

玉米酒糟阿拉伯木聚糖水解物/大豆分离蛋白复合物的制备及乳化特性研究

于 硕 郭庆彬 赵舒頔 李贞景 贾 星 康 继

(天津科技大学, 天津 300457)

摘要: [目的] 拓展玉米酒糟的应用领域, 提高其市场价值。[方法] 从玉米酒糟中提取阿拉伯木聚糖(arabinoxylan, AX) 通过改性制备出不同分子结构的 AX, 将其与大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI) 通过美拉德反应制成了 AX-SPI 共价复合物, 利用圆二色谱、傅里叶红外光谱、粒径和 Zeta 电位等方法对复合物的结构进行表征, 并对其乳化特性进行研究。[结果] SPI 与 AX 通过美拉德反应形成了 AX-SPI 共价复合物, 多糖分子结构的不同影响了美拉德反应的程度, 随着多糖相对分子质量和多糖链长度的增加, 其接入到蛋白质肽链的难度也随之增加; 与 SPI 相比, 共价复合物的蛋白质溶解度升高了 16.29%, 说明复合物在等电点区域的溶解度得到明显改善; AX-SPI 稳定乳液的平均粒径($0.799\ \mu\text{m}$) 较小且分布均匀, Zeta 电位绝对值较高(38.19 mV)。[结论] AX-SPI 共价复合物较 SPI 具有更好的乳化性和稳定性; 且复合物的乳化性能随多糖相对分子质量的降低而升高, 当相对分子质量相近时, 多糖链长度越短, 乳化性能越好。

关键词: 玉米酒糟; 阿拉伯木聚糖; 大豆分离蛋白; 美拉德反应; 功能特性

Study on preparation and emulsification properties of distillers dried grains with solubles arabinoxylan hydrolysate/soy protein isolate complex

Yu Shuo Guo Qingbin Zhao Shudi Li Zhenjing Jia Xing Kang Ji

(Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: [Objective] To expand the application fields of distillers dried grains with solubles and improve its market value. [Methods] Arabinoxylan (AX) was extracted from distillers dried grains with solubles and modified to prepare AX with different molecular structures. AX was then reacted with soy protein isolate (SPI) via the Maillard reaction to prepare the AX-SPI covalent complex. The structure of the complex was characterized using circular dichroism spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, particle size, and Zeta potential, and its emulsifying properties were studied. [Results] The AX-SPI covalent complex is formed by SPI and AX via the Maillard reaction, and differences in the polysaccharide molecular structure affect the extent of the Maillard reaction. As the relative molecular mass and chain length of the polysaccharide increase, the difficulty of its attachment to the protein peptide chain also increases. Compared with SPI, the protein solubility of the covalent complex increases by 16.29%, indicating that the solubility of the complex in the isoelectric point region is significantly improved. The average particle size ($0.799\ \mu\text{m}$) of the emulsion stabilized by AX-SPI is small and evenly distributed, and the absolute value of the Zeta potential is high (38.19 mV). [Conclusion] The AX-SPI covalent complex exhibits better emulsification and stability than SPI. Moreover, the emulsifying properties of the complex increase with the decrease in the relative molecular mass of the polysaccharide. When the relative molecular mass is similar, a shorter polysaccharide chain length results in better emulsifying properties.

Keywords: distillers dried grains with solubles; arabinoxylan; soy protein isolate; Maillard reaction; functional property

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号:32272270); 天津市科技计划项目(编号:21ZYJJC00110)

通信作者: 郭庆彬(1983—), 男, 天津科技大学教授, 博士生导师, 博士。E-mail: guoqingbin008322@tust.edu.cn

收稿日期: 2024-07-03 **改回日期:** 2026-04-20

引用格式: 于硕, 郭庆彬, 赵舒頔, 等. 玉米酒糟阿拉伯木聚糖水解物/大豆分离蛋白复合物的制备及乳化特性研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(8): 26-32.

Citation: Yu Shuo, Guo Qingbin, Zhao Shudi, et al. Study on preparation and emulsification properties of distillers dried grains with solubles arabinoxylan hydrolysate/soy protein isolate complex[J]. Food & Machinery, 2026, 42(8): 26-32.

玉米酒糟(distillers dried grains with solubles, DDGS)是玉米酒精生产过程中产生的副产品^[1],随着玉米酒精产品的不断丰富和发展,DDGS产量逐年增多。长期以来,玉米酒糟多用于动物饲料,经济价值较低。研究^[2]表明,DDGS富含半纤维素、纤维素、蛋白质、脂肪等营养物质,但目前对其营养物质的挖掘和利用还存在明显不足。

阿拉伯木聚糖(arabinoxylan, AX)是DDGS中半纤维素成分的主要存在形式,主要由阿拉伯糖和木糖组成。研究^[3]表明,多糖的功能特性和生物活性与其结构特征(如相对分子质量、支链度、多糖链长度、聚合度)密切相关。因此,通过物理、化学以及生物法能够将多糖降解为小分子多糖,从而探究结构及功能特性之间的关系。

