

贮藏过程中米谷蛋白纤维聚集体 理化性质变化规律

Changes of physicochemical properties of rice glutelin fibril aggregates during storage

黄 慧^{1,2} 王传洋^{1,2} 李世超^{1,2} 俞 健^{1,2}

HUANG Hui^{1,2} WANG Chuan-yang^{1,2} LI Shi-chao^{1,2} YU Jian^{1,2}

王发祥^{1,2} 刘永乐^{1,2} 李向红^{1,2}

WANG Fa-xiang^{1,2} LIU Yong-le^{1,2} LI Xiang-hong^{1,2}

(1. 长沙理工大学食品与生物工程学院, 湖南 长沙 410114;

2. 湖南省水生资源食品加工工程技术研究中心, 湖南 长沙 410114)

(1. School of Food and Biological Engineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha, Hunan 410114, China; 2. Hunan Provincial Engineering Technology Research Center of Aquatic Food Resources Processing, Changsha, Hunan 410114, China)

摘要:目的:探究贮藏时间与不同加热时间下米谷蛋白纤维聚集体(Rice glutelin fibril aggregates, RGFAs)溶液功能特性之间的关系。方法:以米谷蛋白(Rice glutelin, RG)为原料,在 85 ℃、pH 2.0 的条件下加热 2~15 h 制备得到 RGFAs,在 4 ℃下分别贮藏 1 d 和 4 d,测定不同 RGFAs 样品的表面疏水性、乳化性、剪切黏度、RGFAs-淀粉混合物糊化特性及水解率。结果:在低温贮藏 4 d 后,乳化性得到明显改善;热处理 2~10 h 形成的 RGFAs 溶液的表面疏水性显著降低($P<0.05$),而 15 h 热处理后形成的 RGFAs 溶液表面疏水性无显著变化($P>0.05$),同时 15 h-RGFAs 溶液体系的剪切黏度降低。贮藏 1 d 的 2 h-RGFAs 与淀粉混合物的糊化温度最低(83.98 ± 0.08) ℃,且贮藏 1 d 的 RGFAs 样品与小麦淀粉混合物的水解率更低。结论:贮藏 1 d 的 RGFAs 样品对小麦淀粉的水解抑制作用优于贮藏 4 d 的 RGFAs 样品。

关键词:蛋白质纤维聚集体;粒径;黏度;淀粉糊化;抑制

Abstract: Objective: To explore the relationship between functional properties of rice glutelin fibril aggregates (RGFAs) solution formed by different storage and heating time. **Methods:** The

RGFAs samples were prepared by heating rice glutelin (RG) at 85 ℃ and pH 2.0 for 2~15 h, and stored at 4 ℃ for 1 day and 4 days, respectively. The surface hydrophobicity, emulsifying property, shear viscosity of RGFAs samples as well as the gelatinization characteristics and hydrolysis rate of the mixture of RGFAs and starch were measured. **Results:** After storage at 4 ℃ for 4 days, the emulsifying properties were significantly improved. The surface hydrophobicity of RGFAs solution formed by heat treatment for 2~10 h decreased significantly ($P<0.05$), while the surface hydrophobicity of RGFAs solution formed after 15 h of heat treatment did not change significantly ($P>0.05$), and the shear viscosity of 15 h-RGFAs solution decreased. The gelatinization temperature of the mixture of starch and 2 h-RGFAs stored for 1 day was the lowest (83.98 ± 0.08) ℃, and the hydrolysis rate of the mixture of starch and RGFAs samples stored for 1 day was lower than that of other samples. **Conclusion:** The inhibition of wheat starch hydrolysis by RGFAs samples stored for 1 day was better than that by RGFAs samples stored for 4 days.

