

胃蛋白酶限制性酶解麦麸蛋白对体外降血脂作用的影响

郑文静¹ 白 杨¹ 刘 聪¹ 吉日嘎拉¹ 王吉力特¹ 张燕霞¹ 李雨欣²

(1. 河套学院农学系, 内蒙古 巴彦淖尔 015000;

2. 内蒙古农业大学食品科学与工程学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要: [目的]明确河套地区麦麸蛋白的降血脂作用。[方法]以河套地区麦麸蛋白为原料,制备胃蛋白酶限制性酶解产物(P1、P3、P6和P12),探讨对其降血脂作用的影响。[结果]不同酶解产物呈现不同的体外降血脂作用,且样品质量浓度越高效果越好,其中5 mg/mL麦麸酶解产物P1的胆固醇胶束溶解度抑制率为 $(45.47 \pm 0.36)\%$,显著高于其他样品($P < 0.05$);P12的胆固醇酯酶活性抑制率为 $(37.10 \pm 0.58)\%$,显著高于其他样品($P < 0.05$);P3的胰脂肪酶活性抑制率为 $(33.40 \pm 3.20)\%$,显著高于其他样品($P < 0.05$)。随着酶解时间的延长,麦麸酶解产物中必需氨基酸、疏水性氨基酸和酸性氨基酸含量变化不大,分别保持在29.70%~30.60%,32.10%~33.20%,27.80%~28.40%。胃蛋白酶酶解破坏了麦麸蛋白的疏水区域, α -螺旋相对含量从70.0%降低至43.4%,同时 β -转角和无规卷曲相对含量分别增加至28.4%和25.0%。[结论]麦麸蛋白胃蛋白酶限制性酶解产物具有一定的降血脂作用,其作用机制可能与产物中高含量的疏水性氨基酸、酸性氨基酸以及 α -螺旋结构的变化密切相关。

关键词:麦麸蛋白;胃蛋白酶;酶解产物;降血脂;结构表征

Effect of pepsin limited enzymatic hydrolysis from wheat bran protein on lipid lowering *in vitro*

ZHENG Wenjing¹ BAI Yang¹ LIU Cong¹ Jirigala¹ Wangjilite¹ ZHANG Yanxia¹ LI Yuxin²

(1. Agronomy Department, Hetao College, Bayannur, Inner Mongolia 015000, China; 2. College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)

Abstract: [Objective] To elucidate the lipid-lowering effect of wheat bran protein from the Hetao region and provide a scientific basis for its deep processing and high-value utilization. [Methods] This paper employs wheat bran protein from the Hetao region as the raw material to prepare pepsin limited enzymatic hydrolysates (P1, P3, P6, and P12), and investigates their effect on lowering lipid. [Results] Different enzymatic hydrolysates vary *in vitro* lipid-lowering effects, and the higher mass concentration of samples means a better effect. The cholesterol micelle solubility inhibition rate of 5 mg/mL wheat bran enzymatic hydrolysate P1 is $(45.47 \pm 0.36)\%$, significantly higher than that of other samples ($P < 0.05$). The cholesterol esterase activity inhibition rate of P12 is $(37.10 \pm 0.58)\%$, significantly higher than that of other samples ($P < 0.05$). The pancreatic lipase activity inhibition rate of P3 is $(33.40 \pm 3.20)\%$, significantly higher than that of other samples ($P < 0.05$). The content of essential amino acids, hydrophobic amino acids, and acidic amino acids in wheat bran protein enzymatic hydrolysates changes slightly with the extending enzymatic hydrolysis time, maintaining the ranges from 29.70% to 30.60%, 32.10% to 33.20%, and 27.80% to 28.40% respectively. The hydrophobic region of wheat bran protein is destroyed by the pepsin enzymatic hydrolysis, and the relative content of α -helix decreases from 70.0% to 43.4%, and meanwhile the relative content of β -turn and random coil increases to

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金资助项目(编号:2021MS03028);巴彦淖尔市科技计划项目(编号:K202105);大学生创新创业训练计划项目(编号:202511631001)

通信作者:刘聪(1984—),女,河套学院讲师,博士。E-mail: 645309001@qq.com

收稿日期:2024-11-14 **改回日期:**2026-01-10

引用格式:郑文静,白杨,刘聪,等.胃蛋白酶限制性酶解麦麸蛋白对体外降血脂作用的影响[J].食品与机械,2026,42(4):166-173.

Citation:ZHENG Wenjing, BAI Yang, LIU Cong, et al. Effect of pepsin limited enzymatic hydrolysis from wheat bran protein on lipid lowering *in vitro*[J]. Food & Machinery, 2026, 42(4): 166-173.

28.4% and 25.0% respectively. **[Conclusion]** Pepsin limited enzymatic hydrolysates of wheat bran protein exhibit certain lipid-lowering effects, and their action mechanism can be closely related to the high content of hydrophobic amino acids and acidic amino acids in the hydrolysates, as well as changes in the α -helix structure.

