DOI:10.13652/j.spjx.1003.5788.2025.80068

啤酒花来源的α-酸/黄腐酚与蛋白质Z相互作用 及构效关系表征

王立敏! 彭孟妍! 马长伟2 吴子健!

(1. 天津商业大学生物技术与食品科学学院,天津 300134;2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院,北京 100083)

摘要:[目的]探究两种结构不同的酒花小分子(α-酸和黄腐酚)与大麦蛋白质 Z之间的相互作用机理及两者的构效关系。[方法]利用溶剂浸提和阴离子交换柱分别制备了纯度较高的α-酸和蛋白质 Z;采用多重光谱表征了α-酸/黄腐酚与 蛋白质 Z之间的相互作用及蛋白质的构象变化;通过分子动力学模拟对α-酸/黄腐酚与蛋白质 Z的交互模式和分子结 合机制进一步探究。[结果]α-酸和黄腐酚均可猝灭蛋白质 Z的内源性荧光,且α-酸表现为红移,黄腐酚表现为蓝移,两 种分子的结合化学计量均接近1:1;分子动力学结果显示,两种酒花小分子与蛋白质 Z之间的作用力以氢键和疏水相 互作用为主。[结论]黄腐酚对蛋白质 Z的结合亲和力强于α-酸。

关键词:啤酒花;黄腐酚;α-酸;蛋白质Z;互作机制;分子动力学模拟;构效关系

Interaction and structure-activity relationship characterization of hop-derived α-acid/xanthohumol and protein Z

WANG Limin¹ PENG Mengyan¹ MA Changwei² WU Zijian¹

(1. School of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China;

2. College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] To investigate the interaction mechanism and structure-activity relationship between two hop-derived small molecules different in structure (α -acid and xanthohumol) and barley protein Z. [Methods] α -acid and protein Z with high purity are prepared through solvent extraction and anion exchange column, respectively. The interaction between α -acid/xanthohumol and protein Z, as well as the conformational change of protein, is characterized by multi-spectral analysis. Finally, the interaction mode and molecular binding mechanism between α -acid/xanthohumol and protein Z are further investigated by molecular dynamics simulation. [Results] Both α -acid and xanthohumol can effectively quench the intrinsic fluorescence of protein Z, with α -acid inducing a red shift and xanthohumol causing a blue shift in fluorescence spectra. Additionally, the binding stoichiometry for both molecules approaches 1: 1. The molecular dynamics results reveal that hydrogen bonds and hydrophobic interactions are the main forces between the two hop-derived small molecules and protein Z. [Conclusion] Xanthohumol exhibits a stronger affinity toward protein Z compared to α -acid.

Keywords: hop; xanthohumol; α-acid; protein Z; interaction mechanism; molecular dynamics simulation; structure-activity relationship

啤酒花被称为啤酒酿造的"灵魂",不仅赋予啤酒独特的苦味和香气,更是调控啤酒稳定性与货架期的关键

功能成分^[1]。此外,啤酒花还含有丰富的生物活性物质, 且最有效活性成分是在酒花蛇麻腺的软树脂中合成并分

基金项目:天津市教委科研计划项目(编号:2023KJ208)

通信作者:王立敏(1990一),女,天津商业大学讲师,博士。E-mail: wlm0218@tjcu.edu.cn

吴子健(1973一),男,天津商业大学教授,博士。E-mail: wzjian@tjcu.edu.cn

收稿日期:2025-02-03 改回日期:2025-06-08

引用格式:王立敏,彭孟妍,马长伟,等.啤酒花来源的α-酸/黄腐酚与蛋白质Z相互作用及构效关系表征[J].食品与机械,2025,41 (6):9-16.

Citation:WANG Limin, PENG Mengyan, MA Changwei, et al. Interaction and structure-activity relationship characterization of hopderived α-acid/xanthohumol and protein Z[J]. Food & Machinery, 2025, 41(6): 9-16.

