻酸钠，购于上海麦克林生化科技股份有限公司。所有试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

LXJ-IIB 低速离心机，上海安亭科学仪器厂；L-200 冷冻干燥机，瑞士BUCHI有限公司；UV1800-型紫外分光光度计，上海美普达仪器有限公司；Zetasizer Nano ZS90 分子粒度和zeta电位分析仪，英国Malvern公司；F97 荧光分光光度计，上海棱光技术有限公司；Nicoletteis50 傅里叶变换红外光谱仪，美国Nicolet公司。

1.3 实验方法

1.3.1 米糠蛋白的制备

参考周耸励^[15]的方法，以料液比1:9的比例将粉碎后的脱脂米糠与去离子水混合，调节pH值至10，搅拌2 h。以4 000 r/min离心20 min，收集上清液。边搅拌边将上清液调节pH值至4.5，静置2 h后以4 000 r/min离心20 min收集沉淀物，并倒去上清液。向沉淀物中加5倍体积蒸馏水将其溶解后调节pH值至中性，再透析48 h以去除盐离子。对透析液冷冻干燥48 h，粉碎后过150目筛，置于干燥罐中备用。

1.3.2 米糠蛋白-海藻酸钠复合物的制备

用去离子水分别配制质量浓度为25 mg/mL的米糠蛋白和海藻酸钠溶液，常温搅拌过夜使其充分水化，然后将两种溶液以不同比例进行混合，分别

配置成海藻酸钠含量为 0 wt.%、15 wt.%、30 wt.%、45 wt.%、60 wt.%、75 wt.%、90 wt.% 的混合液, 并将 pH 值调节至中性, 混合液经冷冻干燥 48 h 后, 磨粉, 过 100 目筛备用, 将样品分别记为 ALG 0、ALG 15、ALG 30、ALG 45、ALG 60、ALG 75 和 ALG 90。

1.3.3 乳化性和乳化稳定性的测定

参考王可心等^[16]的方法, 测定复合物样品的乳化性和乳化稳定性, 将待测样品溶解在磷酸盐缓冲液中, 制备成浓度为 0.1 wt.% 的水相, 玉米油作为油相, 在 2 000 r/min 的条件下均质 2 min, 取适量均质液于十二烷基硫酸钠中稀释, 并于 500 nm 处用紫外分光光度计测定吸光度值。而后改变复合物样品的 pH 值分别为 4、5、6、7、8、9、10, 测定不同 pH 值对米糠蛋白-海藻酸钠复合物乳化性及乳化稳定性的影响, 计算公式如下:

$$E_1 = 2 \times 2.303 \times \frac{N \times A_0}{c \times n \times 100} \quad (1)$$

式中:

E_1 —乳化性 (EAI), m^2/g ;

N —乳液稀释倍数, 100 倍;

A_0 —0 min 吸光度;

n —乳液中的油相比, 60%;

c —米糠蛋白与海藻酸钠的总质量浓度, g/mL 。

$$E_2 = \frac{A_0 \times 30}{A_0 - A_{30}} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

E_2 —乳化稳定性 (ESI), %;

A_0 —0 min 吸光度;

A_{30} —30 min 吸光度。

1.3.4 起泡性和泡沫稳定性的测定

参考赵欣瑶等^[17]的方法, 配置质量浓度为 5 mg/mL 的米糠蛋白-海藻酸钠复合物溶液, 记录溶液的初始体积, 并测量其起泡性和起泡稳定性, 计算公式如下:

$$B = \frac{V_1 - V}{V} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

B —起泡性 (FC), %;

V —未经均质的样品溶液体积, mL ;

V_1 —均质结束时泡沫的体积, mL 。

$$D = \frac{V_{30} - V}{V_1 - V} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

D —泡沫稳定性 (FS), %;

V —未经均质的样品溶液体积, mL ;

V_1 —均质结束时泡沫的体积, mL ;