Keywords: wheat bran protein; pepsin; enzymatic hydrolysate; lipid lowering; structural characterization

小麦作为重要的粮食作物,在人类历史上占据着不可或缺的地位,全球约 50% 的人口将其作为主要的粮食来源^[1]。内蒙古河套平原属于半干旱地区,得益于其干燥的气候、充足的日照、显著的昼夜温差以及较长的无霜期,所产的小麦不仅籽粒饱满、色泽光鲜、容重高,而且品质卓越。麦麸作为小麦加工的主要副产品,占到籽粒总量的 15% 左右。它不仅富含膳食纤维、蛋白质、维生素等多种营养成分,还含有阿魏酸、植酸等活性物质,对预防慢性疾病具有积极作用^[2-3],是开发功能性食品的理想原料。

随着中国经济水平的快速发展,居民饮食结构发生巨大的变化以及全民运动的缺乏等导致心脑血管疾病等基础疾病的发病率逐年上升,目前已有近 2 亿高血脂患者^[4]。当前,他汀类、贝特类、烟酸类等降脂药物在市场中广泛应用,它们虽能显著降低人体血清总胆固醇水平,但同时也带来了一些副作用^[5-6]。在此背景下,挖掘植物中具备降胆固醇功效的生物活性成分,开发安全性更高、疗效更佳的降脂物质,已成为现代医学和药学领域的重要研究方向^[7]。

与蛋白质相比,活性肽不仅在消化吸收方面展现出显著优势,更具备抗菌、辅助降压、降脂等多样的生理活性功能,这些特性使其在功能性食品和健康领域极具研究与应用价值。据报道,紫菜多肽^[8]、大豆多肽^[9-10]等均有降低胆固醇的作用;麦麸清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白 4 种蛋白具有较强的抗氧化活性和提高免疫力等生物学功能^[11];Zhang 等^[12]以麦麸分离蛋白为原料,用碱性蛋白酶制备蛋白水解物,通过超滤法分离提纯的不同相对分子质量的肽段具有潜在的降血压和抗氧化作用。目前,中国对麦麸酶解产物的研究还处于起步阶段,主要集中于抗氧化活性和 ACE 抑制活性,但是其降血脂方面鲜有报道。

胃蛋白酶是人体消化道中重要的消化酶,其活性与人体消化功能及多种消化道疾病密切相关^[13]。也是一种非特异性的肽链内切酶,可水解多种蛋白质^[14]。限制性酶解技术作为改善植物蛋白功能特性的经典生物学手段,通过部分水解诱导蛋白去折叠,暴露功能性基团。该技术基于酶作用特异性强、反应条件温和的优势,已成功应用于大豆、豌豆、藜麦及核桃等植物蛋白的功能修饰^[15]。研究拟采用胃蛋白酶限制性酶解技术制备不同麦麸蛋白酶解产物,基于胆固醇胶束溶解度试验、胰脂肪酶抑制试验、胆固醇酯酶抑制试验及结构表征试验评价其

降血脂作用,以期拓展麦麸蛋白的应用领域提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

麦麸蛋白:实验室自制;

胃蛋白酶:15 000 U/g,上海源叶生物科技有限公司;

胰脂肪酶:3 000 U/g,上海源叶生物科技有限公司;

胆固醇酯酶:123 U/mg,上海源叶生物科技有限公司;

牛磺胆酸钠:国药集团化学试剂有限公司;

总胆固醇(T-CHO)测试盒:南京建成生物工程研究所;

4-硝基苯基丁酸酯(NPB):山东博亿生物技术有限公司;

酶标仪:Multiskan FC 型,赛默飞世尔(上海)仪器有限公司;

高速离心机:CF-16RN 型,日本日立公司;

氨基酸分析仪:L-8900 型,日本日立公司;

圆二色谱仪:MOS-450 型,法国 Bio-logic 公司;

傅里叶变换红外光谱仪:Frontier 型,美国 PerkinElmer 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 麦麸蛋白制备 采用碱溶酸沉法^[16]提取麦麸蛋白。称取脱脂麦麸按 $m_{\text{麦麸}}:V_{\text{蒸馏水}}=1:20$ (g/mL)与蒸馏水混合,用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 10.0,在 330 r/min、50 °C 下搅拌 2 h,冷却,离心(4 °C、3 000 r/min、20 min)收集上清液,用 0.1 mol/L HCl 溶液调整 pH 至 4.5,离心(4 °C、3 000 r/min、20 min)后收集沉淀物,调节 pH 至 7.0,在 -80 °C 冷冻后,通过真空冷冻干燥(48 h、1 Pa、-60 °C)获得麦麸蛋白粗提取物。

1.2.2 麦麸蛋白酶解产物制备 配制 0.05 g/mL 麦麸蛋白溶液,加入 0.1 g/mL 胃蛋白酶搅拌均匀,用 0.1 mol/L HCl 溶液调节 pH 至 3.0,于 200 r/min、37 °C 下恒温水浴振荡酶解。试验过程中使用 0.1 mol/L HCl 溶液将 pH 控制在 3.0 ± 0.2 范围^[17-18],分别酶解 1, 3, 6, 12 h(样品分别标记为 P1、P3、P6、P12),98 °C 灭酶 15 min,离心(4 °C、3 000 r/min、20 min),将上清液转移到透析袋中(相对分子质量截留 300),进行 24 h 透析,通过真空冷冻干燥获得麦麸酶解产物,并在 -20 °C 下避光保存。

