

低分子糖-麦醇溶蛋白复合物的结构与性能及其相互作用分析

杨婷婷, 罗国柳, 覃小丽, 刘雄, 钟金锋*
(西南大学 食品科学学院, 重庆 400715)

摘要: 以阿拉伯糖、果糖、海藻糖和麦醇溶蛋白为原料制备复合物, 采用红外光谱、荧光光谱、扫描电镜、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺电泳及乳化性分析等试验与分子动力学模拟相结合的方法, 探究低分子糖种类对复合物结构、性能和相互作用的影响。乳化性结果表明, 3种低分子糖-麦醇溶蛋白复合物的乳化活性指数和乳化稳定性指数显著高于麦醇溶蛋白 ($p < 0.05$), 且海藻糖-麦醇溶蛋白复合物乳化性最佳 (乳化活性指数 $45.86 \text{ m}^2/\text{g}$; 乳化稳定性指数 19.20 min); 红外光谱和分子动力学模拟结果表明, 氢键对维持3种低分子糖-麦醇溶蛋白复合物结构稳定性起重要作用, 且海藻糖-麦醇溶蛋白复合物的平均氢键寿命 (11.07 ps) 高于果糖-麦醇溶蛋白复合物 (7.16 ps) 与阿拉伯糖-麦醇溶蛋白复合物 (6.94 ps); 此外, 结合能结果表明, 海藻糖-麦醇溶蛋白复合物的结合能最低, 为 -40.65 kJ/mol , 其中范德华相互作用能对维持海藻糖-麦醇溶蛋白复合物结构稳定性起主要作用。

关键词: 麦醇溶蛋白; 阿拉伯糖; 果糖; 海藻糖; 分子动力学模拟

Analysis of Structure and Properties of Low-Molecular-Weight Saccharides-Gliadin Complexes and Their Interactions

YANG Ting-ting, LUO Guo-liu, QIN Xiao-li, LIU Xiong, ZHONG Jin-feng*
(College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: This study aimed to prepare complexes with the raw materials of arabinose, fructose, trehalose, and gliadin, and further to investigate the effect of low-molecular-weight saccharide type on the structure, properties, and interactions of the complexes through Fourier transform infrared spectroscopy, fluorescence spectroscopy, scanning electron microscopy, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), emulsifying property analysis, and molecular dynamics simulation. The results showed that the emulsifying activity index and emulsifying stability index of complexes of each of the three saccharides and gliadin were higher than those of gliadin ($p < 0.05$), particularly the trehalose-gliadin complex (emulsifying activity index: $45.86 \text{ m}^2/\text{g}$; emulsifying stability index: 19.20 min). Hydrogen bonds played an important role in maintaining the structural stability of the three complexes, and the average hydrogen bond lifetime (11.07 ps) of the trehalose-gliadin complex was higher than that of the fructose-gliadin complex (7.16 ps) and arabinose-gliadin complex (6.94 ps). In addition, the binding energy of the trehalose-gliadin complex was the lowest (-40.65 kJ/mol) and the van der Waal interaction energy played a crucial part in maintaining the structural stability this complex.

Key words: gliadin; arabinose; fructose; trehalose; molecular dynamics simulation

引文格式:

杨婷婷, 罗国柳, 覃小丽, 等. 低分子糖-麦醇溶蛋白复合物的结构与性能及其相互作用分析[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(5): 15-21.

YANG Tingting, LUO Guoliu, QIN Xiaoli, et al. Analysis of Structure and Properties of Low-Molecular-Weight Saccharides-Gliadin Complexes and Their Interactions[J]. Food Research and Development, 2023, 44(5): 15-21.

基金项目: 国家自然科学基金(31501446); 重庆市自然科学基金(cstc2019jcyj-msxmX0113)

作者简介: 杨婷婷(1996—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 粮食、油脂与植物蛋白。

* 通信作者: 钟金锋(1984—), 男, 副教授, 博士, 研究方向: 粮食、油脂与植物蛋白。

麦醇溶蛋白(gliadin, Gli)是一种疏水性植物蛋白,因其具有良好的生物相容性、两亲性和可降解性,常作为生物活性成分载体应用于食品领域^[1]。然而,分子间相互作用影响了麦醇溶蛋白的结构和性能,进而影响其在食品中的应用^[2-4]。有研究发现超声(ultrasonics, U)可诱导蛋白质结构展开,促进蛋白质与配体之间的相互作用,从而影响蛋白质-配体复合物的构象和界面性质^[5]。现有研究表明蛋白质和配体之间的相互作用受配体物质分子结构和蛋白质种类的影响^[4,6]。因此,阐明不同结构配体物质对麦醇溶蛋白结构的影响及其相互作用机制对提升麦醇溶蛋白加工品质具有重要意义。

低分子糖作为食品加工中广泛使用的小分子物质,具有调节蛋白质构象稳定性和功能性质的作用^[7-9]。Huo等^[9]探究了6种低分子糖对藻蓝蛋白热稳定性的影响,发现甘露糖对藻蓝蛋白热降解的抑制作用最强。阿拉伯糖(arabinose, Ara)、果糖(fructose, Fru)和海藻糖(trehalose, Tre)是具有多个游离羟基基团的低分子糖,可以作为配体与麦醇溶蛋白结合生成复合物,进而影响麦醇溶蛋白的结构和功能特性。然而,目前与低分子糖-蛋白质复合物相关的研究主要集中在功能特性等宏观性质方面,对于分子层面相互作用机制的研究较少,如何从微观层面阐明二者之间的相互作用机制仍需进一步探讨。分子动力学(molecular dynamics, MD)模拟可从微观层面揭示两原子或分子之间的相互作用,从分子水平阐明复合物的形成机理,为宏观性能指标提供理论支撑^[10]。Feng等^[11]通过MD模拟发现酚酸与麦醇溶蛋白之间的氢键和疏水相互作用促进了二者的结合。因此,通过MD模拟有助于揭示麦醇溶蛋白与Ara、Fru和Tre之间的相互作用及其复合物性能的调控机制。