V_{30} —均质结束 30 min 时泡沫的体积, mL 。

1.3.5 粒度和电位的测定

以蒸馏水配置质量浓度为 2 mg/mL 的米糠蛋白-海藻酸钠复合物溶液, 利用马尔文分析仪测定其粒度和电位, 设置折射率为 1.590, 吸收率为 0.001, 密度为 1.35 g/cm^3 。

1.3.6 表面疏水性的测定

参考李航^[18]的方法, 用 ANS 荧光探针法测定米糠蛋白-海藻酸钠复合物样品的表面疏水性。将待测样品用磷酸盐缓冲液稀释为不同梯度浓度的样品溶液, 吸取 20 μL ANS 溶液与 4 mL 待测溶液混合, 在室温下静置 15 min 后, 测定其荧光值。以浓度为横坐标、峰值为纵坐标拟合方程, 用该方程的斜率表征样品表面疏水性。

1.3.7 荧光光谱的测定

参考 Li 等^[19]的方法, 用磷酸盐缓冲液配置质量浓度为 0.001 mg/mL 的米糠蛋白-海藻酸钠复合物溶液, 进行荧光光谱的测定。

1.3.8 游离巯基和二硫键含量的测定

参考于枫^[20]的方法, 测定复合物样品中巯基和二硫键的含量。取复合物样品溶于含有 8 mol/L 尿素、0.5 wt.% 十二烷基磺酸钠的 pH 值为 8.0 的三羟甲基氨基甲烷-甘氨酸 (Tris(hydroxymethyl) aminomethane-Glycine, Tris-Gly) 缓冲溶液, 再加入浓度为 4 mg/mL 的 5,5'-二硫代双 (2-硝基苯甲酸) (5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid), DTNB) 试剂 100 μL , 室温下混合均匀, 静置 30 min, 于 412 nm 下测定游离巯基的含量。另取 4 mL 蛋白质溶液加入 16 mL 0.2 wt.% β -巯基乙醇处理 2 h 后, 加入 8 mL 12 wt.% 的三氯乙酸沉淀蛋白质 1 h, 于 9 000 r/min 离心 10 min, 反复沉淀 3 次后, 将沉淀溶于 6 mL Tris-Gly 溶液, 以不加 DNTB 试剂为对照, 在 412 nm 下测定总巯基含量, 总巯基与游离巯基差值的二分之一为二硫键含量。

1.3.9 傅里叶变换红外光谱的测定

参考岳程程等^[21]的方法, 进行傅里叶变换红外光谱的测定。将适量的米糠蛋白-海藻酸钠复合物样品与溴化钾粉末混合均匀并充分研磨, 使用压片

机压片后,通过傅里叶红外光谱仪扫描样品,光谱扫描范围为 $4\ 000\sim 400\ \text{cm}^{-1}$,分辨率为 $4\ \text{cm}^{-1}$ 。

1.4 数据统计与分析

采用 Origin 2021 进行绘图, SPSS 21 对数据进行显著性分析, $P < 0.05$ 为差异显著, 图表中数据以平均值 \pm 标准差来表示, 所有实验均进行 3 次重复。

2 结果与讨论

2.1 米糠蛋白-海藻酸钠复合物的乳化性及乳化稳定性

2.1.1 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物乳化性及乳化稳定性的影响

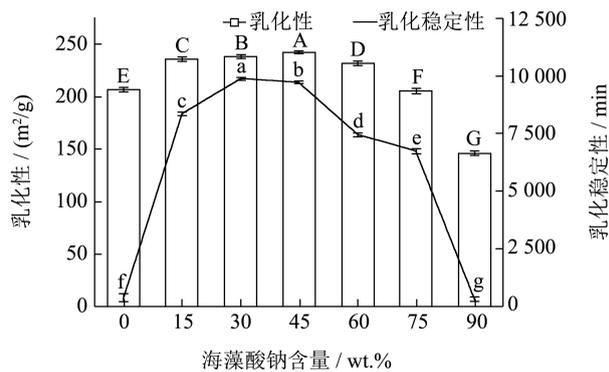


图 1 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物乳化性及乳化稳定性的影响

Fig.1 Effect of sodium alginate content on the emulsification and emulsified stability of rice bran protein-sodium alginate complexes