1.2.3 胆固醇胶束溶解度抑制率测定 根据文献^[19]修

改如下:离心管中加入 160 μL 0.1 mol/L 胆固醇、新增 80 μL 0.05 mol/L 单油酸甘油酸酯、80 μL 0.1 mol/L 油酸、80 μL 0.06 mol/L L - α -磷脂酰胆碱,并添加 8 mL 6.6 mmol/L 牛磺胆酸水溶液,超声处理 3 min;37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴摇床振荡培养 24 h,使其形成胆固醇胶束溶液;准确称取质量为 5 mg 和 10 mg 麦麸蛋白酶解产物与 1 mL 胆固醇胶束溶液混合,再次孵育 2 h,过 0.22 μm 水溶性滤膜,使用总胆固醇试剂盒测定胆固醇含量,在 510 nm 处测定吸光度值,按式(1)计算胆固醇胶束溶解度抑制率。

$$I_1 = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

I_1 ——胆固醇胶束溶解度抑制率,%;

A_1 ——原胶束胆固醇含量,mmol/mL;

A_2 ——样品试验管胆固醇含量,mmol/mL。

1.2.4 胆固醇酯酶活性抑制率测定 根据文献[20]修改如下:质量浓度为 1,3 mg/mL 的麦麸蛋白酶解产物溶液,0.72 U/mL 胆固醇酯酶溶液,操作流程见表 1。

表 1 胆固醇酯酶活性测定反应体系

Table 1 Reaction system for determination of cholesterol esterase activity

项目	NaCl/mL	NPB/mL	磷酸缓冲液(含牛磺胆酸钠)/mL	样品/mL	蒸馏水/mL	胆固醇酯酶/mL
原酶液管	2.5	0.5	0.5	0.0	0.4	0.5
空白管	2.5	0.5	0.5	0.0	0.9	0.0
样品试验管	2.5	0.5	0.5	0.4	0.0	0.5
样品对照管	2.5	0.5	0.5	0.4	0.5	0.0

加入胆固醇酯酶,在 25 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5 min,405 nm 处测定吸光度值,按式(2)计算胆固醇酯酶抑制率。

$$I_2 = \frac{A - B - (C - D)}{A - B} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

I_2 ——胆固醇酯酶抑制率,%;

A ——原酶液管吸光度;

B ——空白管吸光度;

C ——样品试验管吸光度;

D ——样品对照管吸光度。

1.2.5 胰脂肪酶活性抑制率测定 根据文献[21]修改如下:

试剂配制:采用 Tris-HCl 缓冲液配制质量浓度为 1, 5 mg/mL 的样品溶液。

PL 活力抑制率检测: A_E : 在 1.5 mL 离心管中准确移取 200 μL PL 和 1 150 μL Tris-HCl, 充分摇匀; A_{IB} : 在 1.5 mL 离心管中准确移取 400 μL 样品和 600 μL Tris-HCl, 充分摇匀; A_1 : 在 2.0 mL 离心管中, 准确移取 400 μL 样品、200 μL PL 和 1 150 μL Tris-HCl, 充分摇匀。

96 孔板中分别添加 200 μL A_{IB} 、75 μL A_E 和 75 μL A_1 溶液,再加入 25 μL NPB 溶液;在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、300 r/min 下孵育 25 min。用酶标仪测定 405 nm 处吸光度值。按式(3)计算胰脂肪酶活性抑制率。

$$I_3 = 1 - \frac{A_1 - A_{IB}}{A_E} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

I_3 ——胰脂肪酶活性抑制率,%;

A_1 ——加入样品吸光度;

A_{IB} ——加入样品未加酶液的吸光度;

A_E ——不加样品吸光度。

1.2.6 氨基酸含量测定 根据文献[22]的方法,采用氨基酸分析仪测定。

1.2.7 傅里叶变换红外光谱测定 根据文献[23]修改如下:样品与溴化钾(KBr)充分碾磨 1~2 min,转入压片模内抽真空压成薄片。将其装入压片夹中,以 KBr 空白片为参照物,扫描波数范围 400~4 000 cm^{-1} ,以 4 cm^{-1} 的分辨率扫描 32 次,扫描时间 90 s。

1.2.8 圆二色光谱测定 根据文献[24]修改如下:将麦麸酶解产物溶解于磷酸盐缓冲液(PBS)中,使其质量浓度为 0.5 mg/mL。在 190~260 nm 范围内,测定圆二色光谱,步长设定为 0.5 nm,扫描速度 30 nm/min。

1.3 数据分析

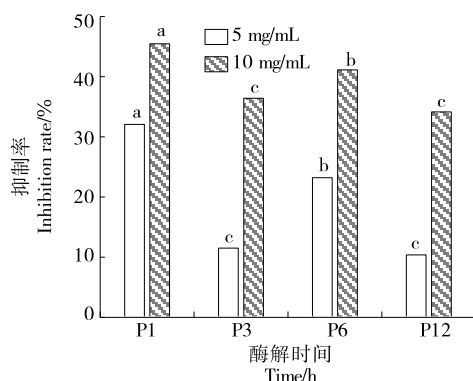
每组试验均为 3 组平行,试验数据用平均值士标准差表示,采用 SPSS 22.0 进行方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 表示为显著性差异。

2 结果与分析

2.1 麦麸酶解产物的胆固醇胶束溶解度抑制率

胆固醇作为脂类物质的重要组成部分,因其较大的相对分子质量及疏水性特征,难以直接被小肠上皮细胞吸收,需与磷脂等物质协同形成混合胶束后方可实现跨膜转运。最新研究^[25]证实,活性肽能够凭借其独特的分子构象与胆固醇竞争性结合混合胶束,通过干扰胶束的空间结构稳定性,显著削弱混合胶束的形成效率,最终有效抑制胆固醇在小肠中的吸收过程,展现出潜在的脂质代谢调节功能。如图 1 所示,酶解时间对麦麸酶解产物胆