本文旨在通过红外光谱、荧光光谱、扫描电镜、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)电泳分析和乳化性测定考察不同种类低分子糖(Ara、Fru和Tre)与麦醇溶蛋白形成的复合物的结构和性能,并借助MD模拟进一步分析低分子糖与麦醇溶蛋白相互作用的机制,以期为扩大低分子糖与麦醇溶蛋白复合物的应用范围提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

谷朮粉(蛋白质含量为75.0%):新乡良润全谷物食品有限公司;麦醇溶蛋白:西南大学食品科学学院实验室自提;阿拉伯糖(纯度 $\geq 99.0\%$)、果糖(纯度 $\geq 98\%$)、海藻糖(纯度 $\geq 98\%$):合肥博美生物科技有

限公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

JY98-IIIDN型超声波细胞粉碎机(探头直径20 mm):宁波新芝生物科技股份有限公司;FD-1A-50型冷冻干燥机:北京博医康实验仪器有限公司;Spectrum Two红外光谱仪:美国Perkin-Elmer公司;F-2500型荧光分光光度计:日本日立公司;Phenom Pro10102型扫描电镜:荷兰Phenom World公司;T18 ULTRA-TURRAX型高速均质机:德国IKA公司;DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器:巩义市予华仪器有限责任公司;MX-S可调式漩涡振荡器:大龙兴创实验仪器(北京)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 复合物的制备

分别用纯水配制0.1 mol/L阿拉伯糖、果糖和海藻糖溶液,用70%乙醇溶液配制10 mg/mL麦醇溶蛋白溶液,磁力搅拌使其完全混合。取一定量混合液,用纯水定容至300 mL,在300 W下超声处理15 min,超声过程利用冰水浴控制溶液温度在30℃以下,处理完毕后,样品冷冻干燥备用,分别制得超声阿拉伯糖-麦醇溶蛋白复合物(ultrasonics-gliadin-arabinose, U-Gli-Ara)、超声果糖-麦醇溶蛋白复合物(ultrasonics-gliadin-fructose, U-Gli-Fru)和超声海藻糖-麦醇溶蛋白复合物(ultrasonics-gliadin-trehalose, U-Gli-Tre)。

1.3.2 红外光谱的测定

将待测样品与溴化钾以质量比1:100混合研磨,压制薄片,使用红外光谱仪在波数4000 cm⁻¹~400 cm⁻¹范围内采集图谱,分辨率为4 cm⁻¹,总扫描次数为32次。

1.3.3 荧光光谱的测定

以天然麦醇溶蛋白为对照,使用荧光分光光度计测定超声处理麦醇溶蛋白及其复合物的荧光光谱。固定激发波长为280 nm,激发和发射狭缝宽度均设置为5 nm,扫描范围为300 nm~500 nm。

1.3.4 扫描电镜观察

将待测样品涂于双面导电胶上,在10 mA电流下喷金处理后置于扫描电子显微镜样品室,在15 kV加速电压扫描观察样品形貌,放大倍数为300倍和1000倍。

1.3.5 SDS-PAGE分析

参考Cao等^[12]的方法略作修改。将0.005 g样品溶解在1 mL上样缓冲液中,沸水浴10 min,冷却至室温(25℃)离心(10000 r/min, 5 min),取10 μL样品和预染彩虹蛋白(Marker)分别注入到凝胶泳道中进行电泳。电泳条件:浓缩胶过程电压为80 V,分离胶过程电压为120 V。

1.3.6 乳化活性及乳化稳定性的测定

参考Fan等^[13]的方法,取30 mL 1 mg/mL蛋白样液与

10 mL大豆油混合,利用均质机进行均质(18 000 r/min, 2 min),使两者充分混匀。从底部取出 50 μ L 乳液加入到 5 mL 1 mg/mL 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)溶液中,涡旋混匀,立即使用紫外可见分光光度计在 500 nm 处测量混合溶液的吸光度。根据以下公式计算麦醇溶蛋白及其复合物的乳化活性指数(emulsifying activity index, EAI)和乳化稳定性指数(emulsifying stability index, ESI)。

$$\text{EAI}/(\text{m}^2/\text{g}) = \text{DF} \times \frac{2 \times 2.303 \times A_0}{[c \times (1 - \theta) \times 10^4]}$$

$$\text{ESI}/(\text{min}) = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} \times t$$

式中:2为常数,代表乳液的界面面积是其浊度的2倍;2.303为ln 10的值;DF为乳液样品稀释倍数,100; A_0 为均质后0 min时的吸光度; c 为乳化前蛋白质样品的浓度,g/mL; θ 为油相的体积分数,0.25; A_{10} 为静置10 min后测得的吸光度; t 为时间,10 min。