大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)是大豆油工业的副产品,主要由球蛋白(95%)和白蛋白(5%)组成^[4],是一种具有良好乳化活性的天然生物聚合物。因其营养价值高且价格相对较低,被广泛用作食品乳化剂,成为食品工业中最重要的植物源蛋白。在高离子强度的情况下或当pH接近等电点时,SPI容易发生聚结和絮凝,影响其功能特性的发挥。此外,SPI易受高温、有机溶剂和蛋白水解酶等的影响,在一定程度上限制了其应用范围^[5]。为拓宽蛋白质的用途,传统上常利用物理、化学或酶修饰提高蛋白质的功能特性^[6],其中美拉德反应作为一种有效、安全、温和、稳定的蛋白质修饰方法,具有广阔的应用前景。

美拉德反应是一种复杂的非酶褐变反应,即蛋白质分子侧链上的氨基与多糖或其他碳水化合物还原性末端的羰基之间的化学反应^[7]。研究^[8]结果表明,蛋白质—多糖共价复合物的多种功能特性都得到明显改善,包括乳化性能、溶解度(特别是在等电pH附近)和热稳定性。陈澄等^[9]研究发现,相对分子质量小的乳糖和葡聚糖更易与乳清分离蛋白发生美拉德反应,同时,对蛋白质二级结构的变化影响最大。虽然上述研究为多糖—蛋白类乳化剂的应用提供了参考,但多糖分子结构对乳化性能影响的相关研究相对较少。

研究前期通过碱提醇沉法获得了较高纯度的AX样品,在此基础上,拟通过酶法和酸水解的方式对AX进行可控降解,以期获得具有不同分子结构的AX降解产物。进一步将不同分子结构的AX降解产物与SPI通过美拉德反应进行共价结合,对AX-SPI共价复合物的结构和功能特性进行研究,从而拓展其在功能食品领域的应用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

玉米酒糟:鑫河阳酒精有限公司;

大豆分离蛋白:分析纯,北京索莱宝生物公司;

木聚糖酶:5万U/g,北京索莱宝生物公司;

三氟乙酸:分析纯,北京百灵威有限公司;

葵花籽油:上海佳格食品有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

气质联用仪:6890 N型,安捷伦科技有限公司;

傅里叶变换红外光谱仪:IS50型,美国尼高利仪器公司;

激光粒度分析仪:BT-9300H型,丹东百特仪器有限公司;

纳米粒度及Zeta电位分析仪:Zetasizer Advance型,英国马尔文帕纳科公司;

鼓风干燥箱:DGG-101-2B型,天津市天宇实验仪器公司;

圆二色谱仪:MOS-450型,法国Biologic公司。

1.2 方法

1.2.1 AX制备 利用碱提醇沉法提取AX^[10],样品洗涤、干燥并粉碎后过筛备用,预处理过的样品与无水乙醇以1:3(g/mL)的比例混合,室温搅拌2h,重复5次。沉淀物挥发干燥,并与去离子水以1:20(g/mL)的比例在95℃下加入耐高温 α -淀粉酶搅拌4h后干燥,得到除去脂肪和淀粉的样品。

除去脂肪和淀粉的样品以1:20(g/mL)的料液比在0.5 mol/L NaOH溶液中室温搅拌12h,离心(4 000 r/min, 30 min),将上清液pH调至4.0,4℃静置8h,离心收集上清液,加入3倍体积无水乙醇,4℃静置8h后离心(4 000 r/min, 5 min),沉淀物在60℃下溶解完全后二次醇沉,再次离心(4 000 r/min, 5 min)并用去离子水溶解后,透析72h,浓缩,冻干得到AX。

1.2.2 水解物制备 将AX配制成质量分数为1%的溶液,用木聚糖酶(1.0 g/L)在50℃下处理不同时间(5, 30, 60 min),沸水浴后离心并冷冻干燥^[11],得到3种不同分子结构的AX,分别命名为:高相对分子质量酶解产物(AX_{E1})、中相对分子质量酶解产物(AX_{E2})和低相对分子质量酶解产物(AX_{E3});80℃下,用0.05 mol/L三氟乙酸水解不同时间(5, 20, 30 min)后醇沉离心^[10]得到3种不同分子结构的AX,分别命名为:高相对分子质量酸解产物(AX_{A1})、中相对分子质量酸解产物(AX_{A2})和低相对分子质量酸解产物(AX_{A3})。

1.2.3 化学组成分析 用BCA蛋白定量试剂盒^[12]测定AX及其水解产物的蛋白含量;分别采用苯酚—硫酸法^[13]和间羟基联苯比色法^[14]测定总糖和糖醛酸的含量;使用配备有RID-20A检测器的高效凝胶排阻色谱法测定相对分子质量^[15]。