固醇胶束抑制率的影响较大,当样品质量浓度为 5 mg/mL 时其抑制率为 34.15%~45.47%,大小顺序为 P1>P6>P3>P12,均呈现显著差异($P<0.05$)。10 mg/mL 时抑制率明显高于 5 mg/mL 时的,其中 P1 的抑制率显著高于其他样品($P<0.05$),P3 和 P12 的抑制率最低,且相互之间无显著差异($P>0.05$)。上述结果表明,麦麸酶解产物浓度的增加会提升其胆固醇胶束的抑制率,但随着酶解时间的延长,胆固醇胶束溶解度抑制率呈下降趋势。总体上,麦麸胃蛋白酶酶解产物能够抑制胆固醇胶束溶解度,且呈剂量关系。



字母不同表示相同质量浓度下不同样品之间差异显著($P<0.05$)

图1 麦麸蛋白限制性酶解产物对胆固醇胶束溶解度抑制率的影响

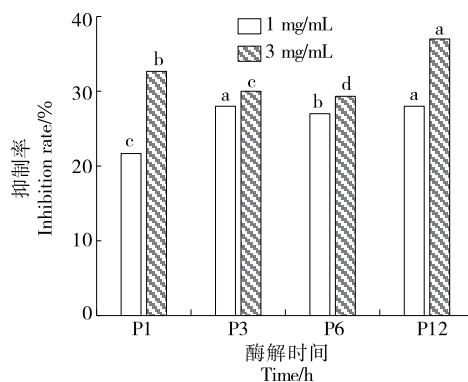
Figure 1 Effect of limited enzymatic hydrolysates from wheat bran protein on cholesterol micelle solubility inhibition rate

2.2 麦麸酶解产物的胆固醇酯酶活性抑制率

胆固醇酯酶,又称胆盐依赖性脂肪酶,在调控食品中胆固醇酯的代谢过程中,相关作用机制研究具有重要意义。胆固醇酯因分子结构特性,无法直接被小肠吸收,必须在胆固醇酯酶的催化作用下,水解生成游离胆固醇后,才具备被肠道吸收的条件^[26],鉴于胆固醇酯酶在该水解环节中处于核心地位,通过靶向抑制其生物活性,可有效干预胆固醇酯的水解进程,进而在一定程度上降低胆固醇的肠道吸收效率,为血脂调控提供关键靶点与理论依据。如图2所示,在相同质量浓度下,不同酶解时间的麦麸蛋白产物对胆固醇酯酶的抑制率均有显著差异($P<0.05$)。相同样品不同质量浓度时其抑制率随着质量浓度的增大而增大,当样品质量浓度为 3 mg/mL 时抑制率为 29.04%~37.10%,其中 P12 的抑制率最高,显著高于其他样品($P<0.05$)。以上结果表明,麦麸胃蛋白酶酶解产物对胆固醇酯酶具有一定的抑制作用。

2.3 麦麸酶解产物的胰脂肪酶活性抑制率

胰脂肪酶作为特异性催化酯键水解的关键酶类,主

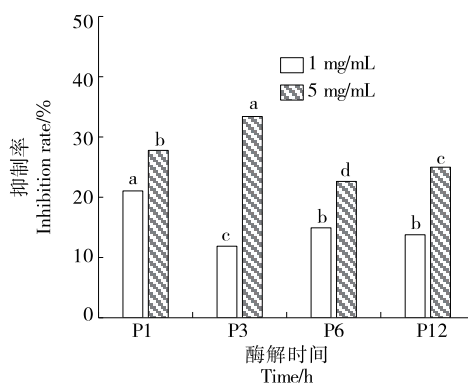


字母不同表示相同质量浓度下不同样品之间差异显著($P<0.05$)

图2 麦麸蛋白限制性酶解产物对胆固醇酯酶活性抑制率的影响

Figure 2 Effect of limited enzymatic hydrolysates from wheat bran protein on inhibition rate of cholesterol esterase activity

要定位于胰腺与胃部,经胰液分泌后进入肠道,在脂质代谢通路中承担核心催化功能^[27]。该酶通过特异性识别甘油三酯的酯键结构,将其逐步水解为二酰甘油、甘油及游离脂肪酸,完成膳食脂肪消化的限速步骤,从而为肠道上皮细胞摄取脂质提供必要前体物质。这一水解过程不仅是甘油三酯跨膜转运的先决条件,更是维持机体脂质稳态及能量代谢平衡的重要环节^[28]。如图3所示,不同酶解时间对麦麸酶解产物胰脂肪酶活性抑制率的影响较大。样品质量浓度为 1 mg/mL 时,抑制率在 11.88%~21.05%,其中 P1 的抑制率最高。样品质量浓度为 5 mg/mL 时,抑制率增加至 22.62%~33.50%,其中 P3 的抑制率最高,相同样品之间随着质量浓度的增加其胰脂肪酶活性抑制率呈



字母不同表示相同质量浓度下不同样品之间差异显著($P<0.05$)