泌^[2]。酒花苦味化合物主要包括苦味酸、异戊烯基黄酮和 多酚化合物。α-酸作为啤酒花软树脂中最主要的苦味酸, 也是衡量啤酒花品种和质量最重要的参数,根据其酰基 侧链结构的差异,α-酸主要包括3种同系物,分别是葎草 酮、合葎草酮和加葎草酮。此外,近年来研究发现,啤酒 花异戊烯基查尔酮类化合物(几乎为啤酒花所特有)展现 出独特的生物活性^[3],黄腐酚作为酒花中含量最丰富的异 戊烯基查尔酮化合物,已被挖掘出多方面的生理功效,包 括大脑神经疾病、乳腺癌、卵巢癌、胃肠疾病等^[4]。然而, α-酸和黄腐酚作为典型的两种结构不同的酒花活性小分 子,虽然结构和理化特性已明确,但存在稳定性差、溶解 度低等问题,且在啤酒复杂体系中与其他大分子比如泡 沫蛋白质之间的相互关系目前尚未明确。

大麦(Hordeum vulgare L)作为啤酒酿造的主要原料, 是世界上种植最广泛的作物之一,2023年大麦的全球产 量约为1.56亿t^[5]。然而,大麦目前主要用于啤酒酿造,严 重限制了在其他领域的商业价值。大麦蛋白具有良好的 功能特性(乳化稳定性、起泡性和保水能力等)及均衡的 氨基酸组成(必需氨基酸占比>35%),被视为极具开发潜 力的植物蛋白资源^[6]。其中,蛋白质Z作为大麦胚乳中的 一种主要蛋白质,因其较高的表面黏度和弹性特性,在啤 酒泡沫稳定中发挥重要的角色^[7]。Han等^[8]通过红外光 谱证实蛋白质 Z 的二级结构构象在啤酒酿造糖化过程中 发生了动态变化,这种构象变化显著提升其界面活性,使 其更有利于啤酒泡沫稳定性。Lu等^[9]发现蛋白质Z与酒 花小分子异葎草酮存在疏水相互作用,这表明蛋白质Z在 啤酒复杂体系中可能与酒花其他苦味小分子也存在相互 关联。因此,深入探究蛋白质Z与两种结构不同的酒花分 子(α-酸和黄腐酚)之间互作关系,不仅可以为探究啤酒泡 沫稳定性提供新的视角,同时对进一步明晰蛋白质 Z-酒 花小分子复合物的结构及对啤酒品质的影响是十分必 要的。

研究拟以啤酒酿造原料 α-酸/黄腐酚与蛋白质 Z 为研 究对象,借助多重光谱以及计算机模拟等技术手段,揭示 酒花结构不同的 α-酸/黄腐酚与蛋白质 Z 之间的相互作 用,深入分析 α-酸/黄腐酚与蛋白质 Z 的互作机理与构效 差异。旨在从分子水平上探究蛋白质 Z 与酒花苦味小分 子之间的交互作用对复合体系结构的影响及对酒花活性 小分子可能的稳态化作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

基础澳麦:欧麦(保定)麦芽有限公司; CO₂啤酒花浸膏:巴特哈斯有限公司; α-酸标准品、黄腐酚(≥96%):美国酿酒协会; 甲醇、乙腈、甲酸:色谱级,美国 Thermo Fisher Scientific公司;

其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计:N4型,上海仪电分析仪器有限 公司;

荧光分光光度计:FLS1000型,英国爱丁堡公司;

高效液相色谱仪:1260型,日本岛津公司;

麦芽粉碎机:DLEU-EBC型,北京德之杰啤酒技术有限责任公司;

蛋白纯化仪:358BR2726型,美国BIO-RAD公司;

电泳槽: Power Pac Basic TM型,美国 BIO-RAD 公司;

色谱柱:ZORBAX Eclipse CDB-C₁₈型,安捷伦科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 酒花苦味分子及蛋白质Z的制备

(1) α -酸的制备及纯度鉴定: α -酸的制备参考 Taniguchi等^[10]的方法略作修改。将100g啤酒花浸膏溶 解到0.75L正己烷中,加入1L0.24 mmol/L的碳酸钠使其 分层。对上述溶液进行分离,水相用6 mol/L盐酸滴定, 当溶液 pH达到1~2时停止滴加盐酸,此时黏稠膏状的 α -酸析出,将得到的 α -酸溶解于乙醚中。最后用饱和 NaCl水洗,并利用无水 NaSO4干燥处理,溶剂蒸发得到 α -酸产品,利用HPLC对样品进行鉴定纯度。HPLC洗脱 条件参考赵素华等^[11]的方法并加以修改。流动相A为纯 甲醇;流动相B为甲醇—水—冰醋酸溶液($V_{\rm PHB}$: V_{κ} : $V_{\kappa \rm HBB}$ = 75.0:24.8:0.2)。泵A流量为0.4 mL/min,泵B流量为 0.2 mL/min,采用等度洗脱的方式,洗脱20 min,检测波长 314 nm。