Keywords: protein fibril aggregates; particle size; viscosity; starch gelatinization; inhibition

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:32072262);湖南省教育厅重点项目(编号:19A027)

作者简介:黄慧,女,长沙理工大学在读硕士研究生。

通信作者:李向红(1979—),女,长沙理工大学教授,博士。

E-mail: xianghongl@163.com

收稿日期:2022-05-12

几乎所有蛋白质均可通过自组装形成具有交叉 β -折叠结构的淀粉样纤维^[1]。经酸热处理得到的蛋白质纤维聚集体主要有两种保存方式,一是通过冷冻干燥得到固体样品^[2],二是以液体样品的形式进行储存^[3-4]。Wang 等^[5]认为蛋白质纤维溶液在酸性条件下贮存时,体系中

的单体、低聚物、原纤维、成熟原纤维和无定型聚集体之间存在动态平衡; Ahmed 等^[6]研究发现 $A\beta_{42}$ 低聚物在 37 °C 培养 6 h 后, 形成窄而细长的原纤维, 而在培养 12 d 后, 形成致密的网络结构; Lassé 等^[7]发现 5 种蛋白质纤维聚集体在室温下培养 7 d 后达到稳定的荧光强度值, 表明在贮存期间蛋白质纤维溶液经历了由原纤维向成熟纤维转变的过程。

Li 等^[8]研究发现米谷蛋白纤维聚集体对大米淀粉的体外消化性具有抑制作用, 米谷蛋白纤维聚集体溶液在贮存(4 °C)过程中荧光强度逐渐发生改变, 但其结构性质的演变尚未深入探讨。迄今为止, 贮藏对蛋白质纤维聚集体抑制淀粉消化性能的影响尚未见于报道。

研究拟将在 85 °C, pH 2.0 下加热不同时间(2, 4, 6, 8, 10, 15 h)形成的米谷蛋白纤维聚集体(RGFAs)溶液在 4 °C 冰箱贮藏 1 d 和 4 d, 然后测定 RGFAs 的表面疏水性、粒径、剪切黏度及其对小麦淀粉糊化及消化性的抑制作用, 以期揭示贮藏时间与蛋白纤维聚集体溶液功能特性之间的关系, 为食品蛋白质纤维聚集体的保存及应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大豆油: 金龙鱼, 益海嘉里粮油工业有限公司;

粳米: 市售;

小麦淀粉: 食品级, 郑州万邦食品有限公司;

葡萄糖试剂盒: 上海荣盛生物医药有限公司;

8-苯氨基-1-萘磺酸铵盐(ANS): 纯度 97%, 北京百灵威科技有限公司;

胃蛋白酶(250 U/mg)、 α -淀粉酶(5 U/mg)、转苷酶(260 U/mL); Sigma-aldrich 西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;

盐酸、氢氧化钠、三氯乙酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸、无水乙醇、十二烷基硫酸钠(SDS): 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

荧光分光光度计: F-7100 型, 日本日立公司;

纳米粒度电位仪: NanoBrook 90Plus 型, 美国布鲁克海文仪器公司;

流变仪: DHR-2 型, 美国沃特斯集团;

紫外-可见分光光度计: TU-1901 型, 北京普析通用仪器有限责任公司;

快速黏度测定仪: RVA-4500 型, 瑞典波通仪器公司;

集热式恒温加热磁力搅拌器: DF-101T 型, 巩义市予华仪器有限责任公司;

手持式均质机: T10 basic 型, 德国 IKA 公司;