1.2.4 甲基化分析 参照Guo等^[16]的方法进行测定。样品(4.0 mg)在80℃下真空干燥,加入DMSO(0.5 mL),用氮气密封并在室温下搅拌至完全溶解。加入NaOH(20.0 mg)搅拌2h后加入0.5 mL碘甲烷搅拌2.5 h,将所

有游离羟基转化为甲氧基。样品在 100 ℃下用 4 mol/L TFA 水解 6 h,在室温下用 NaBD₄ (4 mg) 还原 12 h,然后加入乙酸酐使样品生成部分甲基化的乙酸酐醛(PMAA),完全溶解在二氯甲烷中进行分析。

1.2.5 阿拉伯木聚糖—大豆分离蛋白复合物制备

(1) 物理混合物制备:将 SPI 与 1.2.2 中制备的多糖样品按 1:2 (g/g) 的比例完全溶解于去离子水中,冷冻干燥并研磨成粉末,得到 AX-SPI 物理混合物(AX-M、AX_{A1}-M、AX_{A2}-M、AX_{A3}-M、AX_{E1}-M、AX_{E2}-M、AX_{E3}-M)。

(2) 共价复合物制备:将冻干粉末置于 80 ℃、相对湿度 79% 的干燥器 5 h,得到 AX-SPI 共价复合物(AX-SPI、AX_{A1}-SPI、AX_{A2}-SPI、AX_{A3}-SPI、AX_{E1}-SPI、AX_{E2}-SPI、AX_{E3}-SPI)^[17]。

1.2.6 AX-SPI 共价复合物结构表征

(1) 傅里叶红外光谱分析:将干燥样品(1 mg)和溴化钾(150 mg)混合均匀并研磨成粉末,压成片状后,在波数范围为 4 000~500 cm⁻¹、分辨率为 4 cm⁻¹ 的条件下,进行 32 次扫描。

(2) 圆二色谱分析:通过圆二色谱对蛋白质的二级结构进行研究^[18]。取 1.6 mg 样品完全溶解于 8.0 mL PBS 磷酸盐缓冲液(pH 7.2~7.4, 0.01 mol/L)并离心,取上清液。在 190~260 nm 处测定样品中蛋白质的二级结构。

1.2.7 AX-SPI 共价复合物的功能特性

(1) 褐变程度(browning intensity, BI)测定:称取 SPI 以及 AX-SPI 共价复合物配制成 2.0 mg/mL 的溶液,在 420 nm 处测定样品的吸光度^[19]。

(2) 蛋白质溶解度测定:称取 50.0 mg 样品溶解在 5.0 mL PBS 磷酸盐缓冲液中,用 1.0 mol/L HCl 或 NaOH 溶液将样品 pH 调至 4.5。室温搅拌 30 min 后,离心(10 000 r/min, 20 min),收集上清液。按式(1)计算蛋白质溶解度^[20]。

$$S_p = \frac{W_1}{W_2} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:

S_p——蛋白质溶解度,%;

W₁——上清液蛋白质量浓度,mg/mL;

W₂——离心前总蛋白质量浓度,mg/mL。

1.2.8 AX-SPI 共价复合物乳液的乳化特性

(1) 水包油乳液制备:将 0.2 g 样品 75 ℃下完全溶解于去离子水(98.8 mL)中,加入 1.0 g 葵花籽油,使用高速剪切机在 7 000 r/min 下剪切 2 min,用高压均质机在 180 kPa 下均质 3 min 得到乳液,并以相同的方法制备含阿拉伯胶(gum arabic, GA)的乳液作为对照。

(2) 乳液粒径测定:使用激光粒度分析仪测量乳液的粒度分布,水和葵花籽油的折射率设为 1.333 和 1.449,遮蔽率达到 15%~20%,测定其在 0, 1, 3, 7, 14 d 的体积平均粒径(D_{4,3})。

(3) 乳液 Zeta 电位测定:用去离子水将乳液稀释 100 倍后,用纳米粒度及 Zeta 电位分析仪检测样品的 Zeta 电位值。

1.2.9 数据处理与统计分析 所有试验数据均进行 3 次重复,表示为平均值±标准偏差,使用 SPSS 26.0 进行显著性分析,P<0.05 为统计学显著性。采用 Origin 2021 软件用于拟合数据。

2 结果与分析

2.1 化学组成和相对分子质量分析

由表 1 可知,提取所得的 AX 总糖含量为 81.34%,糖醛酸含量为 2.24%,蛋白质含量为 6.92%,其基本组成与前期研究^[10]结果相近。随着水解时间的增加,总糖含量均有所降低,糖醛酸含量均有所升高;这可能是因为糖醛酸对水解具有特殊的抵抗力,其对质子进攻形成的空间位阻更大,更难以被水解。酸水解处理后蛋白质含量变化不明显,而酶水解产物的蛋白含量有所升高,这是因为 AX 连接的蛋白质主要集中在分子内部,酶水解作用导致多糖的主链断裂,更多的蛋白质被暴露出来,含量也随之增加。