(2) 蛋白质 Z 的制备及纯化:蛋白质 Z 的制备参考 Wang等^[12]的方法。称取80g基础麦芽经粉碎后倒入烧 杯中,并加入450 mL水,常温搅拌3h,经滤纸过滤得到麦 汁。将得到的麦汁进行盐析处理,首先加入40%饱和度 的硫酸铵,混匀、4℃静止过夜,8000×g离心10min去除 杂蛋白沉淀,然后继续加入硫酸铵使饱和度达到60%,混 匀、4℃静止过夜,8000×g离心10min收取蛋白质Z沉 淀。将蛋白质 Z 复水并在 95 ℃下加热 30 min 进一步除 杂,10000×g离心10min得到蛋白质Z的粗提物。阴离 子交换柱进一步纯化蛋白质 Z:用 50 mmol/L Tris-HCl缓 冲液(pH 7.0)平衡 DEAE-Sepharose 柱(10 mm×30 cm), 将蛋白质Z粗提液(体积约为10mL)上柱后,再次用相同 的缓冲液冲洗2~3个柱体积,除去部分杂蛋白。然后使用 含 0~1 mol/L NaCl Tris-HCl缓冲液(50 mmol/L, pH 7.0)对 样品进行梯度洗脱,分管收集。调节流速为0.5 mL/min。 采用考马斯亮蓝染色法对蛋白质Z进行定量分析。利用 SDS-PAGE检测蛋白质Z的纯度,SDS-PAGE具体试验操 作参考 Wang 等^[12]的方法。

1.3.2 紫外全波长扫描 将质量浓度 2.0 mg/mL 的样品 溶液置于石英比色皿中,利用紫外可见分光光度计进行 紫外全波长扫描,扫描波长 245~325 nm,狭缝 1.0 mm,采 样间隔 0.5 nm,慢速扫描,用 Origin 软件分析处理数据。

1.3.3 圆二色谱分析 蛋白质 Z浓度为 2.5 μmol/L, α-酸 和黄腐酚浓度为 0~80 μmol/L。测定前将混合好的溶液移 入直径为 1 mm 的石英比色皿中。扫描速度设置为 100 nm/min,扫描范围为 190~260 nm,每个样品扫描 3 次。 利用圆二色谱仪自带的 CDNN 软件对蛋白质的二级结构 含量进行分析。

1.3.4 荧光滴定 首先利用 0.02 mol/L pH 6.9 的 PBS 配 制 1.0 μmol/L 的蛋白质 Z 溶液,向 1 mL 的蛋白质 Z 溶液中 逐渐加入 1 μL 1.0 mmol/L 的α-酸/黄腐酚。荧光滴定参数 设置:波长扫描范围 290~450 nm,激发波长 282 nm,激发 狭缝宽度 2.5 nm,发射狭缝宽度 2.5 nm,等量二甲基亚砜 (DMSO)滴定作为对照。

1.3.5 计算机模拟 蛋白质 Z的同源模型从 PDB 数据库 获得(https://www.rcsb.org; PDB ID: 3LE2)。蛋白质Z的 同源模型构建采用在线软件 SWISS-MODEL (https:// swissmodel. expasy. org/)。并利用基于 PROCHECK 的 savesv6.0软件(https://saves.mbi.ucla.edu/)对得到蛋白质 Z的3D结构质量进行评估以获得合理的蛋白质Z的3D 结构。 α -酸和黄腐酚的 3D 结构来自 BitterDB(http:// bitterdb.agri.huji.ac.il/dbbitter.php)。在分子对接前利用 FTMap(http://ftmap.bu.edu)软件的16分子探针确定蛋白 质Z的结合位点^[13],利用AutoDock 4.2软件完成蛋白质Z 与α-酸/黄腐酚的分子对接。对上述在最佳结合姿势下获 得的复合物利用 Gromacs 2019.5 软件进行分子动力学模 拟分析。利用拓扑文件构建软件(http://atb.uq.edu.au/)生 成反应体系的拓扑文件。利用 leap-frog 算法对牛顿方程 的运动进行积分,采用 particle mesh Ewald 方法计算远程 静电力^[14]。对每个系统进行400 ns的分子动力学模拟, 模拟过程中每10 ps记录相应体系的运动轨迹。通过 VMD(http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/)和LigPlot+ (https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LigPlus/) 软 件进行可视化分析。