图3 麦麸蛋白限制性酶解产物对胰脂肪酶活性抑制率的影响

Figure 3 Effect of limited enzymatic hydrolysates from wheat bran protein on inhibition rate of pancreatic lipase activity

增加趋势。以上研究结果表明,麦麸胃蛋白酶限制性酶解产物对胰脂肪酶活性具有较好的抑制能力。

2.4 麦麸蛋白酶解产物氨基酸含量

经酸水解法处理样品后,除色氨酸因酸解过程完全降解外,成功检测出 17 种氨基酸成分(详见表 2)。检测结果显示,P1、P3、P6 及 P12 样品中氨基酸含量较为丰富,其中必需氨基酸占比分别达 30.60%, 30.50%, 30.20%, 29.70%,说明胃蛋白酶酶解时间对麦麸蛋白必需氨基酸含量的影响不大。同时发现,疏水性氨基酸的含量变化相对较小,维持在 32.10%~33.20%。随着酶解时间的增加,麦麸蛋白酶解产物中的酸性氨基酸含量保持相对稳定的水平,P1、P3、P6 和 P12 分别为 28.40%, 28.20%, 28.20%, 27.80%。以上结果说明,麦麸蛋白胃蛋白酶解产物的体外降血脂作用可能与其含有的疏水性氨基酸和酸性氨基酸含量有关。研究表明,疏水氨基酸不仅具有降低胆固醇作用^[29],活性肽还可通过疏水相互作用结合胆汁酸,促进其排泄^[30]。郑睿^[31]从亚麻籽中分离纯化出的 4 种具有抑制胆固醇胶束溶解度的多肽,均富含疏水性氨

表 2 麦麸蛋白不同酶解产物氨基酸组成
Table 2 Amino acid composition of different enzymatic hydrolysates of wheat bran protein

氨基酸	氨基酸质量分数/(mg·g ⁻¹)			
	P1	P3	P6	P12
天冬氨酸(Asp)	69.51	65.97	64.98	63.94
苏氨酸(Thr)	34.99	33.98	33.84	32.93
丝氨酸(Ser)	46.23	44.74	44.32	43.37
谷氨酸(Glu)	183.55	178.06	179.10	178.14
甘氨酸(Gly)	47.02	46.83	47.13	49.44
丙氨酸(Ala)	31.99	31.77	29.73	37.50
半胱氨酸(Cys)	17.15	17.05	23.96	20.15
缬氨酸(Val)	39.73	37.33	37.07	38.55
甲硫氨酸(Met)	14.70	14.01	13.24	14.37
异亮氨酸(Ile)	30.42	29.60	29.06	28.87
亮氨酸(Leu)	60.26	58.86	57.66	55.71
酪氨酸(Tyr)	35.77	35.06	36.02	35.41
苯丙氨酸(Phe)	44.14	42.38	41.39	40.50
组氨酸(His)	37.16	36.82	38.07	37.62
赖氨酸(Lys)	48.59	47.86	49.34	48.18
精氨酸(Arg)	90.25	88.88	89.37	89.62
脯氨酸(Pro)	59.03	56.30	52.96	57.67
总氨基酸	890.48	865.50	867.21	871.96
必需氨基酸/%	30.60	30.50	30.20	29.70
疏水性氨基酸/%	33.20	32.70	32.10	32.70
酸性氨基酸/%	28.40	28.20	28.20	27.80

基酸。有研究^[32]表明,具有降血脂作用的活性多肽,通常含有较高比例的酸性氨基酸。因此,麦麸蛋白胃蛋白酶酶解产物的降血脂作用机理有很多不明之处,后期应采用凝胶色谱或分子截留等技术,分离纯化活性肽并进一步探讨其机制。

2.5 麦麸蛋白酶解产物傅里叶变换红外光谱

在傅里叶变换红外光谱技术中,蛋白质的官能团组成与二级结构特征得以有效呈现。其中,位于 3 500~3 000 cm⁻¹ 的酰胺 A 区域存在特征吸收峰,该吸收峰源于 N—H 和 O—H 的伸缩振动。其本质上与多肽主链所形成的氢键紧密相连,通过对这一区域吸收峰的分析,能够为蛋白质结构研究提供关键信息^[33]。在傅里叶变换红外光谱的研究体系中,酰胺 I 带(波数范围为 1 700~1 600 cm⁻¹) 的吸收峰由 C=O 与 N—H 的伸缩振动共同贡献。作为探究蛋白质二级结构的重要“指纹”区域,该波段不同波数的吸收峰对应着蛋白质的多种结构构象:1 650~1 660 cm⁻¹ 范围内的吸收峰表明 α-螺旋结构的存在;1 610~1 640 cm⁻¹ 的吸收特征指向 β-折叠结构;1 660~1 695 cm⁻¹ 的吸收峰则是 β-转角结构的“标识”;而 1 640~1 650 cm⁻¹ 反映无规卷曲结构。通过对酰胺 I 带吸收峰的精准解析,科研人员能够深入洞察蛋白质复杂的空间折叠信息^[34]。以上结构中,α-螺旋较为有序易发生构象变化,β-折叠和 β-转角属于相对拉伸的有序结构,而无规卷曲则是无序结构^[35]。由图 4 可知,麦麸蛋白酶解产物在 3 000~3 500 cm⁻¹ 范围内有较大的变化,说明了胃蛋白酶酶解对麦麸蛋白天然结构的破坏作用较大,使其结构重新排列形成了新的氢键。3 000~2 800 cm⁻¹ 属于蛋白质的疏水区域,随着酶解时间的延长麦麸蛋白酶解产物的吸光度值均逐渐降低,表明麦麸蛋白的疏水区域已经被胃蛋白酶破坏。研究的 4 种麦麸蛋白酶解产物中的出峰位置基本相同,但峰值有所差异,表明其并未产生新物质,仅含量发生了变化。在 1 650~1 660 cm⁻¹ 范围内,α-螺