由表 2 可知,通过提取获得的 AX 的相对分子质量为 539 020,经不同方式处理后 AX 的相对分子质量随水解

表 1 AX 及其水解产物的化学组成和相对分子质量[†]

Table 1 Chemical composition and relative molecular mass of AX and its hydrolysates

样品	总糖含量/%	蛋白含量/%	糖醛酸含量/%	相对分子质量
AX	81.34±2.47 ^a	6.92±0.14 ^c	2.24±0.19 ^e	539 020±16 670
AX _{A1}	79.06±4.04 ^{ab}	5.34±0.35 ^d	3.26±0.25 ^b	377 570±16 840
AX _{A2}	77.56±2.45 ^{ab}	4.93±0.34 ^d	2.65±0.26 ^d	153 750±7 890
AX _{A3}	72.25±2.36 ^c	4.90±0.11 ^d	4.61±0.26 ^a	66 430±2 770
AX _{E1}	80.86±2.62 ^a	8.78±0.72 ^b	2.77±0.22 ^{cd}	364 870±13 070
AX _{E2}	74.73±2.43 ^{bc}	8.10±0.78 ^b	2.89±0.09 ^{bcd}	12 956±2 770
AX _{E3}	78.11±0.66 ^{ab}	9.70±0.68 ^a	3.13±0.22 ^{bc}	82 900±1 490

† 同列字母不同表示差异显著(P<0.05)。

表2 AX及其水解产物的甲基化分析

Table 2 Methylation analysis of AX and its hydrolysates

样品	连接方式	PMAA	摩尔分数/%						
			AX	AX _{A1}	AX _{A2}	AX _{A3}	AX _{E1}	AX _{E2}	AX _{E3}
阿拉伯糖	T-Araf	2,3,5-Me ₃ -Ara	26.3±0.4	22.9±0.1	14.2±1.1	18.7±0.1	21.8±0.2	21.2±0.2	23.6±1.4
	3-Araf	2,5-Me ₂ -Ara	2.9±0.1	4.3±0.0	3.9±0.2	2.1±0.1	4.6±0.0	1.8±0.1	3.1±0.2
	2-Araf	3,5-Me ₂ -Ara	3.1±0.1	3.4±0.1	2.8±0.1	1.5±0.0	2.2±0.0	1.3±0.1	1.5±0.1
	2,5-Araf	3-Me-Ara	6.2±0.2	6.1±0.0	9.2±0.3	5.0±0.3	4.4±0.1	5.4±0.5	5.0±0.4
木糖	T-Xylp	2,3,4-Me ₃ -Xyl	9.8±0.1	13.7±0.3	10.0±0.7	8.2±0.4	10.0±0.1	10.5±0.6	8.1±0.5
	4-Xylp	2,3-Me ₂ -Xyl	15.5±0.2	19.8±0.2	20.9±0.6	25.0±0.0	11.0±0.2	13.0±0.6	14.2±0.1
	3,4-Xylp	2-Me-Xyl	20.5±0.0	15.8±0.3	19.3±0.4	17.5±1.5	26.0±0.0	20.0±0.5	19.5±0.0
	2,3,4-Xylp	Xyl-(OAc) ₅	11.7±0.2	8.7±0.0	8.0±0.6	7.8±0.1	13.0±1.0	7.4±0.5	8.2±0.6
半乳糖	T-Galp	2,3,4,6-Me ₄ -Gal	2.1±0.1	2.7±0.1	5.6±0.1	6.5±0.3	1.3±0.2	7.6±0.4	3.0±0.3
葡萄糖	T-Glcp	2,3,4,6-Me ₄ -Glc	0.0±0.0	0.8±0.0	1.9±0.2	2.7±0.1	1.1±0.0	4.7±0.1	5.4±0.1
	4-Glcp	2,3,6-Me ₃ -Glc	2.0±0.0	1.8±0.1	4.2±0.1	4.9±0.3	4.8±0.3	7.3±0.5	8.5±0.6

时间增加分别降低至66 430和82 900,说明水解处理有效降低了AX的相对分子质量。

2.2 甲基化

改性前后的甲基化结果分析如表2所示。AX主要由阿拉伯糖残基(38.49%)、木糖残基(57.42%)、半乳糖残基(2.12%)、葡萄糖残基(1.97%)组成。其中阿拉伯糖残基大部分为T-Araf(26.25%);木糖残基大部分为3,4-Xylp(20.46%)。说明提取所得的AX是以3,4-Xylp为主链,T-Araf为支链的结构。

由表2可知,经降解处理后多糖的糖残基类型没有改变,但摩尔分数不同。在三氟乙酸处理下,随水解时间增加,阿拉伯糖残基摩尔分数下降,其中主要是T-Araf的断裂,说明三氟乙酸主要作用于T-Araf;在木聚糖酶处理下,随水解时间增加,木糖残基摩尔分数下降,这是木聚糖酶作用于主链的结果,木聚糖酶能够通过裂解木糖主链上的 β -(1,4)糖苷键来使多糖主链断裂,多糖主链长度变短。