真空冷冻干燥机: SCIENTZ-10N 型, 宁波新芝生物科技股份有限公司;

pH 计: PHS-3C 型, 上海雷磁精密仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 米谷蛋白的提取 参考李娜等^[9]的方法并稍作修改。称取 500 g 粳米粉溶于 5 L NaOH (0.05 mol/L) 溶液中, 常温低速搅拌 2 h, 离心(3 500 r/min, 30 min)后取上清液。采用 HCl(1 mol/L)调 pH 至 4.8, 离心(3 500 r/min, 20 min)后取沉淀。用 20 mL 去离子水溶解沉淀后调 pH 至 7.0, 接着将分散液与 500 mL 5% NaCl 溶液混合, 搅拌 1 h 后离心(3 500 r/min, 30 min)取沉淀。将沉淀溶于 250 mL 体积分数为 70% 的乙醇中, 搅拌 1 h 后, 抽滤取沉淀。最后将沉淀溶于 500 mL 去离子水中, 搅拌 20 min 后, 离心(3 500 r/min, 30 min)取沉淀, 重复水洗两次。将得到的沉淀物溶于少量去离子水中, 并置于-60 °C 冰箱中冷冻过夜, 冷冻干燥得到米谷蛋白粉末(RG)。

1.3.2 RGFAs 的制备 将一定质量的 RG 溶解于 0.05 mol/L 磷酸氢二钠-磷酸缓冲液(pH 2.0)中, 得到 20 mg/mL 的蛋白质分散液, 室温搅拌过夜, 使其充分水化。热处理前均质 3 min(4 档)使米谷蛋白进一步分散, 然后将蛋白质分散液置于具塞试管中, 并在(85±1) °C 下分别搅拌加热 2, 4, 6, 8, 10, 15 h, 得不同加热时间下的米谷蛋白纤维聚集体(RGFAs)。取样后立即冰水冷却, 待温度降至室温后置于(4±1) °C 冰箱贮藏 1 d 和 4 d 备用。

1.3.3 表面疏水性 参考 Dong 等^[10]的方法并稍作修改, 采用 ANS 荧光探针测定 RGFAs 的表面疏水性。将 ANS 粉末溶解于磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液(pH 7.0)中得到 8 mmol/L 的 ANS 溶液(室温避光, 现配现用)。将 RGFAs 液体样品的质量浓度分别稀释至 0.1~0.5 mg/mL, 取 2 mL 稀释后的样品溶液与 50 μ L ANS 探针混合 2 min 后, 使用荧光分光光度计测定荧光强度。设置激发波长 390 nm, 发射波长范围 400~600 nm, 扫描速度 1 200 nm/min, 激发和发射狭缝 5 nm, 电压 400 V。以 RGFAs 分散液的梯度浓度为横坐标, 测得的荧光强度值为纵坐标, 通过线性拟合得到的斜率即为样品的表面疏水性。

1.3.4 乳化性的测定 根据文献^[11-12]并稍作修改, 测定 RGFAs(1, 4 d)的乳化活性(EAI)及乳化稳定性(ESI)。将大豆油与大米谷蛋白纤维聚集体溶液按 $V_{\text{大豆油}}:V_{\text{大米谷蛋白纤维聚集体溶液}}=1:3$ 混合, 均质 1 min, 取 50 μ L 静置 0 min 及 10 min 后的乳液添加至 5 mL 0.1% SDS 溶液中, 混合均匀后, 立即测定吸光度, 设置波长为 500 nm。

乳化活性及乳化稳定性的计算公式:

$$E_{AI} = \frac{2.302 \times 2 \times A_0 \times D_F}{1\,000 \times \theta \times L \times C}, \quad (1)$$

$$E_{SI} = \frac{A_{10}}{A_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

- E_{Al} ——米谷蛋白纤维聚集体的乳化活性;
 E_{St} ——米谷蛋白纤维聚集体的乳化稳定性;
 A_0 ——乳液均质后静置 0 min 的吸光度;
 A_{10} ——乳液均质后静置 10 min 的吸光度;
 D_F ——稀释倍数,为 100;
 θ ——乳液中大豆油的体积分数,为 0.25;
 L ——比色皿的路径长度,为 1 cm;
 C ——样品的质量浓度, g/mL。

1.3.5 剪切黏度的测定 采用配备 40 mm 平板的流变仪对贮藏 1 d 和 4 d 的 RGFA 样品进行剪切黏度测试。设定模式为对数扫描;温度为 25 °C;剪切速率范围为 0.1~100 s⁻¹;平衡时间为 30 s。