1.4 MD 模拟

1.4.1 模型的构建

参考 Stănciuc 等^[14]同源建模的方法获取麦醇溶蛋白三维结构模型。首先在 UniProt 数据库中获取麦醇溶蛋白的氨基酸序列(Q9M4L6),然后提交氨基酸序列至 I-TASSER 服务器^[15-16]获取麦醇溶蛋白结构模型,最后采用 GROMACS(版本:2019.06)软件进一步退火平衡麦醇溶蛋白模型,选取平衡后的最优构象模型用于后续分子动力学模拟。

从 Pubchem 数据库中获得阿拉伯糖(ID:10323-20-3)、果糖(ID:136023275)和海藻糖(ID:7427)的初始分子结构模型。

1.4.2 分子动力学模拟参数

以麦醇溶蛋白和阿拉伯糖、果糖、海藻糖分别组成不同复合物结构模型,使用 GROMACS(版本:2019.06)软件^[17]进行分子动力学模拟,PyMOL(版本:2.4.0a0 open-source)软件进行可视化分析。利用 acpype.py^[18]调用 Ambertools 18 软件^[19],在 glycam06 力场下生成阿拉伯糖、果糖和海藻糖的拓扑文件和坐标文件,并在 Amber99SB-ILDN 力场下得到麦醇溶蛋白的拓扑和坐标文件。然后,将 Gli-Ara、Gli-Fru 和 Gli-Tre 分别封装在立方体盒子中,分子与盒子边缘的距离为 1.2 nm,加入 TIP3P 模型水,通过 Na^+ 或 Cl^- 中和体系电荷。在系统能量最小化后,设置 pH 值为 7.0,模拟温度为 25 $^{\circ}\text{C}$,并分别运行 20 ns,时间步长为 2 fs。最后,使用 GROMACS 软件自带工具计算低分子糖-麦醇溶蛋白复合物的均方根偏差(root mean square deviation, RMSD)和氢键数量;提取 15 ns~20 ns 的轨迹,每隔 40 ps 取一帧,共 125 帧,采用 gmx_mmpbsa 工具(<https://jerkwin.github.io/gmxtools/>)计算低分子糖-麦醇溶蛋白复合物的结合能,其计算公式^[20]如下。

$$\Delta G_{\text{binding}} = \Delta E_{\text{ele}} + \Delta E_{\text{vdw}} + \Delta G_{\text{polar}} + \Delta G_{\text{nonpolar}}$$

式中: $\Delta G_{\text{binding}}$ 为结合能,kJ/mol; ΔE_{ele} 为库仑静电相互作用能,kJ/mol; ΔE_{vdw} 为范德华相互作用能,kJ/mol; ΔG_{polar} 为极性溶剂化自由能,kJ/mol; $\Delta G_{\text{nonpolar}}$ 为非极性溶剂化自由能,kJ/mol。

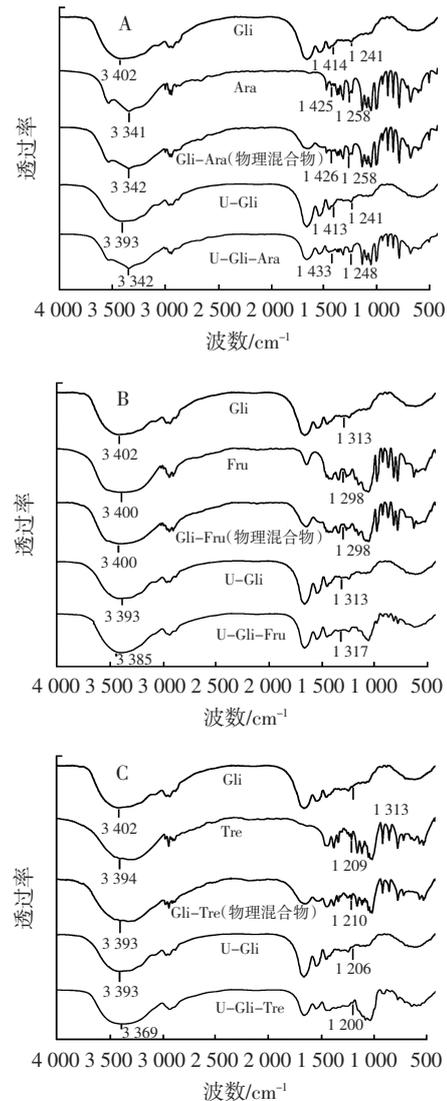
1.5 数据处理

试验均进行 3 次平行测定,结果以平均值 \pm 标准偏差表示。利用 SPSS 统计软件进行单因素 ANOVA 分析($p < 0.05$ 时为差异显著)。

2 结果与分析

2.1 红外光谱分析

图 1 为 Gli、U-Gli、U-Gli-Ara、U-Gli-Fru 和 U-Gli-Tre 的红外光谱。



A.U-Gli-Ara; B.U-Gli-Fru; C.U-Gli-Tre。

图 1 Gli、U-Gli 和超声处理复合物的红外光谱
Fig.1 Fourier transform infrared spectroscopy of Gli, U-Gli, and ultrasonic treatment complexes