2.3 AX-SPI共价复合物结构表征

2.3.1 傅里叶红外光谱分析 如图1所示,SPI的典型光谱特征峰出现于 $1\ 655\text{ cm}^{-1}$ (C=O拉伸,Amide I区)、 $1\ 541\text{ cm}^{-1}$ (N—H变形,Amide II区)以及 $1\ 399\text{ cm}^{-1}$ (C—N拉伸和N—H弯曲,酰胺III)处。

与AX-M相比,共价复合物在 $1\ 655,1\ 541\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰显著减小,这证实了SPI与AX发生了共价结合并导致NH₂基团和羰基基团的损失,特别是赖氨酸。在 $3\ 600\sim3\ 200\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰变宽,并移动到了更高的波数处,表明美拉德反应增加了偶联物中的氢键数目。此外,在 $1\ 180\sim953\text{ cm}^{-1}$ 区域的吸收峰,AX-SPI共价复合物强度更高,说明偶联物中新形成的C—N共价键有较强的伸缩振动,这也进一步表明AX主要是通过C—N共价键与SPI发生共价结合^[21]。

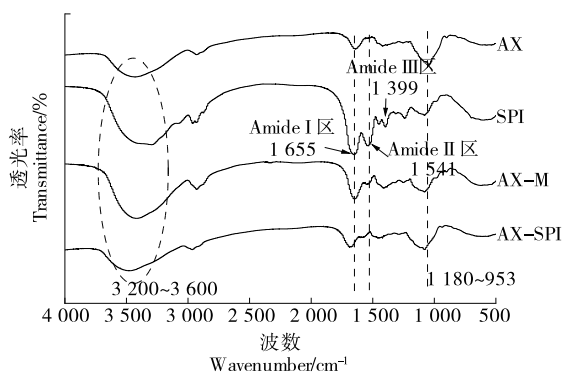


图1 AX、SPI、AX-M和AX-SPI复合物的FT-IR图

Figure 1 FT-IR spectra of AX, SPI, AX-M, and AX-SPI complex

2.3.2 圆二色谱分析 如表3所示,SPI和复合物均含有4种二级结构(α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲),其中, β -折叠(31.74%~49.48%)和无规卷曲(23.98%~28.69%)是主要二级结构。所有共价复合物的 α -螺旋结构、无规卷曲结构较SPI有所减少, β -折叠结构显著增加,表明蛋白质的二级结构受到美拉德反应的影响^[20]。在这种情况下,共轭物的结构转向更稳定的状态,溶解度等功能特性有所增加,这也与Liu等^[20]报道的结果相当。 α -螺旋结构含量的降低正是多糖中的羰基和蛋白质的 α -螺旋中或附近的 ϵ -氨基之间发生缩合的结果^[22];而 β -折叠结构增加是因为共价结合可通过美拉德反应增强相邻蛋白质分子之间的相互作用^[23]。圆二色谱分析结果同样表明,AX与SPI之间通过美拉德反应发生了共价结合。

2.4 AX-SPI共价复合物的功能特性

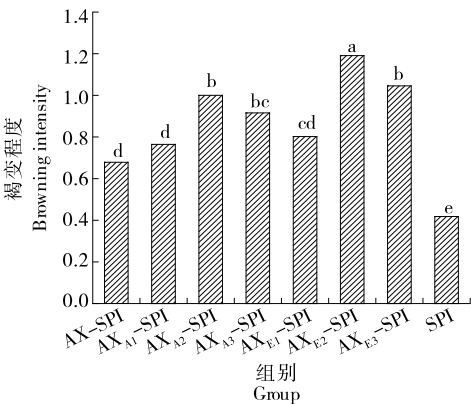
2.4.1 褐变程度 由图2可知,与SPI相比,AX-SPI共价复合物的BI值显著增加,且均随多糖相对分子质量的降

表 3 SPI、AX-SPI 共价复合物的表观二级结构含量[†]

Table 3 Apparent secondary structure contents of SPI and AX-SPI covalent complex

样品	α -螺旋/%	β -折叠/%	β -转角/%	无规卷曲/%
AX-SPI	3.28 ± 0.13^e	49.48 ± 0.74^a	22.53 ± 0.44	24.71 ± 0.16^{bc}
AX _{A1} -SPI	3.34 ± 0.22^e	48.83 ± 0.25^a	22.94 ± 0.05	24.89 ± 0.02^{bc}
AX _{A2} -SPI	2.78 ± 0.08^e	49.32 ± 0.10^a	22.72 ± 0.06	25.19 ± 0.12^b
AX _{A3} -SPI	4.67 ± 0.20^d	47.44 ± 0.63^b	22.63 ± 0.16	25.26 ± 0.27^b
AX _{E1} -SPI	7.66 ± 0.56^b	45.54 ± 1.17^c	22.64 ± 0.17	24.11 ± 0.51^c
AX _{E2} -SPI	6.72 ± 0.67^c	46.42 ± 0.37^{bc}	22.89 ± 0.27	23.98 ± 0.56^c
AX _{E3} -SPI	2.74 ± 0.22^e	49.03 ± 0.04^a	22.92 ± 0.03	25.31 ± 0.16^b
SPI	17.16 ± 0.63^a	31.74 ± 0.13^d	22.41 ± 0.13	28.69 ± 0.62^a