注: 不同的大小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。下同。

如图 1 所示, 米糠蛋白-海藻酸钠复合物的乳化性及乳化稳定性均随着海藻酸钠添加量的增加呈先上升后下降的趋势。米糠蛋白具有一定的乳化性, 但其乳化稳定性比较差。随着海藻酸钠的添加, 其乳化性得到了明显的改善, 在海藻酸钠添加量为 45 wt.% 时, 米糠蛋白-海藻酸钠复合物的乳化性达到了最大值; 此外, 复合物的乳化稳定性也得到显著改善, 并在海藻酸钠添加量为 30 wt.% 时达到最大值。这可能是由于海藻酸钠在水相中可以形成凝胶网络, 使包裹油滴的米糠蛋白-海藻酸钠复合物之间形成较为稳定的水相体系, 从而提高了米糠蛋白-海藻酸钠复合物的乳化性和乳化稳定性^[22]。由于米糠蛋白在复合物中主要起到提供亲脂

性的作用, 因此, 随着海藻酸钠添加量的进一步提高, 复合物的亲脂性逐渐减弱, 使其难以有效稳定油相, 从而导致米糠蛋白-海藻酸钠复合物的乳化性和乳化稳定性下降。

2.1.2 pH 值对米糠蛋白-海藻酸钠复合物乳化性及乳化稳定性的影响

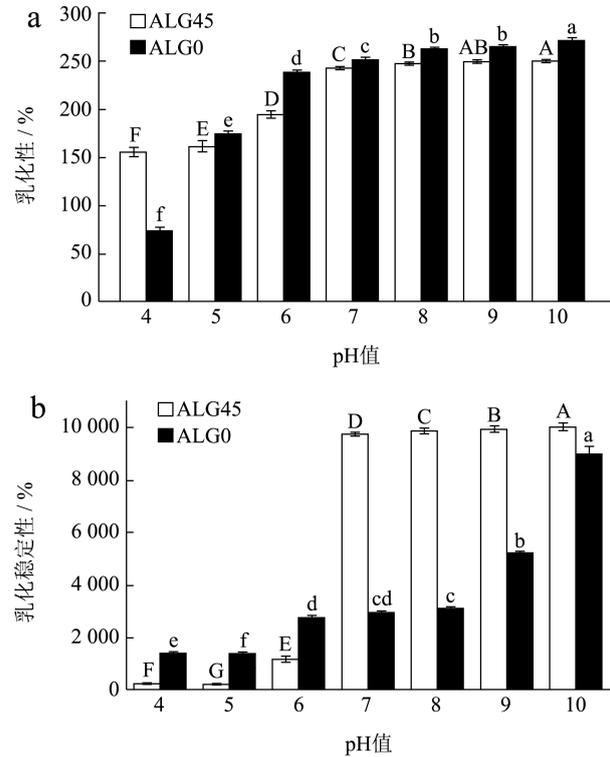


图 2 pH 值对米糠蛋白-海藻酸钠复合物乳化性 (a) 及乳化稳定性 (b) 的影响

Fig.2 Effect of pH value on emulsification (a) and emulsification stability (b) of rice bran protein-sodium alginate complexes

如图 2 所示, 米糠蛋白和米糠蛋白-海藻酸钠复合物的乳化性均随着 pH 值的升高呈上升的趋势, 由于米糠蛋白的等电点在 4.5 左右, 在 pH 值为 4~5 时, 米糠蛋白的溶解度最小, 同时由于在等电点附近时蛋白质的表面电荷几乎为零, 静电屏蔽作用最小, 蛋白质颗粒容易发生聚集, 导致其乳化性和乳化稳定性非常低。米糠蛋白-海藻酸钠复合物的乳化性在 pH 值为 4~5 时也较低, 但却明显高于米糠蛋白。随着 pH 值的升高, 米糠蛋白的溶解性逐渐提高, 表面电位逐渐降低, 蛋白颗粒与海藻酸钠之间、蛋白颗粒之间的静电排斥作用增强, 使油滴之间更加难以聚集, 因而复合物的乳化性和乳化稳定性均得以提高^[23], 米糠蛋白-海藻酸钠复合物的乳化性和乳化稳定性在 pH 值为 7 时达到较高水平, 此后, 随着 pH 值的进一步提高, 复合物的乳