由图1可知,Gli在 3402cm^{-1} 和 $1450\text{cm}^{-1}\sim 1200\text{cm}^{-1}$ 处存在的特征峰分别与O-H伸缩振动和酰胺III带中C-N拉伸和N-H弯曲振动有关^[21]。Gli经超声处理后,其在 3402cm^{-1} 处的特征吸收峰红移至 3393cm^{-1} ,表明超声处理使蛋白质分子内氢键发生改变。与U-Gli相比,U-Gli-Ara、U-Gli-Fru和U-Gli-Tre在 3393cm^{-1} 处的特征峰发生不同程度的蓝移或者红移($51\text{cm}^{-1}\sim 8\text{cm}^{-1}$),表明氢键诱导蛋白质与低分子糖之间的相互作用^[2]。同时,U-Gli-Ara复合物在 1413cm^{-1} 和 1241cm^{-1} 处的特征峰分别蓝移至 1433cm^{-1} 和 1248cm^{-1} ;U-Gli-Fru复合物在 1313cm^{-1} 处的特征峰蓝移至 1317cm^{-1} ;U-Gli-Tre复合物在 1206cm^{-1} 处的特征峰红移至 1200cm^{-1} ,表明低分子糖分别与麦醇溶蛋白的C-N基团和N-H基团发生相互作用。

2.2 荧光光谱分析

荧光光谱可反映蛋白质的构象变化,因此采用荧光光谱研究麦醇溶蛋白与低分子糖配体之间的相互作用及复合物结构变化。图2为Gli、U-Gli、U-Gli-Ara、U-Gli-Fru和U-Gli-Tre的内源荧光光谱。

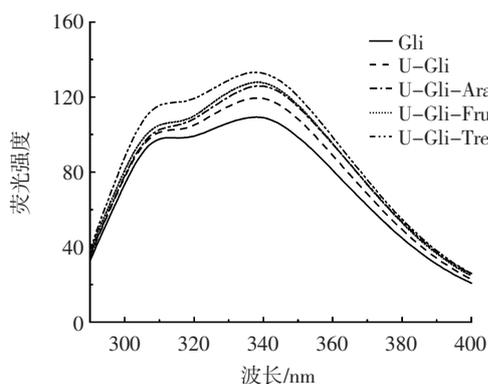


图2 Gli、U-Gli和超声处理复合物的荧光光谱

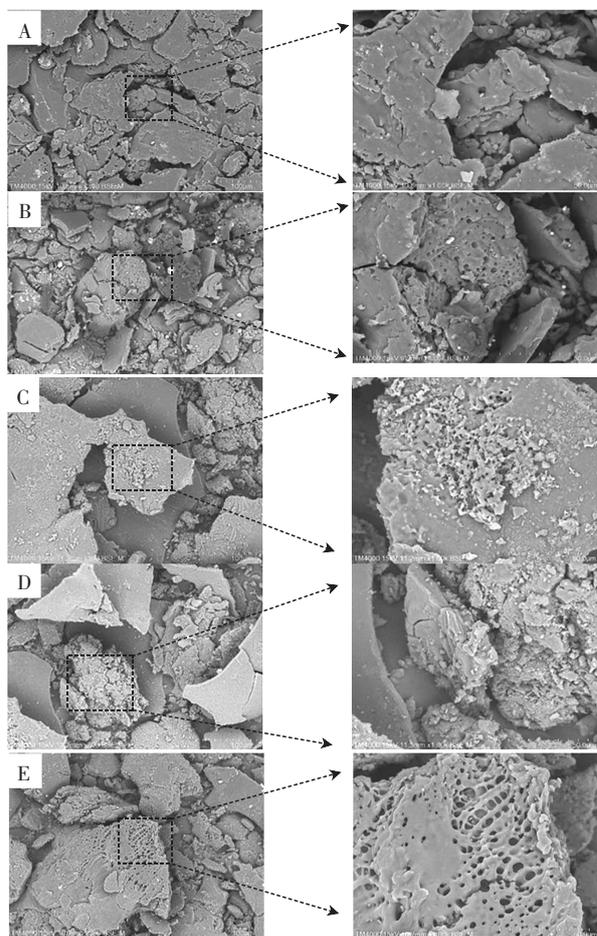
Fig.2 Fluorescence spectra of Gli, U-Gli, and ultrasonic treatment complexes

由图2可知,Gli在 334nm 处具有最大荧光发射峰,经超声处理后,荧光强度增加,表明麦醇溶蛋白分子部分变性,蛋白质结构展开^[23]。同时,U-Gli-Ara、U-Gli-Fru和U-Gli-Tre的荧光强度高于U-Gli,这可能是由于Gli与低分子糖之间发生相互作用,导致Gli结构发生改变,还可能是低分子糖覆盖在Gli表面,阻止了发色基团的暴露,这与Hu等^[24]的研究结果一致。此外,U-Gli-Tre复合物的荧光强度明显高于U-Gli-Ara和U-Gli-Fru,这可能是由于海藻糖羟基基团较多,与麦醇溶蛋白的亲合力更强。

2.3 扫描电镜分析

图3为Gli、U-Gli、U-Gli-Ara、U-Gli-Fru和U-Gli-Tre的扫描电镜图。

由图3A可知,Gli呈现出许多不规则的片段、小



A、B、C、D、E分别为Gli、U-Gli、U-Gli-Ara、U-Gli-Fru和U-Gli-Tre;放大倍数分别为300倍(左)和1000倍(右)。

图3 Gli、U-Gli和超声处理复合物的扫描电镜

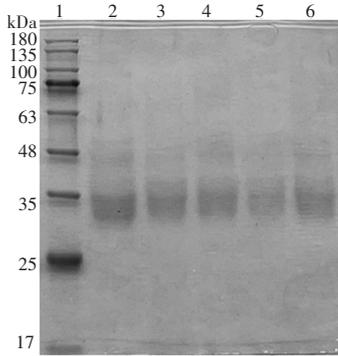
Fig.3 Scanning electron micrograph of Gli, U-Gli, and ultrasonic treatment complexes