1.3.6 RGFA-小麦淀粉混合物的糊化特性分析 将制备的 RGFA 液体样品(1,4 d)进行冷冻干燥得到固体样品。参考 Sun 等^[13]的方法并稍作修改,固定样品的总质量为 3.0 g,小麦淀粉与 RG 或 RGFA 的质量比为 5:1,再加入 25 mL 水,使得混合物的水分基为 14%,用快速黏度仪进行测试。设置淀粉糊化程序为:50 °C 维持 10 s,接着以 26 °C/min 的速度升温至 95 °C,维持 3.5 min 后,以 12 °C/min 的速度降至 50 °C。

1.3.7 RGFA-淀粉混合物中淀粉水解率的测定 参照文献[8]并进行适当修改。制备含 0.2 g/100 mL 淀粉与 0.8 g/100 mL RG 或 RGFA 的混合液,以纯淀粉为对照组。溶液用 NaOH(0.1 mol/L)调节 pH 至 7.0,于 95 °C 水浴锅中糊化 20 min 后立即冰浴冷却,再调节 pH 至 1.5。向每个样品消化瓶中加入 3 mL 含 15 mg/mL 胃蛋白酶的 HCl-KCl 缓冲液(pH 1.5),恒温摇床消化 1 h(37 °C,150 r/min),95 °C 水浴 1 min 使酶失活,立即冰水冷却。用 NaOH(0.1,1.0 mol/L)调节 pH 至 6.8,向每个样品消化瓶中加入 5 mL 含 5 mg/mL α -淀粉酶的 KH₂PO₄-NaOH(pH 6.8)缓冲液和 0.1 mL 转苷酶,37 °C 消化 0,20,50,70,90,120,150,180 min 后用 95 °C 水浴加热 1 min 灭酶,冰水冷却。取 10 μ L 样品与 1 000 μ L 葡萄糖试剂盒溶液混合,37 °C 水浴反应 10 min 后,测定 505 nm 处的吸光度。按式(3)计算淀粉水解率。

$$H = \left(\frac{A_0 \times 5.55 \times 18 \times 0.9}{A_1 \times C} \right) \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

- H ——淀粉水解率,%;
 A_0 ——样品管吸光度;
 A_1 ——标准管吸光度;
 C ——样品中总淀粉含量,mg/mL;
5.55——标准液浓度,mmol/L;
18——葡萄糖单位换算系数;
0.9——被消化的淀粉含量换算系数。

1.4 数据统计和分析

所有的试验均至少进行 3 次重复,每次试验均有 3 个

以上的平行样。采用 SPSS 软件的 Duncan 对表面疏水性、糊化参数进行显著性差异分析($P < 0.05$),采用 Origin 2021 及 Excel 2010 作图。

2 结果与分析

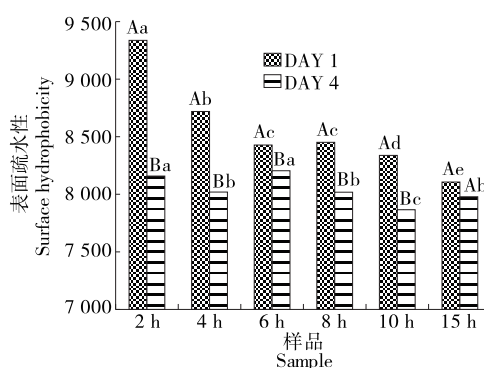
2.1 贮藏时间对 RGFA 表面疏水性的影响

研究表明,蛋白质在自组装纤维化的初期先发生水解,使得包埋在核内的疏水基团暴露在蛋白质表面^[14],从而增加与蛋白质分子接触的机会并促进蛋白质纤维化^[15]。

RGFA 样品在贮藏 1 d 和 4 d 后的表面疏水性如图 1 所示。贮藏 1 d 后,RGFA 样品的表面疏水性随加热时间(2~10 h)的延长显著降低,表明在自组装纤维化的过程中,暴露在蛋白质表面的疏水基团相互作用促进纤维聚集体的形成。Wei 等^[14]研究发现,卵转铁蛋白在自组装纤维化的过程中,当加热时间超过 3 h 后,卵铁蛋白表面疏水性逐渐下降,而纤维的数量相应地增多。