1.4 数据统计

数据统计处理使用 IBM SPSS 22.0 分析软件(22.0, SPSS Inc., Chicago, IL)进行分析,每个样品的试验重复 3 次,试验结果表示为平均值土标准偏差。作图采用 Origin 2019和 GraphPad Prism 8 软件。数据显著性差异 分析是通过单因素方差分析(One-way ANOVA)和 Tukey 事后检验,其中P < 0.05为差异显著。

2 结果与分析

2.1 α-酸及蛋白质 Z 的制备

从酒花浸膏中提取得到α-酸的 HPLC 色谱图如图 1 所示。色谱图的 3 个峰分别代表α-酸中含量最高的 3 种 同系物合葎草酮、正葎草酮、加葎草酮^[15]。根据峰面积和 回归方程计算得到α-酸样品的纯度为(70.21±1.02)%。 该试验得到的α-酸纯度相对偏低,原因可能是α-酸提取 过程中,制备得到的α-酸呈黏稠膏状,影响了后期的试验 操作及相关的量化计算。

从大麦芽中提取到的蛋白质 Z 粗提物, 经硫酸铵沉 淀, 90 ℃加热 30 min 预纯化和离子交换层析进一步纯化 得到蛋白质 Z。图 2 是纯化后蛋白质-Z 的 SDS-PAGE 凝 胶电泳图。从图 2 可以看出, 相对分子质量 43 是 SDS-PAGE 凝胶图上最丰富的条带, 与 Niu 等^[7]报道的蛋白质 Z 的条带一致。说明从大麦芽中成功分离并纯化出了蛋 白质 Z。





图 2 纯化后蛋白质 Z 的凝胶电泳图 Figure 2 SDS-PAGE of purified protein Z

2.2 紫外全波长扫描

紫外可见吸收光谱是探究蛋白质与小分子之间相互 作用常用的方法之一,可用于研究溶液状态下蛋白质构 象变化。紫外吸收光谱主要由侧链上的色氨酸、酪氨酸, 以及组氨酸、苯丙氨酸和半胱氨酸侧链基团决定,蛋白暴 露的芳香族氨基酸越多,紫外吸收强度越强^[16]。 α -酸/黄 腐酚对蛋白质Z紫外光谱的影响如图3所示,蛋白质Z在 280 nm 左右出现最大吸收峰值,这与 β 乳球蛋白的特征 峰相似^[17]。加入 α -酸/黄腐酚后,复合物体系中280 nm 处 的峰值明显减小,推测是因为蛋白质Z与 α -酸/黄腐酚之 间产生强烈的相互作用,导致蛋白质Z发生折叠,蛋白质 的折叠使更多的芳香族氨基酸残基转移到蛋白质的 内部^[18]。



图3 蛋白质 Z、α-酸-蛋白质 Z、黄腐酚-蛋白质 Z的 紫外-可见光谱扫描图

Figure 3 UV-Vis spectra of protein Z, α -acid-protein Z, and xanthohumol-protein Z

2.3 圆二色谱分析

利用圆二色谱分析了α-酸/黄腐酚的结合对蛋白质 Z 二级结构的变化。如图4所示,蛋白质 Z的圆二光谱图在 208,222 nm 处出现双负峰,说明蛋白质 Z 为典型的α-螺 旋结构^[19]。蛋白质 Z 与α-酸/黄腐酚结合后,圆二光谱图 发生明显改变[图4(a)和图4(b)],且随着α-酸/黄腐酚含 量的增加,蛋白质的两个负峰均减小,说明两种小分子影 响了蛋白质Z的蛋白构象,改变了蛋白质的二级结构。

对两个复合体系中蛋白质Z的二级结构进行定量计 算(见表1)。结果发现,对于 α -酸一蛋白质Z复合体系, 随着α-酸含量提高,蛋白中α-螺旋含量呈下降趋势,当 β-转角和无规卷曲含量则分别从17.6%和32.9%上升至 29.5% 和 46.4%, 然后又降至 28.0% 和 45.5%, 该现象说明 α-酸一蛋白质 Z 之间的互作导致蛋白质 Z 的二级结构变 得相对松散^[18]。而对于黄腐酚一蛋白质Z复合体系,蛋 白质 Z 与黄腐酚结合后发生了蓝移,且在 200~230 nm 范 围内的峰强显著减小,表明蛋白质Z与黄腐酚的结合使其 α -螺旋结构发生了损失^[20],表1中的蛋白质Z二级结构的 含量也证实了该结果,即蛋白质Z与黄腐酚的互作导致其 α-螺旋结构含量减少(30.1%~16.4%)和β-折叠结构含量 的增加(17.6.9%~20.9%),与朱颖等^[21]的结果一致,即黑 米花青素诱导 SPI 中α-螺旋部分转变为β-折叠,这可能由 于小分子结合至蛋白质的疏水区域中,并诱导多肽链二 级结构单元间氢键发生重排,导致α-螺旋含量的下降及 β -折叠含量的上升,从而产生了更稳定的构象^[22]。