间隙和大的球形聚集体,经超声处理后,U-Gli表现为孔洞状半球形结构(图3B),这可能是由于超声处理削弱了蛋白质分子内氢键和范德华力,导致麦醇溶蛋白形态变得松散多孔,其构象和二级结构发生变化^[25];与U-Gli相比,U-Gli-Ara表面孔径变得细小,样品纹理松散,呈现出蜂窝状(图3C);U-Gli-Fru表面球形聚集体形状变小,且呈现出大量小的聚集体(图3D);U-Gli-Tre出现连续的蜂窝状网络结构(图3E),表明低分子糖的引入可以抑制麦醇溶蛋白分子的聚集^[26]。

2.4 SDS-PAGE分析

通过分析SDS-PAGE探究低分子糖-麦醇溶蛋白复合物的分子量及蛋白质亚基组成变化。图4为聚丙烯酰胺凝胶电泳图。

由图4可知, α/β -麦醇溶蛋白分子量分布在 $30\text{kDa}\sim 35\text{kDa}$ ^[27],Gli在 35kDa 左右呈现出相应的特征带(泳道2)。同样,U-Gli(泳道3)与Gli(泳道2)在约 34kDa 处出现类似条带,表明超声处理对蛋白质分子量无明



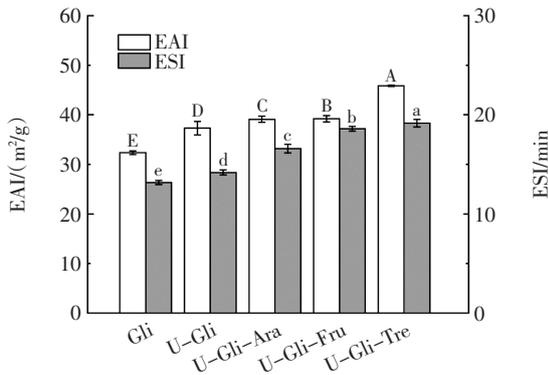
泳道 1-6 分别为标准蛋白 Marker、Gli、U-Gli、U-Gli-Ara、U-Gli-Fru 和 U-Gli-Tre。

图 4 Gli、U-Gli 和超声处理复合物的 SDS-PAGE 图谱
Fig.4 SDS-PAGE of Gli, U-Gli, and ultrasonic treatment complexes

显影响。此外,U-Gli-Ara(泳道 4)、U-Gli-Fru(泳道 5) 和 U-Gli-Tre(泳道 6)的条带与 U-Gli(泳道 3)相比无明显变化,即没有观察到蛋白质亚基的降解,分子量均在 34 kDa 左右,说明低分子糖不是通过降解麦醇溶蛋白分子来影响蛋白质结构^[28]。

2.5 乳化性能分析

乳化性作为重要的功能性质之一,与蛋白质的两亲性和分子结构特征有关^[23]。EAI 和 ESI 是反映蛋白质形成油水界面乳状液层能力和乳状液稳定性的重要指标。图 5 为 Gli、U-Gli、U-Gli-Ara、U-Gli-Fru 和 U-Gli-Tre 的 EAI 和 ESI 结果。



同一指标组间不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

图 5 Gli、U-Gli、U-Gli-Ara、U-Gli-Fru 和 U-Gli-Tre 乳化性
Fig.5 Emulsifying properties of Gli, U-Gli, U-Gli-Ara, U-Gli-Fru, and U-Gli-Tre

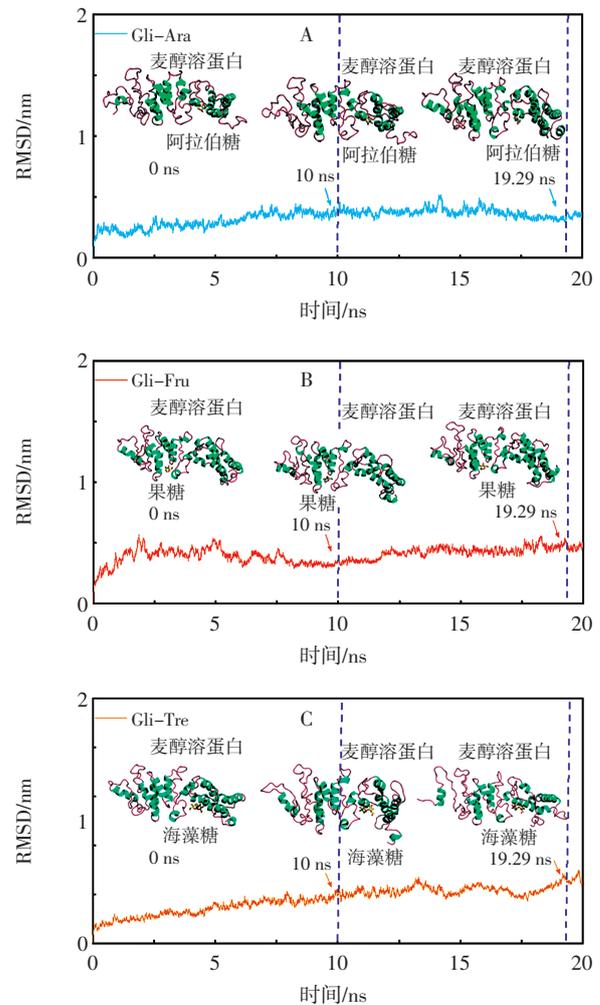
由图 5 可知,U-Gli 的 EAI 和 ESI 分别为 37.3 m²/g 和 14.2 min,较 Gli 分别提高了 15.4%和 7.6%,表明超声处理可以改善麦醇溶蛋白的乳化性能。这可能是因为超声处理后,蛋白质聚集体尺寸减小,使其在油水界面的吸附能力增强^[29]。此外,U-Gli-Ara、U-Gli-Fru 和 U-Gli-Tre 的 EAI 较 U-Gli 分别增加了约 4.8%、5.0% 和 22.9%,ESI 分别增加了约 17.0%、31.1%和 34.8%。