[†] 同列字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。



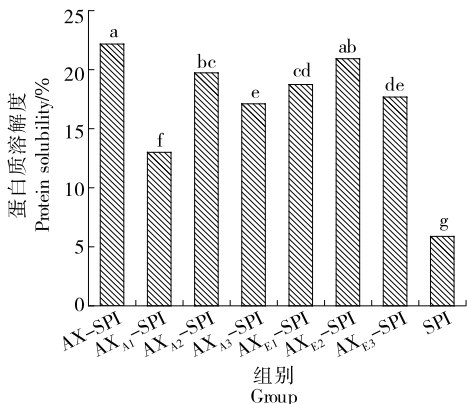
字母不同表示褐变程度差异显著 ($P < 0.05$)

图 2 SPI、AX-SPI 共价复合物的褐变程度

Figure 2 Browning degree of SPI and AX-SPI covalent complex

低呈先升高后降低的趋势,说明相对分子质量是影响美拉德反应发生较为重要的因素,且相对分子质量越小的糖越易与蛋白质发生共价结合,越易向反应较高程度阶段进行。而BI值有所降低的原因在于在美拉德反应达到最佳水平并占据大部分共价结合位点后,SPI单体与自身反应的数量增加,并形成新的蛋白质聚集体,从而降低了共价结合效率^[24]。而AX_{E1}-SPI、AX_{E2}-SPI、AX_{E3}-SPI的褐变程度整体更高,这是因为酶解处理主要作用于主链,其所形成的多糖空间位阻较酸解产物更小,可供蛋白结合的位点增多,更易与蛋白质发生共价结合。研究结果进一步证实了AX和SPI之间发生了美拉德反应,且多糖的相对分子质量及多糖链长度对美拉德反应进行程度具有重要影响。

2.4.2 蛋白质溶解度 如图3所示,AX-SPI共价复合物的蛋白质溶解度显著高于SPI,表明偶联物在天然蛋白等电点区域的溶解度得到明显改善,主要归因于AX的加入增加了复合物结构中的亲水性基团—OH的数量,其空间



字母不同表示蛋白质溶解度差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 SPI、AX-SPI 共价复合物的蛋白质溶解度

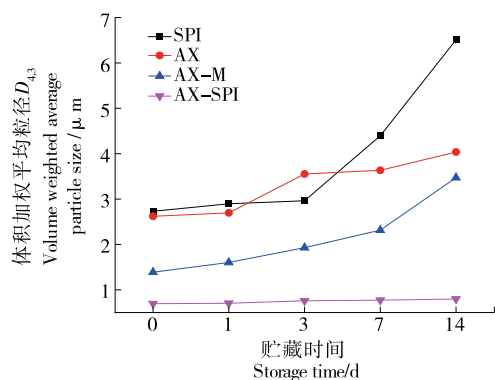
Figure 3 Protein solubility of SPI and AX-SPI covalent complex

稳定性增强^[25]。共价复合物的蛋白质溶解度随多糖相对分子质量的降低均呈先升高后降低的趋势,且AX_{E1}-SPI、AX_{E2}-SPI、AX_{E3}-SPI的蛋白质溶解度要高于AX_{A1}-SPI、AX_{A2}-SPI、AX_{A3}-SPI,这是因为酶水解处理后所形成的多糖链较酸水解更短、空间位阻较小,更易与蛋白进行结合,使蛋白质表面出现了更多的亲水性多糖,有效阻止了蛋白质的聚集^[26]。

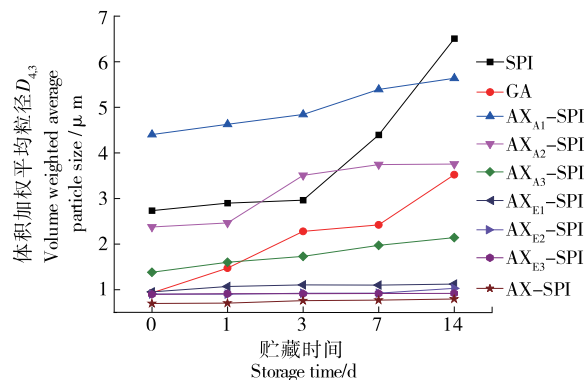
2.5 AX-SPI共价复合物的乳化特性

2.5.1 粒径 通过不同贮藏时间乳液中油滴的体积加权平均粒径($D_{4,3}$)变化来评估样品的乳化性质。如图4(a)所示,AX-SPI混合物和共价复合物在第0天时显示出比单独的SPI或AX更低的 $D_{4,3}$ 值,表明AX与SPI共价结合能够改善SPI的乳化性能。这是由于共价复合物的两亲性结构,有利于其在油水界面的吸收,抑制了油滴的絮凝和聚结,以致形成具有较小液滴尺寸的乳液。