2.4 荧光滴定分析

2.4.1 荧光猝灭 荧光猝灭是指蛋白质中的发色氨基酸 如色氨酸(Trp)和酪氨酸(Tyr)受到280或295 nm的激发 光会产生荧光,此荧光特性对微环境的改变很敏感,当微 环境发生变化时,荧光强度会随之改变,从而反映出蛋白 质的构象和三级结构变化^[23]。因此,为了探究α-酸/黄腐 酚与蛋白质Z的结合对 Trp 残基周围微环境的影响,对两 个复合体系进行了荧光滴定试验。图5(a)和图5(b)显示,随着α-酸/黄腐酚浓度的增大(0~10 μmol/L),蛋白质Z 的荧光强度逐渐猝灭,当α-酸/黄腐酚的浓度达到 10 μmol/L时,蛋白质Z荧光强度的猝灭率分别为86.5%, 81.1%,表明α-酸/黄腐酚与蛋白质Z之间存在相互作用,



图4 复合体系的圆二色谱

Figure 4 Circular CD spectra of composite system

		2		1	
复合体系	<i>n</i> _{蛋白质} :	<i>α</i> -螺	β-转	<i>β-</i> 折	无规卷
	n_{Λ}	旋/%	角/%	叠/%	曲/%
α-酸一蛋白	1:0	30.1	19.0	17.6	32.9
质Z	1:1.6	19.6	28.1	19.9	43.7
	1:8	19.0	28.1	20.5	44.1
黄腐酚一蛋 白质 Z	1:16	18.7	29.5	20.0	46.4
	1:32	18.0	28.0	21.4	45.5
	1:0	30.1	19.0	17.6	32.9
	1:1.6	19.6	28.2	19.9	43.9
	1:8	18.6	29.6	20.2	45.4
	1:16	17.7	30.8	20.5	46.7
	1:32	16.4	32.7	20.9	48.3

表1 蛋白质Z的二级结构含量 Table 1 Secondary structure content of protein Z

且均表现出浓度依赖性。且α-酸与蛋白质Z结合后,蛋白 质Z的最大发射波长发生轻微红移(323~328 nm)。而蛋 白质 Z 与黄腐酚结合后,其最大发射波长发生明显蓝移 (323~314 nm),表明氨基酸附近的微环境极性减弱,疏水 性增强,与Xia等^[24]的研究结果一致。综上,α-酸和黄腐



图5 α-酸和黄腐酚对蛋白质Z内源荧光光谱和化学计量的影响

Figure 5 Effects of α -acid and xanthohumol on the intrinsic fluorescence spectra and stoichiometry of protein Z

酚的处理改变了蛋白质 Z的三级结构,影响内部氨基酸 残基的微环境[25]。

2.4.2 α-酸/黄腐酚与蛋白质Z结合的化学计量及结合常 为了确定α-酸/黄腐酚与蛋白质Z结合的结合能力, 数 采用荧光滴定法监测 α-酸/黄腐酚对蛋白质 Z 内源性荧光 的动态变化。通过式(1)对图 5(a)和图 5(b)中的荧光数 据进行非线性拟合,分别获得两个复合体系的化学计量 参数和结合常数。

$$I = I_{0} - \frac{I_{0} - I_{\infty}}{2n [P]_{0}} \times \left[\frac{1}{K} + [X]_{0} + n [P]_{0} - \left(\frac{1}{K} + [X]_{0} + n [P]_{0} \right)^{2} - 4n [X]_{0} [P]_{0} \right],$$
(1)

式中:

 $\sqrt{}$

n——结合数;

K——结合常数,L/mol;

 I_0, I_{α} ——不含 α -酸、黄腐酚和含 α -酸、黄腐酚时蛋白 质 Z 的荧光强度:

[P]、[X] — 蛋白质 Z 和 α-酸、黄腐酚的浓度, μ mol/L $_{\circ}$

由图 5(c)和图 5(d)可知, α -酸与蛋白质 Z 的结合化学



计量比为 1.37 ± 0.28 ,结合常数 K 为 (1.57 ± 0.13) × 10^{5} L/mol;而黄腐酚体系的化学计量比为 1.21 ± 0.42 ,结合常数 K 为 (1.64 ± 0.17) × 10^{5} L/mol,与文献[26]中蛋白质 Z 与阿魏酸的结合能力相似(4.99× 10^{5} L/mol)。值得注意的是,该研究中黄腐酚较 α-酸具有更大的结合常数值,并大于 10^{4} 数量级,说明蛋白质 Z 与两种小分子之间可能存在特异性相互作用,且黄腐酚对蛋白质 Z 的结合亲和力强于 α-酸。此外,从结合位点数分析,两类复合物的结合位点数均接近于 $1(\alpha$ -酸一蛋白质 Z、黄腐酚一蛋白质 Z 复合物的结合位点数分别为 1.37, 1.21),符合 1:1 化学计量结合模型,暗示蛋白质 Z 可能通过单一结合位点与两个小分子形成静态复合物^[27]。

2.5 分子动力学模拟

2.5.1 蛋白质 Z 的同源模型结构评估 由于蛋白质 Z 尚 未有晶体结构,因此首先通过同源建模方法,构建稳定 可靠的蛋白质 Z 三维结构模型。并采用 Ramachandran 图对构建的蛋白质 Z 模型进行同源性评价^[28]。Ramachandran 图主要分为 3 个区域,允许区(深色区),最大允许 区(浅色区)和不允许区(空白区)。如图 6 所示,在构建 的蛋白质 Z 模型的 Ramachandran 图中,棕色区域是核心 区,该区构象代表立体化学允许区,化学结构可以稳 定存在。红色区域是最大允许区,该区构象代表在立体 化学中可以存在,但是结构不稳定。空白区是立体化学 不允许的,代表结构不能存在。经定量分析显示(拉式 图数据),构建的蛋白质 Z 模型中 92.2%的氨基酸残基位 于最大允许区,6.9% 位于允许区域,仅 0.6% 位于一般允 许区。与同类研究对比(典型合格模型>90% 残基位于 允许区),该结构模型显示出优异的立体化学参数^[29],表 明通过同源建模构建的蛋白质 Z 三维结构是可靠合 理的。





2.5.2 α-酸/黄腐酚与蛋白质Z的结合分子动力学 基于 分子动力学模拟(molecular dynamics, MD)技术,系统表 征了α-酸/黄腐酚一蛋白质Z复合物的动态结合行为。首 先通过计算均方根偏差(root mean square deviation, RMSD)评估两个复合体系的结构稳定性。如图7(a)和 图7(b)所示,游离蛋白质、配体及复合物体系在模拟80 ns 左右后,RMSD均达到了稳定值,说明两个复合物体系达 到了平衡稳定状态,表明α-酸/黄腐酚与蛋白质Z均可以 形成稳定的复合物^[30]。

从三维结合构象分析(图8), a-酸与黄腐酚均嵌入到 蛋白质Z的疏水腔内部,且黄腐酚的结合更接近蛋白质Z 的内部,这与荧光试验的推测结果一致,即黄腐酚对蛋白 质Z的结合亲和力强于 a-酸。二维结合模式进一步揭示 两个体系之间的结合差异,在黄腐酚一蛋白质Z体系中, 氨基酸残基Asn37、Val337、Lys290、Glu338、Val339、 Phe190、Lys288、Phe376和Ala39通过形成疏水作用参与 了两者的结合(图 8 中弧形睫毛);氨基酸残基 Phe289、 Glu341和 His391参与形成了氢键相互作用(图 8 中绿色 虚线)。对于α-酸一蛋白质 Z 体系,参与相互作用的氨基 酸 主 要 有 Leu158、Tyr181、Phe182、Lys183、Gly184、 Lys290、Ser292、Phe336、Glu338,参与互作的作用力也主 要是氢键和疏水相互作用。特别值得关注的是,两个体 系中均有关键残基 Lys290和 Glu338的参与,暗示此区域 可能为啤酒花小分子的共性结合位点。