表明低分子糖的引入可以进一步提高麦醇溶蛋白的乳化性。这可能是由于复合物的结构展开,有利于快速吸附到油水界面,并且羟基基团的增加提高了蛋白质的亲水性^[30]。

2.6 MD 模拟

2.6.1 RMSD 分析

RMSD 能够反映复合物在模拟过程中的构象偏离其初始构象的程度^[31]。通过分析低分子糖-麦醇溶蛋白复合物中蛋白质骨架原子的 RMSD 随时间的变化趋势,以考察模拟过程中复合物体系的稳定程度。图 6 为 Gli-Ara、Gli-Fru 和 Gli-Tre 在 MD 模拟过程中的 RMSD 变化。



A.Gli-Ara; B.Gli-Fru; C.Gli-Tre。

图 6 Gli-Ara、Gli-Fru 和 Gli-Tre 在 MD 模拟过程中的 RMSD 变化

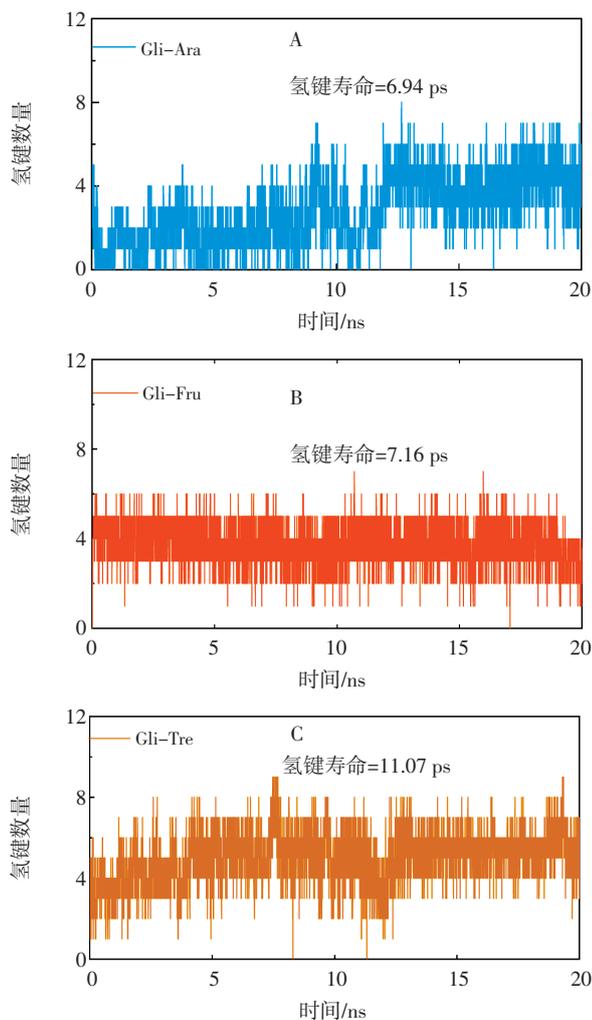
Fig.6 RMSD changes of Gli-Ara, Gli-Fru, and Gli-Tre during MD simulation

由图 6 可知,在 0~15 ns 范围内,3 种低分子糖与麦醇溶蛋白复合物的 RMSD 波动较大,且随着低分子糖链长的增加,RMSD 逐渐升高;在 15 ns 以后,三者逐

渐趋于平稳,此时 Gli-Ara、Gli-Fru 和 Gli-Tre 的 RMSD 分别维持在 0.36、0.45 nm 和 0.56 nm 左右,RMSD 曲线波动幅度变小,表明所有复合物体系稳定,可用于进一步分析氢键和结合能变化。

2.6.2 氢键分析

分子间氢键对蛋白质-配体之间的相互作用有重要贡献,且对维持复合物的稳定性有重要意义^[32-33]。图 7 为不同复合物 (Gli-Ara、Gli-Fru 和 Gli-Tre) 在 MD 模拟过程中形成的氢键数量随时间的变化。



A.Gli-Ara;B.Gli-Fru;C.Gli-Tre。

图 7 Gli-Ara、Gli-Fru 和 Gli-Tre 在 MD 模拟过程中氢键数目的变化

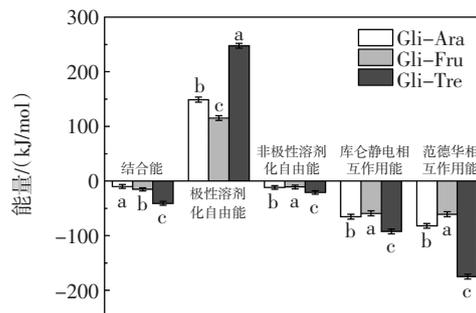
Fig.7 Changes in the number of hydrogen bonds in Gli-Ara, Gli-Fru, and Gli-Tre during MD simulations