由图4(b)可知,与SPI、GA相比,共价复合物的 $D_{4,3}$ 值随多糖相对分子质量的降低而降低,且在贮藏时间内



(a) 单体、物理混合物和AX-SPI共价复合物的比较



(b) 不同相对分子质量酶解产物的AX-SPI共价复合物的比较

图4 SPI、AX、AX-M和AX-SPI共价复合物稳定乳液14 d内的体积加权平均粒径变化

Figure 4 Variation of volume-weighted average particle size of emulsions stabilized by SPI, AX, AX-M, and AX-SPI covalent complex within 14 d

增长幅度更小,这可能是因为在一定的范围内,随相对分子质量的降低,AX-SPI共价复合物的空间排斥力增强,从而抑制了乳液的聚集和沉积,说明相对分子质量对于乳液的乳化性能有明显影响;且AX_{E1}-SPI、AX_{E2}-SPI、AX_{E3}-SPI的乳液粒径小于AX_{A1}-SPI、AX_{A2}-SPI、AX_{A3}-SPI,表明当相对分子质量相近时,多糖链长度越短,乳化性能越好。

2.5.2 Zeta电位 如图5所示,相比于SPI和混合物,共价复合物制备的乳液的电位绝对值有所提升,说明添加AX后SPI所稳定的乳液液滴所带电荷增强,共价复合物拥有更大的空间位阻和静电斥力。张朵朵等^[27]发现,麦麸阿拉伯木聚糖与豌豆分离蛋白共价复合后,所得样品电位绝对值更高,其所形成的乳液稳定性也更强。当AX相对分子质量/多糖链长度越小时,多糖的还原端与肽链上的游离氨基反应增加,使得游离氨基减少,蛋白质携带的负电荷相对增加。此外,在美拉德反应过程中会产生影响蛋白质负载电荷和蛋白质聚集状态的化学物质。

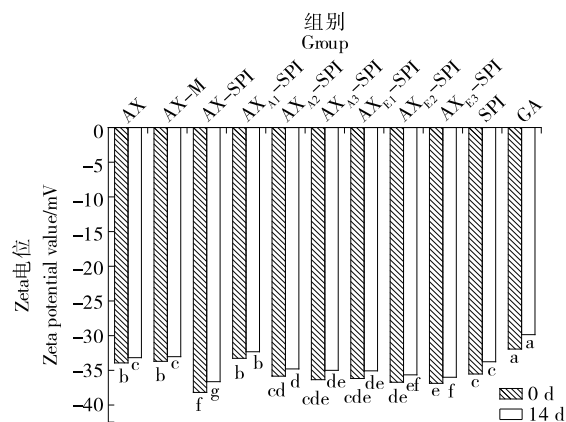
字母不同表示Zeta电位值差异显著($P < 0.05$)

图5 乳液14 d内的Zeta电位值

Figure 5 Zeta potential values of emulsions within 14 d

3 结论

木聚糖酶和三氟乙酸处理均能明显降低阿拉伯木聚糖的相对分子质量,且在相对分子质量相近时,木聚糖酶处理的阿拉伯木聚糖多糖链长度更短。将不同分子结构的阿拉伯木聚糖与大豆分离蛋白在干热条件下进行美拉德反应,通过圆二色谱和傅里叶红外光谱分析,验证形成了共价复合物。研究表明,阿拉伯木聚糖分子结构的不同会显著影响美拉德反应的进程,相对分子质量越小的阿拉伯木聚糖更易与大豆分离蛋白发生美拉德反应,也更容易向较高程度的反应阶段进行。与混合物或单独的阿拉伯木聚糖/大豆分离蛋白相比,阿拉伯木聚糖一大豆分离蛋白共价复合物表现出更好的蛋白质溶解度、乳化能力、稳定性等功能特性;复合物的功能特性与阿拉伯木聚糖的相对分子质量和多糖链长度密切相关:相对分子质量和多糖链长度越小的阿拉伯木聚糖,其美拉德反应产物形成的空间排斥力越大,乳化性和稳定性等功能特性明显提高。

参考文献

- [1] Ray G W, Li X H, He S Q, et al. A review on the use of distillers dried grains with solubles (DDGS) in aquaculture feeds[J]. *Annals of Animal Science*, 2022, 22(1): 21-42.
- [2] Mlynekova Z, Ceresnakova Z, Formelova Z, et al. Chemical and nutritional characteristics of different types of DDGS for ruminants[J]. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2012, 21(3): 425-435.
- [3] Chen H, Liu Y, Yang T, et al. Interactive effects of molecular weight and degree of substitution on biological activities of arabinoxylan and its hydrolysates from triticale bran[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 166: 1409-1418.
- [4] Hattori M, Okada Y, Takahashi K. Functional changes in