化性和乳化稳定性的变化差异不大,说明米糠蛋白-海藻酸钠复合物在 pH 值为 6~7 时就已经具有较好的乳化性和乳化稳定性,由于大部分食品的 pH 值通常为中性或偏碱性,因此,这有利于米糠蛋白-海藻酸钠复合物在食品中的应用。

2.1.3 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物起泡性和泡沫稳定性的影响

图 3 为不同海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物起泡性和泡沫稳定性的影响,随着海藻酸钠添加量的增加,复合物的起泡性和泡沫稳定性呈现先上升后下降的趋势,当海藻酸钠添加量为 45 wt.% 时,复合物的起泡性从 92.52% 升高至 109.30%,此后,复合物的起泡性随着海藻酸钠添加量的进一步升高而逐渐下降。复合物的泡沫稳定性也呈现出相似的变化趋势,当海藻酸钠添加量为 45 wt.%,复合物的泡沫稳定性从 41.91% 提升到 45.44%,此后,复合物的泡沫稳定性也随着海藻酸钠添加量的升高而下降。这可能是由于海藻酸钠的添加改善了米糠蛋白的两亲性,使其能更好地吸附在气-液表面,并降低溶液的表面张力和界面张力,从而提高了复合物的起泡性;而起泡稳定性则受到界面黏弹性的影响^[24],海藻酸钠的添加增大了泡沫界面的黏弹性,同时由于引入了钠离子,这可能会使蛋白分子之间产生更强的静电屏蔽作用,从而提高了复合物的起泡稳定性^[25]。当进一步提高海藻酸钠的添加量时,过低的蛋白质含量会导致没有足够的蛋白质分子吸附于气-液界面上,从而降低了复合物的起泡性和泡沫稳定性。

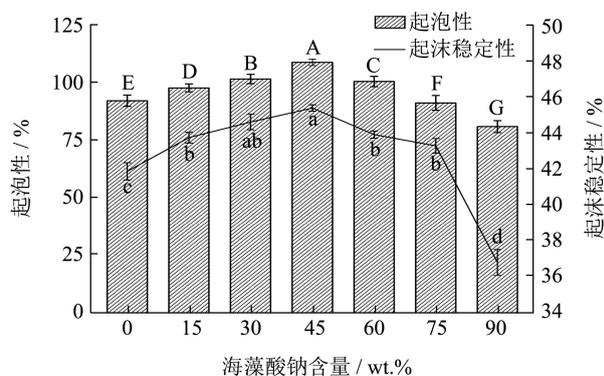


图 3 海藻酸钠含量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物起泡性和起沫稳定性的影响

Fig.3 Effect of sodium alginate content on foaming property and stability of rice bran protein-sodium alginate complexes

2.2 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物粒径和Zeta电位的影响

如表 1 所示,米糠蛋白的粒径为 8.52 μm ,随着海藻酸钠的添加,复合物的粒径先减小后增加,在添加量为 45% 时粒径达到最低值为 2.07 μm ,这与上述的结果一致,这是因为粒径的大小与蛋白质的功能性质有关,粒径小的复合物其表面积大,这可以增大与水分子之间的相互作用,提高溶解度,从而改善米糠蛋白的乳化性和起泡性^[26]。而粒径大小的变化趋势,可能是由米糠蛋白-海藻酸钠复合物电位变化导致的。