3 结论

采用多种光谱方法对啤酒花中两种结构不同的苦味 小分子(α-酸和黄腐酚)与大麦蛋白质Z相互作用及复合 物的结构进行了探究,发现2种酒花苦味小分子均可明显 猝灭蛋白质Z的内源性荧光,当α-酸/黄腐酚浓度达到 10 μmol/L时,荧光猝灭率分别达到86.5%和81.1%,且小 分子与蛋白质Z的结合个数均接近1;2种酒花小分子与



Figure 7 RMSD value of composite system



2D 结合模式中,绿色线代表氢键,弧形睫毛代表疏水相互作用 图 8 复合体系的 3D 结合姿势和 2D 结合模式



蛋白质 Z 相互作用后会导致蛋白的结构与氨基酸残基微 环境发生改变,使蛋白结构更为松散。α-酸和黄腐酚均可 诱导部分蛋白质二级结构α-螺旋向β-折叠/β-折叠转变。 分子动力学模拟结果表明,α-酸与黄腐酚均能与蛋白质 Z 形成稳定体系,且参与的作用力主要是氢键和疏水相互 作用,且黄腐酚对蛋白质 Z 的结合亲和力强于α-酸。明晰 酒花苦味小分子与大麦蛋白质 Z 的结合不仅有助于提升 啤酒泡沫品质,也可能有利于酒花活性小分子的稳定和 递送,为后期多元化精酿啤酒的设计提供一定的理论 依据。

参考文献

- [1] ALGAZZALI V, SHELLHAMMER T. Bitterness intensity of oxidized hop acids: humulinones and hulupones[J]. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2016, 74(1): 36-43.
- [2] 聂聪. 酒花与啤酒酿造[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2018:58.

NIE C. Hops and beer brewing[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2018: 58.

[3] ALMAGUER C, SCHÖNBERGER C, GASTL M, et al.

Humulus lupulus - a story that begs to be told: a review[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2014, 120(4): 289-314.

- [4] DE ANDRADE SILVA G V, AREND G D, ZIELINSKI A F, et al. Xanthohumol properties and strategies for extraction from hops and brewery residues: a review[J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134629.
- [5] 国家统计局关于 2023 年粮食产量数据的公告[N]. 中国信息报, 2023-12-12(1).

Announcement of National Bureau of Statistics on grain output data in 2023[N]. China Information News, 2023-12-12(1).

- [6] HOUDE M, KHODAEI N, BENKERROUM N, et al. Barley protein concentrates: extraction, structural and functional properties[J]. Food Chemistry, 2018, 254: 367-376.
- [7] NIU C T, HAN Y P, WANG J J, et al. Malt derived proteins: effect of protein Z on beer foam stability[J]. Food Bioscience, 2018, 25: 21-27.
- [8] HAN Y P, WANG J J, LI Y X, et al. Circular dichroism and infrared spectroscopic characterization of secondary structure components of protein Z during mashing and boiling processes [J]. Food Chemistry, 2015, 188: 201-209.
- [9] LU Y, OSMARK P, BERGENSTÅHL B, et al. Vesicular

structures formed from barley wort proteins and iso-humulone [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105: 105788.