在经过 4 d 的贮藏后,RGFA 样品的表面疏水性随加热时间延长(2~10 h)显著下降,表明加热 2~10 h 形成的 RGFA 在低温酸性条件下贮藏时,通过疏水相互作用促进蛋白纤维结构的伸长和成熟。而加热 15 h 后的 RGFA 样品(简称为 15 h-RGFA)的表面疏水性在贮藏前后无显著差异,课题组前期通过透射电镜观察到贮藏 4 d 的 15 h-RGFA 的纤维结构发生断裂,Wang 等^[5]通过原子力显微镜也观察到在贮藏 7 d 后,大豆分离蛋白纤维中呈树枝状的纤维缩短或断裂,说明 15 h-RGFA 样品在贮藏过程中纤维结构的降解可能与氢键断裂有关^[16],而非疏水相互作用造成。

将米谷蛋白在高温(65~95 °C)下处理时,由于蛋白质结构逐渐展开,其表面疏水性以近似线性的方式显著



DAY1 代表贮藏天数为 1 d, DAY4 代表贮藏天数为 4 d; 小写字母表示贮藏天数相同加热时间不同的样品的差异性, 大写字母表示加热时间相同贮藏天数不同的样品的差异性, 字母不同表示有显著性差异($P < 0.05$)

图 1 贮藏 1 d 和 4 d 后的米谷蛋白纤维聚集体的表面疏水性

Figure 1 Surface hydrophobicity of rice glutelin fibril aggregates after storage for 1 and 4 days

提高^[17],说明米谷蛋白本身富含疏水性氨基酸。结合研究中 RGFAs 贮藏 1 d 和 4 d 的表面疏水值可知,在 RGFAs 的形成过程中,除了形成蛋白质纤维聚集体 β -折叠结构的主要作用力氢键以外^[18],疏水相互作用也发挥着重要的作用;RGFAs 表面亲水、疏水基团的分布会影响其与其他物质间的相互作用。

2.2 贮藏时间对 RGFAs 乳化性的影响

研究^[19]表明,蛋白质原纤维具有各向异性,其乳化效果优于刚性的球状蛋白。由图 2 可知,在贮藏 1 d 的 RGFAs 样品中,4 h-RGFAs 的乳化活性值最高,而后,随加热时间的延长,乳化活性值降低,这可能是由于 4 h-RGFAs 中存在较多短的纤维,而(6~15 h)-RGFAs 样品中纤维的长度较长。相关研究^[20-21]报道,与长的卵清蛋白纤维相比,短纤维的稳定界面具有更高的剪切模量,此外,短的纤维能减少损耗和桥接絮凝。而在贮藏 4 d 后,所有 RGFAs 样品的乳化活性值升高,这可能是由于纤维在贮藏的过程中,结构进一步发生演变,蛋白质的二级结构倾向于转化为 β -折叠结构,使得纤维数量增多。

食品油/水界面的稳定性依赖于界面膜的强度,即黏弹模量^[22]。由 RGFAs 样品稳定的乳液其稳定性呈先下降后上升的趋势,这可能是由于水解后的米谷蛋白、多肽

及长的柔性纤维聚集体具有更高的界面吸附能,使得形成的乳液稳定性更好。纤维在贮藏 4 d 后,其乳化稳定性也有所提高。综上,米谷蛋白纤维聚集体在贮藏 4 d 后,其乳化活性及乳化稳定性均得到改善。