在 pH 值为 7 的条件下,米糠蛋白和米糠蛋白-海藻酸钠复合物的电位均为负值,复合物的 Zeta 电位随着海藻酸钠添加量的提高,先升高后降低,在添加量为 45 wt.% 时 Zeta 电位值达到最低为 -18.20 mV。这是因为海藻酸钠是一种阴离子多糖,分子中含有大量的羧基,因此,米糠蛋白与海藻酸钠复合之后 Zeta 电位会有所下降。根据文献指出,复合物表面所带电荷越多,静电斥力越强,体系更稳定^[27],但过多海藻酸钠的添加会使得复合物粒径变大,表面电荷减少,体系变得不稳定。

表 1 海藻酸钠添加量对米糠蛋白粒径和Zeta电位的影响

Table 1 Effect of sodium alginate content on particle size and Zeta potential of rice bran protein

样品	粒径/ μm	Zeta 电位/mV
ALG 0	8.52 \pm 0.09 ^b	-13.27 \pm 0.12 ^c
ALG 15	2.93 \pm 0.17 ^d	-12.80 \pm 3.44 ^c
ALG 30	2.10 \pm 0.02 ^d	-12.93 \pm 3.44 ^c
ALG 45	2.07 \pm 0.01 ^d	-18.20 \pm 1.56 ^a
ALG 60	3.14 \pm 0.04 ^d	-17.80 \pm 3.47 ^a
ALG 75	5.40 \pm 0.07 ^c	-17.62 \pm 2.29 ^a
ALG 90	13.19 \pm 3.83 ^a	-15.13 \pm 2.00 ^b

注:表中每列不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

2.3 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物表面疏水性的影响

表面疏水性能够用来反映米糠蛋白-海藻酸钠复合物表面疏水基团的数量,还可以作为蛋白质空间结构变化的一个参考。如图 4 所示,米糠蛋白-海藻酸钠复合物的表面疏水性随着海藻酸钠添加量的增加而上升,说明米糠蛋白的表面疏水基团

数量增多,这可能是由于海藻酸钠的添加使米糠蛋白构象发生改变,由于天然蛋白质通常存在疏水性内核,而构象的改变可能会暴露出更多的疏水性基团。更高的疏水性通常会赋予蛋白质分子更强的柔性,使蛋白质分子更容易吸附在油水界面上,因此,疏水性的增强可能是米糠蛋白-海藻酸钠复合物的乳化性和起泡性提高的主要原因之一^[28]。

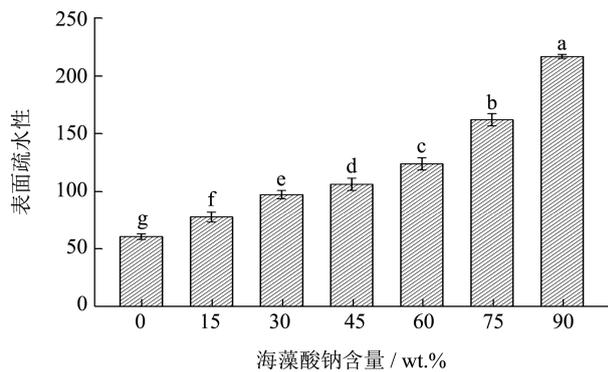


图4 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物表面疏水性的影响

Fig.4 Effect of sodium alginate content on the hydrophobic property of rice bran protein-sodium alginate complexes

2.4 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物荧光强度的影响

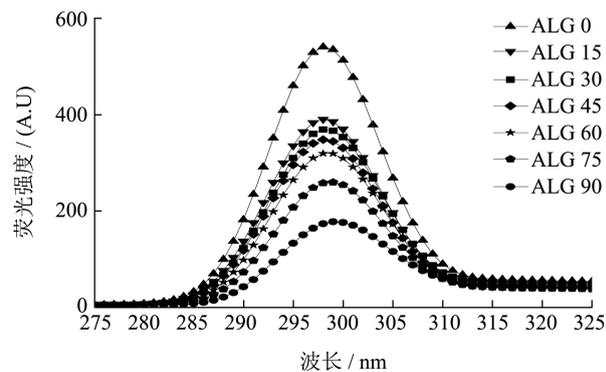


图5 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物荧光强度的影响

Fig.5 Effect of sodium alginate addition on the fluorescence intensity of rice bran protein