由图 7 可知,在 MD 模拟达到平衡后(15 ns~20 ns), Gli-Ara、Gli-Fru 和 Gli-Tre 复合物的平均氢键寿命分别为 6.94、7.16 ps 和 11.07 ps,且 Gli-Ara、Gli-Fru 和 Gli-Tre 在大多数时间内分别出现 4、4 个和 6 个氢键,这可能是由于海藻糖分子羟基基团与麦醇溶蛋白形成了更多的分子间氢键,有利于维持复合物体系的稳

定性,这与红外光谱的结果一致(图 1)。

2.6.3 结合能分析

分子间结合能可用于衡量蛋白质和配体分子间结合亲和力,结合能越低,复合物构象相对越稳定^[32,34]。图 8 为在 MD 模拟平衡时间段内,Gli-Ara、Gli-Fru 和 Gli-Tre 复合体系中各项能量的贡献情况。



同一指标组间不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

图 8 Gli-Ara、Gli-Fru 和 Gli-Tre 在 MD 模拟过程中能量的变化
Fig.8 Energy changes of Gli-Ara, Gli-Fru, and Gli-Tre during MD simulation

由图 8 可知,Gli-Tre 复合物的结合能(-40.6 kJ/mol)低于 Gli-Fru 复合物(-15.2 kJ/mol)和 Gli-Ara 复合物(-9.9 kJ/mol),表明 Gli-Tre 复合物比 Gli-Fru 复合物及 Gli-Ara 复合物更稳定,这与超声处理后的 Gli-Tre 复合物的 ESI 高于 Gli-Fru 复合物与 Gli-Ara 复合物的结果一致(图 5)。此外,库仑静电相互作用能的变化趋势与范德华相互作用能相似,且后者表现为更低的负值,这与 Katouzian 等^[35]研究发现氢键和范德华相互作用是驱动 α -乳清蛋白与橄榄苦苷结合的主要作用力的结果一致,表明范德华力对维持麦醇溶蛋白与低分子糖形成的复合物的稳定性起主要作用,而 3 种复合物的极性溶剂化自由能均为正值,表明极性溶剂化自由能是阻碍低分子糖与麦醇溶蛋白结合的主要因素。

3 结论

本文研究了不同种类低分子糖对其与麦醇溶蛋白形成的复合物结构、稳定性及相互作用机制的影响。结果表明,海藻糖-麦醇溶蛋白复合物的 EAI 和 ESI 较麦醇溶蛋白分别增加了约 22.9%和 34.8%,表现出最佳的乳化性;红外光谱表明阿拉伯糖、果糖和海藻糖与麦醇溶蛋白之间存在氢键相互作用。此外,分子动力学模拟表明氢键与范德华力是驱动低分子糖和麦醇溶蛋白形成复合物的主要作用力,且海藻糖-麦醇溶蛋白复合物形成了更多的分子间氢键(6 个)和更低的结合能(-40.6 kJ/mol),有利于维持体系稳定性。综上,本文为提升麦醇溶蛋白加工品质以及进一步研究低分子糖-麦醇溶蛋白复合性能提供理论参考。

参考文献:

- [1] MEHANNA M M, MNEIMNEH A T. Updated but not outdated 'Gliadin': A plant protein in advanced pharmaceutical nanotechnologies[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2020, 587: 119672.
- [2] PÉROT M, LUPI R, GUYOT S, et al. Polyphenol interactions mitigate the immunogenicity and allergenicity of gliadins[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(31): 6442–6451.
- [3] LI M F, HE Z Y, LI G Y, et al. The formation and characterization of antioxidant Pickering emulsions: Effect of the interactions between gliadin and chitosan[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 90: 482–489.
- [4] HE W J, CHEN N, YU Z L, et al. Gliadin interacted with tea polyphenols: Potential application and action mechanism[J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2022, 73(6): 786–799.
- [5] WANG Y L, YANG J J, DAI S C, et al. Formation of soybean protein isolate–hawthorn flavonoids non-covalent complexes: Linking the physicochemical properties and emulsifying properties[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 84: 105961.
- [6] DYRDA–TERNIUK T, SUGAJSKI M, PRYSHCHEPA O, et al. The study of protein–cyclitol interactions[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(6): 2940.
- [7] PAN M Z, MENG X J, JIANG L Z, et al. Effect of cosolvents (polyols) on structural and foaming properties of soy protein isolate[J]. *Czech Journal of Food Sciences*, 2017, 35(1): 57–66.
- [8] SEMENOVA M G, ANTIPOVA A S, BELYAKOVA L E. Food protein interactions in sugar solutions[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2002, 7(5/6): 438–444.
- [9] HUO Y, HOU X Y, YU Y Z, et al. Improving the thermal and oxidative stability of food-grade phycocyanin from *Arthrospira platensis* by addition of saccharides and sugar alcohols[J]. *Foods*, 2022, 11(12): 1752.
- [10] LIU X Y, QIN X L, WANG Y H, et al. Physicochemical properties and formation mechanism of whey protein isolate–sodium alginate complexes: Experimental and computational study[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 131: 107786.
- [11] FENG Y L, FENG X J, LIU S C, et al. Interaction mechanism between cereal phenolic acids and gluten protein: Protein structural changes and binding mode[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2022, 102(15): 7387–7396.
- [12] CAO H W, SUN R L, SHI J R, et al. Effect of ultrasonic on the structure and quality characteristics of quinoa protein oxidation aggregates[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2021, 77: 105685.
- [13] FAN Y T, PENG G F, PANG X, et al. Physicochemical, emulsifying, and interfacial properties of different whey protein aggregates obtained by thermal treatment[J]. *LWT–Food Science and Technology*, 2021, 149: 111904.
- [14] STĂNCIUC N, BANU I, BOLEA C, et al. Structural and antigenic properties of thermally treated gluten proteins[J]. *Food Chemistry*, 2018, 267: 43–51.
- [15] YANG J Y, ZHANG Y. I-TASSER server: New development for protein structure and function predictions[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(W1): W174–W181.
- [16] ZHANG C X, FREDDOLINO P L, ZHANG Y. COFACTOR: improved protein function prediction by combining structure, sequence and protein–protein interaction information[J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(W1): W291–W299.
- [17] ABRAHAM M J, MURTOLO T, SCHULZ R, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers[J]. *SoftwareX*, 2015, 1: 19–25.
- [18] SOUSA DA SILVA A W, VRANKEN W F. ACPYPE–AnteChamber *Python* parser interface[J]. *BMC Research Notes*, 2012, 5: 367.
- [19] CASE D A, CHEATHAM T E I, DARDEN T, et al. The Amber biomolecular simulation programs[J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2005, 26(16): 1668–1688.
- [20] SHARMA J, KUMAR BHARDWAJ V, SINGH R, et al. An in-silico evaluation of different bioactive molecules of tea for their inhibition potency against non structural protein–15 of SARS–cov–2[J]. *Food Chemistry*, 2021, 346: 128933.
- [21] ZHOU Y, TENG F, TIAN T, et al. The impact of soy protein isolate–dextran conjugation on *Capsicum* oleoresin (*Capsicum annuum* L.) nanoemulsions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 108: 105818.
- [22] YANG Y X, WANG Q M, LEI L, et al. Molecular interaction of soybean glycinin and β -conglycinin with (–)-epigallocatechin gallate induced by pH changes[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 108: 106010.
- [23] SUN X Y, ZHANG W, ZHANG L F, et al. Effect of ultrasound-assisted extraction on the structure and emulsifying properties of peanut protein isolate[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(3): 1150–1160.
- [24] HU C, XIONG H G. Structure, interfacial adsorption and emulsifying properties of potato protein isolate modified by chitosan[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022, 638: 128314.
- [25] ZHANG J, LUO D L, XIANG J L, et al. Structural variations of wheat proteins under ultrasound treatment[J]. *Journal of Cereal Science*, 2021, 99: 103219.
- [26] HAO Z Z, PENG X Q, TANG C H. Edible Pickering high internal phase emulsions stabilized by soy glycinin: Improvement of emulsification performance and Pickering stabilization by glycation with soy polysaccharide[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 103: 105672.
- [27] WELC R, LUCHOWSKI R, KŁOSOK K, et al. How do phenolic acids change the secondary and tertiary structure of gliadin? Studies with an application of spectroscopic techniques[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(11): 6053.
- [28] 李甜, 张珊, 李孟华, 等. 低压静电场对凡纳滨对虾多酚氧化酶性质影响[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(19): 52–58.
- LI Tian, ZHANG Shan, LI Menghua, et al. Effect of low voltage electrostatic field on polyphenol oxidase of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(19): 52–58.
- [29] O'SULLIVAN J, PARK M, BEEVERS J. The effect of ultrasound upon the physicochemical and emulsifying properties of wheat and soy protein isolates[J]. *Journal of Cereal Science*, 2016, 69: 77–84.
- [30] XI C Y, KANG N X, ZHAO C H, et al. Effects of pH and different sugars on the structures and emulsification properties of whey protein isolate–sugar conjugates[J]. *Food Bioscience*, 2020, 33: 100507.
- [31] ZHAO R C, QIN X L, ZHONG J F. Interaction between curcumin and β -casein: Multi-spectroscopic and molecular dynamics simulation methods[J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2021, 26(16): 5092.
- [32] 王翠萍, 晁琛, 王书军. 基于分子动力学模拟研究淀粉与脂质和蛋白质的相互作用:现状分析与未来趋势[J]. *食品与生物技术学报*, 2022, 41(7): 44–56.
- WANG Cuiping, CHAO Chen, WANG Shujun. Investigating the interactions between starch, lipids and proteins based on molecular dynamic simulation: Current situation and future trends[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2022, 41(7): 44–56.
- [33] QIN X L, ZHONG J F, WANG Y H. A mutant T1 lipase homology modeling, and its molecular docking and molecular dynamics simulation with fatty acids[J]. *Journal of Biotechnology*, 2021, 337: 24–34.
- [34] SAHOO B R, MAHARANA J, PATRA M C, et al. Structural and dynamic investigation of bovine folate receptor alpha (FOLR1), and role of ultra-high temperature processing on conformational and thermodynamic characteristics of FOLR1–folate complex[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014, 121: 307–318.
- [35] KATOZIAN I, JAFARI S M, MAGHSOUDLOU Y, et al. Experimental and molecular docking study of the binding interactions between bovine α -lactalbumin and oleuropein[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 105: 105859.