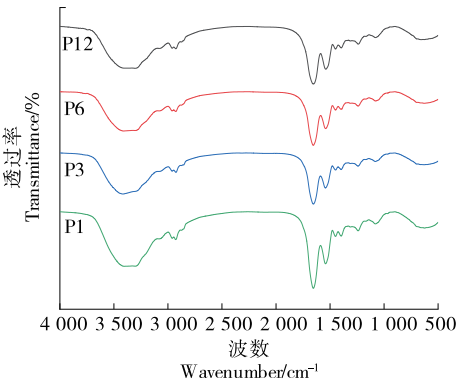


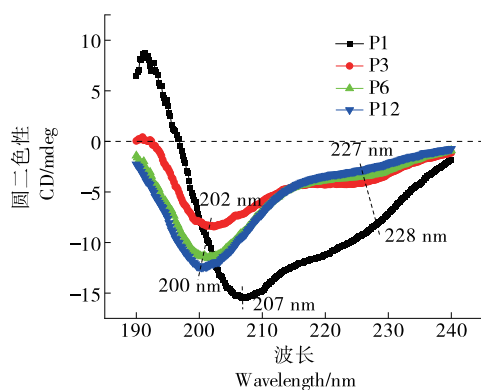
图 4 麦麸蛋白酶解产物傅里叶红外光谱图
Figure 4 Fourier infrared spectrum of enzymatic hydrolysates from wheat bran protein

旋结构的增加使得蛋白质在这些过程中更加稳定,从而保证其结构和功能的正常活性。

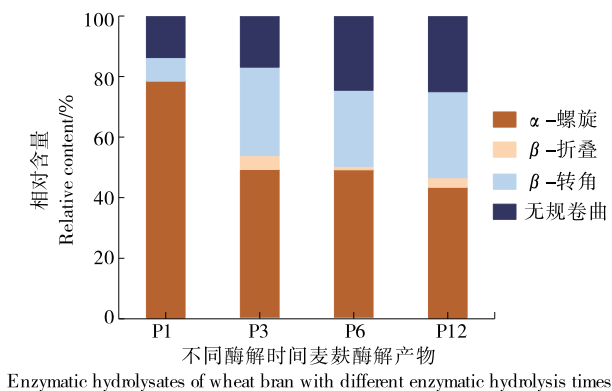
2.6 麦麸酶解产物圆二色光谱(CD)

蛋白质二级结构的变化规律取决于肽键的有序排列,该排列主要依赖于分子间的氢键作用。因此分子间作用力的变化会影响蛋白质的二级结构,其CD谱峰也会随之改变^[36]。由图5可知,酶解时间不同的麦麸酶解产物展现出不同的图谱特征,提示其二级结构存在差异。P1在207~228 nm的波段呈现出一个连续的负峰,其最大值接近207 nm,该波段主要对应 α -螺旋结构的特征区域,从而揭示了麦麸蛋白酶解产物的二级结构主要以 α -螺旋为主(78.5%),而 β -折叠、 β -转角和无规卷曲的相对含量分别为

0%,7.8%,13.7%。随着酶解时间的延长,位于207 nm附近的负峰绝对强度出现变化,并且峰位向短波长方向发生蓝移;同时,在228 nm处的负峰绝对强度也逐渐减弱,并向227 nm附近发生蓝移。总体而言,随着酶解时间的延长,蛋白质的光学活性逐渐减弱,其二级结构也遭到了一定程度的破坏。拟合结果表明,麦麸蛋白酶解产物中 α -螺旋的相对含量从最初的78.5%逐渐减少至43.4%,与此同时, β -转角和无规卷曲的相对含量分别上升至28.4%和25.0%。随着酶解时间的增加,蛋白质的二级结构出现了显著变化;特别是 α -螺旋向 β -折叠以及无规卷曲结构的转变,这可能会引起分子表面亲疏水性质的改变^[37],进而影响麦麸蛋白胃蛋白酶产物的降血脂活性。



(a) CD谱图



(b) 二级结构相对含量

图5 麦麸蛋白限制性酶解产物CD谱图及二级结构相对含量

Figure 5 Effects of limited enzymatic hydrolysates from wheat bran protein on CD spectrum and relative content of secondary structure

3 结论

该研究以麦麸蛋白为研究对象,通过胃蛋白酶限制性酶解制备了具有体外降血脂活性的酶解产物。结果表明,胃蛋白酶酶解时间对麦麸蛋白的体外降血脂作用影响较大。在试验设定的浓度范围内,麦麸蛋白酶解产物P1的胆固醇胶束溶解度抑制率最高;酶解产物P12的胆固醇酯酶活性抑制率最高;酶解产物P3的胰脂肪酶活性抑制率最高,总体而言,麦麸蛋白水解产物显示了具有一定的降血脂作用。通过氨基酸组成分析发现,不同麦麸蛋白酶解产物的降血脂活性可能与其高比例的必需氨基酸、疏水性氨基酸和酸性氨基酸有关;此外,随着胃蛋白酶作用时间的延长,麦麸酶解产物中的 α -螺旋相对含量从70.0%降低至43.4%,而 β -转角和无规卷曲的相对含量分别增加至28.4%和25.0%;这些结构的变化可能对其降血脂作用产生了积极影响。综上所述,麦麸蛋白胃蛋白酶限制性酶解产物具有一定的降血脂作用。