2.3 贮藏时间对 RGFAs 黏度的影响

由图 3 可知,随剪切速率的增大,所有 RGFAs 样品均呈现剪切变稀的特性,这可能是由于在加速剪切过程中,缠绕的蛋白质纤维逐渐与剪切流对齐并发生解离^[23-24]。

如图 3(a)所示,在低剪切速率范围内($0.1 \sim 1.0 \text{ s}^{-1}$),RGFAs 样品的剪切黏度呈小幅度上升而后下降的趋势,反映了原纤维与低剪切流保持对齐的过程^[25],其中,15 h-RGFAs 样品的黏度变化最大,反映了其在剪切过程中,缠绕形成的网状结构受破坏的程度最大。在高剪切速率范围内,2 h-RGFAs 样品的剪切黏度明显高于其他样品,这可能与较大的流体动力学半径有关^[26]。

如图 3(b)所示,在剪切速率范围内($0.1 \sim 100 \text{ s}^{-1}$),2 h-RGFAs 样品的黏度值较高,这可能是由于贮藏 4 d 的 2 h-RGFAs 样品中仍有较大直径的颗粒存在,较大的流体动力学半径使得纤维样品表现出较大的剪切黏度;15 h-RGFAs 样品在贮藏 4 d 后黏度大幅降低,这可能与纤维结构发生解离和断裂,网状结构被破坏有关^[8]。

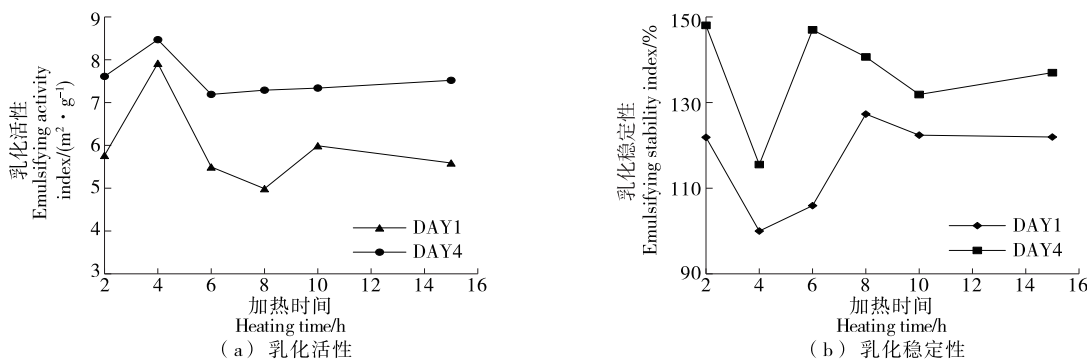


图 2 贮藏 1 d 和 4 d 的米谷蛋白纤维聚集体的乳化性活性及乳化稳定性

Figure 2 Emulsifying activity and stability of rice glutelin fibril aggregates after storage for 1 and 4 days