- β -lactoglobulin upon conjugation with carboxymethyl cyclodextrin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(9): 3 789-3 794.
- [5] Sakamoto H, Kumazawa Y, Motoki M. Strength of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction conditions[J]. Journal of Food Science, 1994, 59(4): 866-871.
- [6] Dursun Capar T, Yalcin H. Protein/polysaccharide conjugation via Maillard reactions in an aqueous media: impact of protein type, reaction time and temperature[J]. LWT-Food Science & Technology, 2021, 152: 112252.
- [7] Pirestani S, Nasirpour A, Keramat J, et al. Structural properties of canola protein isolate-gum Arabic Maillard conjugate in an aqueous model system[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 79: 228-234.
- [8] Liu J H, Ru Q M, Ding Y T. Glycation a promising method for food protein modification: physicochemical properties and structure, a review[J]. Food Research International, 2012, 49(1): 170-183.
- [9] 陈澄, 赵璟仪, 杨姣, 等. 不同相对分子质量的糖对乳清分离蛋白糖基化反应产物功能特性的影响[J]. 食品科技, 2021, 46(11): 229-235.
- Chen C, Zhao J Y, Yang J, et al. Effect of different relative molecular mass sugars on the functional properties of whey protein isolate glycosylation reaction products[J]. Food Science and Technology, 2021, 46(11): 229-235.
- [10] Kang J, Guo Q B, Shi Y C. Molecular and conformational properties of hemicellulose fiber gum from dried distillers grains with solubles[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 80: 53-59.
- [11] 朱雪芮. 乳清分离蛋白—阿拉伯木聚糖复合物的制备与功能性质研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2021: 2.
- Zhu X R. Preparation and functional properties of whey protein isolate-arabinoxylan conjugates[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2021: 2.
- [12] Lowry O, Rosebrough N, Farr A L, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent[J]. Journal of Biological Chemistry, 1951, 193(1): 265-275.
- [13] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Analytical Chemistry, 2002, 28(3): 350-356.
- [14] Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. New method for quantitative determination of uronic acids[J]. Analytical Biochemistry, 1973, 54(2): 484-489.
- [15] Liu H H, Fan Y L, Wang W H, et al. Polysaccharides from lycium barbarum leaves: isolation, characterization and splenocyte proliferation activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51(4): 417-422.
- [16] Guo Q B, Cui S W, Wang Q, et al. Structural characterization of a low-molecular-weight heteropolysaccharide (glucomannan) isolated from Artemisia sphaerocephala Krasch [J]. Carbohydrate Research, 2012, 350: 31-39.
- [17] Zhu X R, Meng L Y, Song S, et al. Insight into the mechanisms of the excellent emulsification properties of whey protein isolate-arabinoxylan conjugates[J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2022, 27: 100312.
- [18] Allahdad Z, Varidi M, Zadmand R, et al. Binding of β -carotene to whey proteins: multi-spectroscopic techniques and docking studies[J]. Food Chemistry, 2019, 277: 96-106.
- [19] Liu L, Li X D, Du L L, et al. Effect of ultrasound assisted heating on structure and antioxidant activity of whey protein peptide grafted with galactose[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 109: 130-136.
- [20] Liu Y, Zhao G L, Zhao M M, et al. Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through Maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2012, 131(3): 901-906.
- [21] Xu Y, Yang N, Yang J X, et al. Protein/polysaccharide intramolecular electrostatic complex as superior food-grade foaming agent[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101: 105474.
- [22] Hattori M, Nagasawa K, Ametani A, et al. Functional changes in β -lactoglobulin by conjugation with carboxymethyl dextran [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42(10): 2 120-2 125.
- [23] Mangavel C, Barbot J, Popineau Y, et al. Evolution of wheat gliadins conformation during film formation: a fourier transform infrared study[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(2): 867-872.
- [24] Chen L, Chen J S, Ren J Y, et al. Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(6): 2 600-2 609.
- [25] Mu L X, Zhao M M, Yang B, et al. Effect of ultrasonic treatment on the graft reaction between soy protein isolate and gum acacia and on the physicochemical properties of conjugates[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(7): 4 494-4 499.
- [26] Martins S I F S, Jongen W M F, Van Boekel M A J S. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling[J]. Trends in Food Science & Technology, 2000, 11(9/10): 364-373.
- [27] 张朵朵, 朱婷伟, 陈复生, 等. 小麦麸皮阿拉伯木聚糖/豌豆分离蛋白复合物的乳化性能研究[J]. 食品研究与开发 2022, 43(4): 1-8.
- Zhang D D, Zhu T W, Chen F S, et al. Emulsifying properties of wheat bran arabinoxylan/pea protein isolate complex[J]. Food Research and Development, 2022, 43(4): 1-8.