参考文献

- [1] 蒋赞,张丽丽,薛平,等.我国小麦产业发展情况及国际经验借鉴[J].中国农业科技导报,2021,23(7): 1-10.
JIANG Y, ZHANG L L, XUE P, et al. Development status of wheat industry in China and international experience for reference[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2021, 23(7): 1-10.
- [2] 李建科,孟永宏,刘柳,等.我国食品工业副产物资源化利用现状[J].食品科学技术学报,2021,39(6): 1-13.
LI J K, MENG Y H, LIU L, et al. Utilization of food industry by-products in China[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 39(6): 1-13.
- [3] KYRØ C, BISKUP I, BRUNIUS C, et al. Alkylresorcinols (biomarkers of whole grain intake), cereal fibre intake and metabolic profile-results from a European study[J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2020, 79: E648.
- [4] 中国居民营养与慢性病状况报告(2020年)[J].营养学报,2020,42(6): 521.
Report on nutrition and chronic diseases of Chinese residents (2020) [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2020, 42(6): 521.

- [5] 苏畅, 张兵, 王惠君, 等. 2015 年中国十五省(区、市)18~64 岁居民膳食脂肪摄入状况分析[J]. 营养学报, 2019, 41(2): 118-121.
SU C, ZHANG B, WANG H J, et al. Analysis of the status of dietary fat intake among Chinese adults aged 18 to 64 years in fifteen provinces in 2015[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2019, 41(2): 118-121.
- [6] 赵士魁, 周伟澄. 降血脂药物研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(7): 536-542.
ZHAO S K, ZHOU W C. Progress on hypolipidemic drugs[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2009, 40(7): 536-542.
- [7] 杨宝瑜, 高天琦, 李洋, 等. 细胞胆固醇的生理功能及其代谢异常相关疾病的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2017, 39(12): 1 642-1 650.
YANG B Y, GAO T Q, LI Y, et al. Progress in the physiological functions of cellular cholesterol and the diseases related to its metabolism abnormalities[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2017, 39(12): 1 642-1 650.
- [8] 王茵, 苏永昌, 吴靖娜, 等. 紫菜多肽降血脂及抗氧化作用的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(16): 334-337.
WANG Y, SU Y C, WU J N, et al. Study on the hypolipidemic effects and antioxidative activity of porphyra peptide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(16): 334-337.
- [9] SUGANO M, YAMADA Y, YOSHIDA K, et al. The hypocholesterolemic action of the undigested fraction of soybean protein in rats[J]. Atherosclerosis, 1988, 72(2/3): 115-122.
- [10] 刘盼, 陈晓磊, 陈夫山. 复合蛋白酶水解法制备麦麸多肽及其抗氧化性能研究[J]. 齐鲁工业大学学报, 2018, 32(3): 1-6.
LIU P, CHEN X L, CHEN F S. Preparation of wheat bran polypeptides by compound protease hydrolysis and study on its antioxidant activity[J]. Journal of Qilu University of Technology, 2018, 32(3): 1-6.
- [11] 孙媛, 蔡迪, 向琴, 等. 麦麸中四种蛋白的 Osborne 法提取分离及性能研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(9): 136-139, 203.
SUN Y, CAI D, XIANG Q, et al. Extraction and characterization of four proteins from wheat bran by Osborne [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(9): 136-139, 203.
- [12] ZOU Z P, WANG M J, WANG Z G, et al. Antihypertensive and antioxidant activities of enzymatic wheat bran protein hydrolysates[J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(1): e13090.
- [13] 冷晓莲. 小檗碱对几种重要消化酶部分性质的影响[D]. 成都: 四川大学, 2007: 1.
LENG X L. The partial influence of berberine on three important digestive enzymes[D]. Chengdu: Sichuan University, 2007: 1.
- [14] 豆妮娜, 张平, 王帅兵, 等. 香豆素类化合物对胃蛋白酶活性的影响研究[J]. 中国药事, 2023, 37(11): 1 310-1 318.
DOU N N, ZHANG P, WANG S B, et al. Investigation of effects of coumarin compounds on pepsin activity[J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 2023, 37(11): 1 310-1 318.
- [15] 马晓雨, 陈先鑫, 胡振瀛, 等. 限制性酶解对大米蛋白结构、功能特性及体外抗氧化活性的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(11): 53-62.
MA X Y, CHEN X X, HU Z Y, et al. Effects of restrictive enzymatic hydrolysis on the structural and functional properties and *in vitro* antioxidant activity of rice protein[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(11): 53-62.
- [16] SUN Y, LIU C, BAO X L, et al. Wheat bran protein improves lipid metabolism by downregulating the amount of HMG-CoA reductase in the liver of high-fat diet-fed rats[J]. Journal of Food Biochemistry, 2023, 2 023(1): 1792652.
- [17] 李志杰. 基于人的体外模拟胃消化系统的构建及评价[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2018: 22.
LI Z J. Study on dection method of pork freshness based on imped-ance spectroscopy[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2018: 22.
- [18] KALANTZI L, GOUMAS K, KALIORAS V, et al. Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies[J]. Pharmaceutical Research, 2006, 23(1): 165-176.
- [19] KIRANA C, ROGERS P F, BENNETT L E, et al. Naturally derived micelles for rapid *in vitro* screening of potential cholesterol-lowering bioactives[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(11): 4 623-4 627.
- [20] 苏建辉, 马朝阳, 杨鹿, 等. 槲皮素、EGCG 对胆固醇酯酶活性和胆固醇胶束抑制作用研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(11): 346-349.
SU J H, MA Z Y, YANG L, et al. Inhibition of pancreatic cholesterol esterase activities and cholesterol micelle of EGCG and quercetin[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(11): 346-349.
- [21] 李婷, 向灿辉, 王文君. 水翁花蕾提取物 DMC 对胰脂肪酶的抑制作用研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(15): 65-70.
LI T, XIANG C H, WANG W J. Inhibiting effect of *Cleistocalyx operculatus* buds' extract (DMC) on pancreatic lipase[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(15): 65-70.
- [22] LI S, CHU S, LU J, et al. Molecular and structural properties of three major protein components from almond kernel[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2018, 42(3): e13536.
- [23] 周柳莎, 郇萍, 顾双, 等. 荞麦源降血糖肽结构表征及酶抑制动力学[J]. 中国食品学报, 2024, 24(3): 86-98.
ZHOU L S, LI P, GU S, et al. Structural characterization and enzyme inhibition kinetics of hypoglycemic glycopeptides derived from buckwheat[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(3): 86-98.