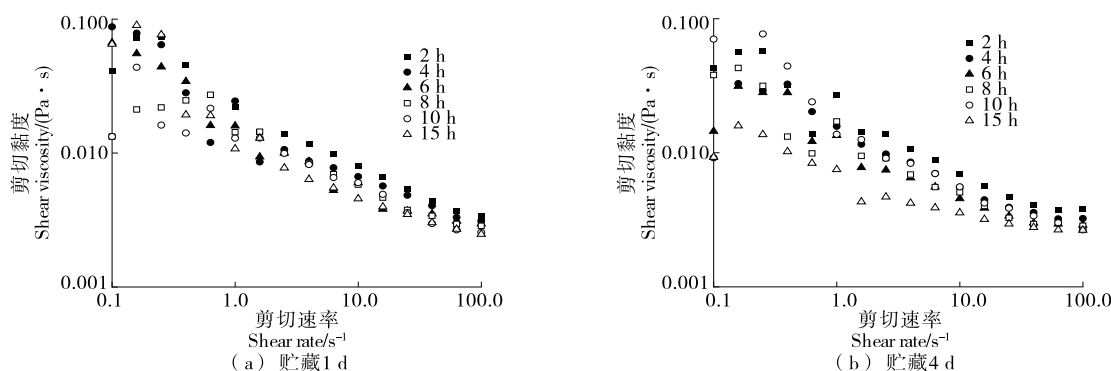


图 3 贮藏 1 d 和 4 d 的米谷蛋白纤维聚集体的剪切黏度

Figure 3 Shear viscosity of rice glutelin fibril aggregates after storage for 1 and 4 days

2.4 RGFAs 对小麦淀粉糊化特性的影响

根据 Li 等^[8]的研究发现,热处理 2 h 和 6 h 所产生的米谷蛋白纤维聚集体的结构及对大米淀粉的消化抑制作用具有显著性的差别,因此,以热处理 2 h 和 6 h 的 RGFAs 样品为研究对象,揭示贮藏时间(1,4 d)对米谷蛋白纤维聚集体抑制小麦淀粉消化性能的影响机制。

将 RG 或 RGFAs 和小麦淀粉混合加热,利用快速黏度分析仪观察混合体系中小麦淀粉糊化特性的变化,加热过程中淀粉糊化参数反映了淀粉悬浮液在升温、高温保持和冷却过程中黏度的变化,本质上反映了淀粉晶体和非晶态淀粉分子间的氢键断裂,可以一定程度上揭示 RG 或 RGFAs 和小麦淀粉间的相互作用^[27]。

淀粉的黏度与溶胀力、直链淀粉浸出含量及淀粉颗粒的破坏程度有关^[28]。RG/RGFAs 与小麦淀粉混合物的糊化特性测定结果如图 4 和表 1 所示,与纯小麦淀粉相比,添加 RG 或 RGFAs 的混合样品中淀粉的峰值黏度、崩解值、回升值均显著降低,糊化温度显著升高,这可能是由于 RG/RGFAs 与小麦淀粉的相互作用抑制了淀粉的糊化,降低了直链淀粉的浸出率,同时淀粉的热稳定性增加^[29],导致蛋白-淀粉混合体系的吸热峰向更高的温度移动^[30],也可能是由于蛋白质与淀粉的相互作用促进了新的氢键、疏水和静电相互作用形成,在糊化的过程中破坏新形成的键和相互作用需要更多的能量^[31];回升值的显著降低代表 RG/RGFAs 可以使淀粉的老化受到抑制或延缓^[32],说明淀粉分子的重排因 RG 或 RGFAs 的空间位阻作用而受到抑制。

与添加 RG 的混合物相比,RGFAs 对淀粉的糊化抑制现象更加明显,具体表现为峰值黏度由 $(1\,998.00 \pm 40.15) \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 降至 $(1\,462.00 \pm 11.14) \sim (1\,513.00 \pm 8.19) \text{ mPa} \cdot \text{s}$;糊化温度由 $(82.57 \pm 0.51)^\circ\text{C}$ 升至 $(83.98 \pm 0.08) \sim (85.62 \pm 0.80)^\circ\text{C}$ ($P < 0.05$),这可能是由于纤维聚集体具有极端长径比,对淀粉颗粒的物理屏障作用加强^[8];也可能是蛋白纤维聚集体表面积增加,与淀粉颗粒基质作用的官能团增加,形成氢键、静电和疏水相互作用,从而阻碍了淀粉的吸水膨胀和糊化。