内源荧光光谱可以反映蛋白质中芳香族氨基酸所处微环境极性的变化,常用于表征蛋白三级结构。如图5所示,随着海藻酸钠添加量的增加,米糠蛋白-海藻酸钠复合物的荧光强度不断降低,这可能是由于海藻酸钠对色氨酸产生了屏蔽作用。同时随着海藻酸钠添加量的增加,其最大吸收峰发生红移,这是由于色氨酸分子的极性增强,其与水的接触增加,表明其三级结构更为松散,蛋白质分子更加舒

展^[29],柔韧性增强,而更强的柔韧性也是米糠蛋白呈现出良好乳化性和乳化稳定性的原因之一。

2.5 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物中蛋白游离巯基和二硫键含量的影响

游离巯基的含量对蛋白质分子内和分子间共价键具有较大的影响,游离巯基同时也是对氧化较为敏感的基团,具有抗氧化作用,二硫键是维持蛋白质二级结构和三级结构的重要作用力,对于蛋白质的空间结构以及稳定性有重要影响,巯基与二硫键可以通过氧化还原反应相互转化。如表2所示,米糠蛋白中游离巯基的含量随着海藻酸钠添加量的提高而增加,游离巯基能够促进蛋白质与水之间的结合,会增强蛋白质的溶解性,同时,二硫键的减少会使蛋白分子结构更加伸展^[30],从而增强了其乳化性和起泡性。

表2 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物中蛋白游离巯基和二硫键含量的影响(μmol/g)

Table 2 Effects of sodium alginate addition on the content of free sulfhydryl and disulfide bonds of protein in rice bran protein-sodium alginate complexes

样品	游离巯基	二硫键
ALG 0	188.97 ± 0.43 ^g	187.97 ± 0.22 ^a
ALG 15	215.34 ± 0.65 ^f	174.78 ± 0.33 ^b
ALG 30	219.47 ± 0.85 ^e	172.72 ± 0.43 ^c
ALG 45	230.01 ± 0.90 ^d	167.44 ± 0.45 ^d
ALG 60	244.48 ± 0.56 ^c	160.21 ± 0.28 ^e
ALG 75	285.68 ± 2.29 ^b	139.61 ± 1.15 ^f
ALG 90	333.83 ± 4.09 ^a	115.54 ± 2.05 ^g

注:表中每列不同的小写字母表示具有显著差异(P<0.05)。

2.6 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物中蛋白二级结构含量的影响

对样品波长在1600~1700 cm⁻¹处的酰胺I带进行拟合,使用高斯面积算法计算其中二级结构的相对含量,结果如表3所示。与未添加海藻酸钠的米糠蛋白相比较,海藻酸钠的添加对米糠蛋白二级结构含量都有显著影响,随海藻酸钠添加量的提高,α-螺旋的含量略有上升,由于极性基团的引入,有利于β-转角的形成^[31],β-折叠含量下降与β-转角含量逐渐上升,说明蛋白分子柔韧性增加^[32]。由此可见,海藻酸钠的添加能够引起米糠蛋白二级结构的改变,从而导致米糠蛋白-海藻酸钠复合物的乳化性质和起泡性质随之变化。

表 3 海藻酸钠添加量对米糠蛋白-海藻酸钠复合物中蛋白二级结构含量的影响

Table 3 Effect of sodium alginate addition on secondary structure content of protein in rice bran protein-sodium