- [24] 赵冠里. 酶解与多糖接枝改性花生蛋白及其构效机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011: 32.
- ZHAO G L. Enzymatic or glycosylation modification of peanut proteins and its related structure-function mechanism[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2011: 32.
- [25] 宋玲钰, 刘丽娜, 徐志祥, 等. 多肽的降胆固醇活性研究进展[J]. 中国食物与营养, 2016, 22(10): 69-72.
- SONG L Y, LIU L N, XU Z X, et al. Research advancement on cholesterol-lowering activity of peptides[J]. Food and Nutrition in China, 2016, 22(10): 69-72.
- [26] ADISAKWATTANA S, INTRAWANGSO J, HEMRID A, et al. Extracts of edible plants inhibit pancreatic lipase, cholesterol esterase and cholesterol micellization, and bind bile acids[J]. Food Technology and Biotechnology, 2012, 50(1): 11-16.
- [27] CINTA B, LLUIS A, MARIA-JOSEPA S. Hypolipidemic effects of proanthocyanidins and their underlying biochemical and molecular mechanisms[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2010, 54(1): 37-59.
- [28] WINKLER F K, D'ARCY A, HUNZIKER W. Structure of human pancreatic lipase[J]. Nature, 1990, 343(6 260): 771-774.
- [29] 徐向英. 燕麦蛋白提取、性质以及降血脂活性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2012: 49.
- XU X Y. Study on extraction, properties and hypolipidemic activity of oat protein[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2012: 49.
- [30] TAKESHITA T, OKOCHI M, KATO R, et al. Screening of peptides with a high affinity to bile acids using peptide arrays and a computational analysis[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2011, 112(1): 92-97.
- [31] 郑睿. 降胆固醇亚麻籽蛋白酶解肽的制备及结构表征[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016: 35.
- ZHENG R. Structure identification and preparation of peptide from flaxseed protein with hypocholesterolemic[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2016: 35.
- [32] GUADALUPE A G, ESTEBAN R C, ESTEFANÍA M A, et al. Isolation and identification of cholesterol esterase and pancreatic lipase inhibitory peptides from brewer's spent grain by consecutive chromatography and mass spectrometry[J]. Food & Function, 2020, 11(6): 4 994-5 003.
- [33] 贺磊. 魔芋ACE抑制肽制备技术及理化性质研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2017: 48.
- HE L. Study on the preparation technology and physicochemical properties of konjac ACE inhibitory peptide [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2017: 48.
- [34] CARBONARO M, NUCARA A. Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region[J]. Amino Acids, 2010, 38(3): 679-690.
- [35] 杨玉蓉, 李安平, 钟政昌, 等. 桃仁多肽螯合亚铁的抑菌活性及结构表征[J]. 食品科学, 2019, 40(5): 57-62.
- YANG Y R, LI A P, ZHONG Z C, et al. Antibacterial activity and structural characterization of peach kernel peptide-ferrous chelate[J]. Food Science, 2019, 40(5): 57-62.
- [36] 齐宝坤, 赵城彬, 江连洲, 等. 大豆分离蛋白组成及二级结构对表面疏水性的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(5): 288-293.
- QI B K, ZHAO C B, JIANG L Z, et al. Effect of composition and secondary structure of soybean protein isolate on surface hydrophobicity[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(5): 288-293.
- [37] 杨莹, 胡吉祥, 沈毅, 等. 光谱法分析苜蓿素与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2023, 46(5): 145-152.
- YANG Y, HU J X, SHEN Y, et al. Spectral analysis of the interaction between orcein and bovine serum albumin[J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University, 2023, 46(5): 145-152.