- [10] TANIGUCHI Y, MATSUKURA Y, OZAKI H, et al. Identification and quantification of the oxidation products derived from α -acids and β -acids during storage of hops (*Humulus lupulus* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(12): 3 121-3 130.
- [11] 赵素华,杨锦宗,刘奎钫,等.高效液相色谱法测定啤酒花及 其制品中的α-酸,β-酸和异α-酸[J].分析化学,2000(4):520. ZHAO S H, YANG J Z, LIU K F, et al. Determination of α-acids, β-acids, and iso-α-acids of hops and hop products by high-performance liquid chromatography[J]. Analytical Chemistry, 2000(4):520.
- [12] WANG L M, ZHANG Y S, AGBAKA JOHNPAUL I, et al. Protein Z-based promising carriers for enhancing solubility and bioaccessibility of Xanthohumol[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 131: 107771.
- [13] WAKEFIELD A E, YUEH C, BEGLOV D, et al. Benchmark sets for binding hot spot identification in fragment-based ligand discovery[J]. Journal of Chemical Information and Modeling, 2020, 60(12): 6 612-6 623.
- [14] KUMARI R, KUMAR R, CONSORTIUM O S D D, et al. G_mmpbsa: a GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations[J]. Journal of Chemical Information and Modeling, 2014, 54(7): 1 951-1 962.
- [15] DRESEL M, DUNKEL A, HOFMANN T. Sensomics analysis of key bitter compounds in the hard resin of hops (*Humulus lupulus* L.) and their contribution to the bitter profile of pilsnertype beer[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(13): 3 402-3 418.
- [16] WANG F Q, CHENG J H, KEENER K M. Changing the IgE binding capacity of tropomyosin in shrimp through structural modification induced by cold plasma and glycation treatment [J]. Foods, 2023, 12(1): 206.
- [17] 杨庆,尚洁丽,曾浩龙,等.迷迭香酸共价偶联对β-乳球蛋白结构及性质的影响[J].食品科学,2024,45(11):61-67.
 YANG Q, SHANG J L, ZENG H L, et al. Effect of covalent coupling with rosmarinic acid on the structure and properties of β-lactoglobulin[J]. Food Science, 2024, 45(11):61-67.
- [18] LIU F G, MA C C, MCCLEMENTS D J, et al. A comparative study of covalent and non-covalent interactions between zein and polyphenols in ethanol-water solution[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 625-634.
- [19] MA G Q, TANG C Y, SUN X J, et al. The interaction mechanism of β-casein with oligomeric proanthocyanidins and its effect on proanthocyanidin bioaccessibility[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 113: 106485.
- [20] 徐梦婷, 郝艳宾, 齐建勋, 等. 多酚与蛋白相互作用对蛋白特性影响研究进展[J]. 食品与机械, 2022, 38(10): 224-229.
 XU M T, HAO Y B, QI J X, et al. Interactions between food

polyphenols and proteins and their effects on protein characteristics[J]. Food & Machinery, 2022, 38(10): 224-229.

[21] 朱颖, 王中江, 李杨, 等. 花青素对大豆蛋白质二级结构影响的多重光谱分析[J]. 农业机械学报, 2018, 49(6): 368-374, 426.

ZHU Y, WANG Z J, LI Y, et al. Effects of anthocyanins on the secondary structure of soybean protein isolate by multiplex spectroscopy[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(6): 368-374, 426.

- [22] CHEN Z Q, WANG C, GAO X D, et al. Interaction characterization of preheated soy protein isolate with cyanidin-3-O-glucoside and their effects on the stability of black soybean seed coat anthocyanins extracts[J]. Food Chemistry, 2019, 271: 266-273.
- [23] WU Y R, YIN Z C, QIE X J, et al. Interaction of soy protein isolate hydrolysates with cyanidin-3-O-glucoside and its effect on the *in vitro* antioxidant capacity of the complexes under neutral condition[J]. Molecules, 2021, 26(6): 1 721.
- [24] XIA W Y, MA L, CHEN X K, et al. Physicochemical and structural properties of composite gels prepared with myofibrillar protein and lecithin at various ionic strengths[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82: 135-143.
- [25] 林金瓯, 曹艳芸, 韩剑众. 基于荧光猝灭法的复合 GA/EGCG 与热变性乳清蛋白相互作用机制[J]. 食品与机械, 2023, 39 (8): 34-41.

LIN J O, CAO Y Y, HAN J Z. Mechanism of interaction between composite GA/EGCG and heat-denatured whey protein by fluorescence quenching method[J]. Food & Machinery, 2023, 39(8): 34-41.

- [26] SUN M Y, LIU H H, XU C, et al. Inhibition of iron release from donkey spleen ferritin through malt-derived protein Zferulic acid interactions[J]. Foods, 2023, 12(2): 234.
- [27] RAZZAK M A, CHOI S S. Delineating the interaction mechanism of glabridin and ovalbumin by spectroscopic and molecular docking techniques[J]. Food Chemistry, 2021, 347: 28981.
- [28] CHEN J G, WU S F, ZHANG Q F, et al. α -Glucosidase inhibitory effect of anthocyanins from Cinnamomum camphora fruit: inhibition kinetics and mechanistic insights through *in vitro* and *in silico* studies[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 143: 696-703.
- [29] FENG X R, WANG R, LU J N, et al. Taste properties and mechanism of umami peptides from fermented goose bones based on molecular docking and molecular dynamics simulation using umami receptor T1R1/T1R3[J]. Food Chemistry, 2024, 443: 138570.
- [30] BAI G P, PAN Y L, ZHANG Y M, et al. Research advances of molecular docking and molecular dynamic simulation in recognizing interaction between muscle proteins and exogenous additives[J]. Food Chemistry, 2023, 429: 136836.