alginate complexes				
样品	α -螺旋/%	β -折叠/%	β -转角/%	无规则卷曲/%
ALG 0	28.80 ± 5.13 ^g	43.82 ± 7.13 ^a	9.01 ± 1.07 ^g	18.38 ± 2.54 ^a
ALG 15	29.86 ± 4.37 ^d	37.84 ± 3.83 ^c	15.96 ± 3.56 ^c	16.33 ± 1.91 ^b
ALG 30	30.78 ± 3.43 ^c	35.93 ± 7.79 ^e	18.62 ± 3.26 ^c	14.68 ± 2.05 ^d
ALG 45	30.88 ± 2.52 ^a	33.49 ± 1.72 ^g	22.72 ± 2.26 ^a	12.91 ± 0.81 ^g
ALG 60	30.81 ± 5.31 ^b	33.89 ± 0.98 ^f	20.58 ± 5.57 ^b	13.06 ± 3.24 ^f
ALG 75	29.74 ± 2.63 ^e	36.57 ± 2.73 ^d	17.33 ± 4.54 ^d	13.87 ± 0.36 ^e
ALG 90	29.39 ± 3.57 ^f	39.88 ± 5.35 ^b	13.47 ± 0.67 ^f	15.13 ± 1.14 ^e

注:表中每列不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

3 结论

本实验以米糠蛋白为原料,通过添加海藻酸钠与其形成复合物的方式,探究海藻酸钠添加量对米糠蛋白理化性质和结构特性的作用。结果表明,一定添加量的海藻酸钠能够提高米糠蛋白的乳化性、乳化稳定性、起泡性及起泡稳定性,并且这四个性质均在海藻酸钠添加量为 45 wt.% 时达到最大值;粒径分析显示,海藻酸钠添加会使复合物的粒径先减少后增加,Zeta 电位先升高后降低;荧光光谱显示,海藻酸钠的添加会引起米糠蛋白三级结构的变化;米糠蛋白-海藻酸钠复合物的表面疏水性随海藻酸钠添加量的升高而升高;游离巯基的含量随海藻酸钠添加量的升高而升高,二硫键的含量随海藻酸钠添加量的升高而降低;傅里叶红外光谱测定结果表明,海藻酸钠的添加对米糠蛋白二级结构有明显影响,在添加海藻酸钠后,米糠蛋白结构更加松散、柔韧,从而提高了其乳化性和起泡性。综上所述,在米糠蛋白中适当添加海藻酸钠可以有效改善米糠蛋白的理化性质和结构特性,有助于拓展米糠蛋白的应用领域,为米糠蛋白的高效利用提供了理论依据。

参考文献

[1] MANZOOR A, PANDEY V K, DARA H, et al. Rice bran: nutritional, phytochemical, and pharmacological profile and its contribution to human health promotion [J]. Food Chemistry Advances, 2023, 2: 100296.

[2] IMAN, ZAREI, EMILY, et al. Comparative rice bran metabolomics across diverse cultivars and functional rice gene-bran metabolite relationships [J]. Metabolites, 2018, 8 (4): 63-63.

[3] 王娜.米糠蛋白聚集体及其成膜特性研究[D].沈阳:沈阳

农业大学,2020.

[4] AL-DOURY M K W, HETTIARACHCHY N S, RONNY H. Rice-endosperm and rice-bran proteins: a review [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2018, 95(8): 943-956.

[5] 王可心.微波改性米糠蛋白W/O/W双重乳液的制备及性质研究[D].沈阳:沈阳师范大学,2021.

[6] 孟才云,孙妍,肖志刚,等.葡萄糖糖基化米糠蛋白-壳聚糖复合膜的制备及表征[J].食品科学,2023,44 (16):135-142 1-13.

[7] 吴彬,刘昆仑.米糠蛋白酶解产物功能特性及乳液稳定性研究[J].食品安全质量检测学报,2022,13(9):2940-2946.

[8] ZANG X, WANG J, YU G, et al. Addition of anionic polysaccharides to improve the stability of rice bran protein hydrolysate-stabilized emulsions [J]. Lwt, 2019, 111: 573-581.

[9] 贾润红.卡拉胶对米糠蛋白稳定水包油乳状液乳化稳定性的影响[J].中国食品添加剂,2022,33(2):70-74.

[10] ZHANG H, TAN S, GAN H, et al. Investigation of the formation mechanism and β -carotene encapsulation stability of emulsion gels based on egg yolk granules and sodium alginate [J]. Food Chemistry, 2023, 400: 134032.

[11] TAN J, LUO Y, GUO Y, et al. Development of alginate-based hydrogels: Crosslinking strategies and biomedical applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 239: 124275.

[12] ZHAO N, ZOU H, SUN S, et al. The interaction between sodium alginate and myofibrillar proteins: The rheological and emulsifying properties of their mixture [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 161: 1545-1551.

[13] YAO J, ZHOU Y, CHEN X, et al. Effect of sodium alginate with three molecular weight forms on the water holding capacity of chicken breast myosin gel [J]. Food Chemistry, 2018, 239: 1134-1142.

- [14] 白雪.大豆分离蛋白/海藻酸钠复合膜的制备及在运动蛋白粉中的应用[J].中国食品添加剂,2024,35(3):213-219.
- [15] 周耸勋.米糠蛋白的分级提取、结构及功能性质研究[D].沈阳:沈阳师范大学,2019.
- [16] 王可心,段庆松,王依凡,等.米糠蛋白O/W及W/O/W乳液制备及界面稳定性 [J].食品科学,2021,42(22):24-30.
- [17] 孙欣瑶,赵晓,倪艳,等.热处理对浓缩乳清蛋白起泡性的影响及其在咖啡奶盖中的应用[J].中国乳品工业,2023,51(3):35-40.
- [18] 李航.米糠谷蛋白与糖类复合热聚集行为研究[D].沈阳:沈阳师范大学,2022.
- [19] LI H, LI F, WU X, et al. Effect of rice bran rancidity on the emulsion stability of rice bran protein and structural characteristics of interface protein [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 121: 107006.
- [20] 于枫.米糠蛋白功能特性及糖基化改性研究[D].大连:大连理工大学,2020.
- [21] 岳程程,王哲,佟丽凤,等.水分添加量对高水分挤压大豆粕植物蛋白肉品质及结构特性的影响[J].食品工业科技,2023,44(22):52-60.
- [22] YAN J, LIANG X, MA C, et al. Design and characterization of double-cross-linked emulsion gels using mixed biopolymers: Zein and sodium alginate [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 113: 106473.
- [23] YANG Y, JIN H, JIN Y, et al. A new insight into the influence of pH on the adsorption at oil-water interface and emulsion stability of egg yolk protein [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 246: 125711.
- [24] 邹婕,王琪,马美湖,等.高场强超声对蛋清液起泡特性的影响[J].中国食品学报,2022,22(1):163-171.
- [25] XIONG W, LI J, LI B, et al. Physicochemical properties and interfacial dilatational rheological behavior at air-water interface of high intensity ultrasound modified ovalbumin: Effect of ionic strength [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 97: 105210.
- [26] 陈王玉,石梦梦,王月琴,等.超声对青稞蛋白理化性质和消化特性的影响[J].食品与发酵工业,2024,50(8):68-75.
- [27] 刁云春.米糠蛋白纳米颗粒的构建及其起泡特性的研究[D].武汉:武汉轻工大学,2022.
- [28] PANG S, SHAO P, SUN Q, et al. Relationship between the emulsifying properties and formation time of rice bran protein fibrils [J]. Lwt, 2020, 122: 108985.
- [29] LING B, OUYANG S, WANG S. Effect of radio frequency treatment on functional, structural and thermal behaviors of protein isolates in rice bran [J]. Food Chemistry, 2019, 289: 537-544.
- [30] 任祥瑞,赵晓燕,刘红开,等.不同离子对核桃浓缩蛋白结构及功能性的影响[J/OL].中国油脂,1-18[2024-11-22].
- [31] SHAO Q, WEI H, GAO Y Q. Effects of turn stability and side-chain hydrophobicity on the folding of β -Structures [J]. Journal of Molecular Biology, 2010, 402(3): 595-609.
- [32] 张玉静,黄凌立,郭峻.糖基化对小米醇溶蛋白结构和消化性影响[J].食品研究与开发,2023,44(2):13-20.