对比贮藏 1 d 和 4 d 后的 2 h-RGFAs,6 h-RGFAs 样

品对小麦淀粉糊化参数影响发现,不管是贮藏 1 d 还是 4 d,6 h-RGFAs 样品与淀粉混合体系的峰值黏度和最终黏度均显著降低,表明 6 h-RGFAs 较大的长径比抑制了淀粉的糊化。根据 Xu 等^[33]的研究结果:蛋白质与直链淀粉混合体系的结合力主要来源于疏水相互作用,已知贮藏 1 d 的 2 h-RGFAs 样品具有最大的疏水值,应与直链淀粉的相互作用最强,从而降低淀粉中直链淀粉的浸出率,提高淀粉热稳定性和增加其糊化温度,但由表 1 可知,贮藏 1 d 的 2 h-淀粉组显示出最低的淀粉糊化温度 ($P < 0.05$),可能是因为糊化过程与纤维样品的结构、纤维与淀粉结合的相互作用力的类别及强度、竞争水分的机制不同有关。

2.5 RGFAs-淀粉混合物的消化水解率

由图 5 可知,纯淀粉经体外模拟肠消化 180 min 后,其水解率为 $(94.32 \pm 1.36)\%$;添加了米谷蛋白或 RGFAs 的淀粉水解率明显降低,水解率为 $(77.37 \pm 1.11)\% \sim (83.84 \pm 1.69)\%$,表明米谷蛋白及其纤维聚集体对淀粉的体外消化性具有抑制作用。在模拟体外消化过程中,蛋白质可作为物理屏障包裹淀粉颗粒^[34];或屏蔽淀粉颗粒表面酶的吸附点,抑制淀粉酶的活性^[35];或与酶结合,降低酶的催化作用^[36]。

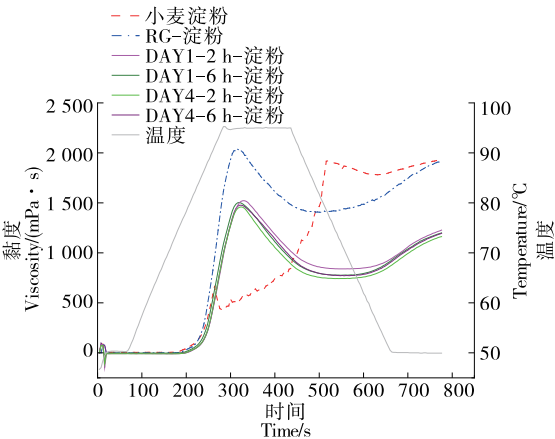


图 4 RG/RGFAs-小麦淀粉混合物的糊化曲线
Figure 4 Gelatinization curve of the mixture of RG/RGFAs and wheat starch mixture

表 1 贮藏 1 d 和 4 d 的米谷蛋白纤维聚集体-小麦淀粉混合物的糊化特性参数[†]

Table 1 Pasting characteristic parameters of the mixtures of rice glutelin fibril aggregates and wheat starch

样品	峰值黏度/(mPa·s)	低谷黏度/(mPa·s)	崩解值/(mPa·s)	最终黏度/(mPa·s)	回升值/(mPa·s)	糊化温度/℃
小麦淀粉	2 583.00±7.00 ^a	1 806.33±23.07 ^a	776.67±4.16 ^a	2 582.33±6.03 ^a	779.67±7.64 ^a	79.23±0.10 ^d
RG-淀粉	1 998.00±40.15 ^b	1 371.67±37.90 ^b	626.33±2.52 ^d	1 888.67±37.69 ^b	518.00±0.58 ^b	82.57±0.51 ^c
DAY1-2 h-淀粉	1 513.00±8.19 ^c	799.33±27.74 ^{cd}	713.67±19.14 ^b	1 223.00±23.52 ^c	420.00±3.61 ^d	83.98±0.08 ^b
DAY1-6 h-淀粉	1 479.67±2.52 ^{cd}	768.00±2.65 ^{de}	711.67±5.03 ^b	1 180.33±15.57 ^d	411.67±13.05 ^c	85.08±0.38 ^a
DAY4-2 h-淀粉	1 503.00±17.69 ^c	832.33±9.29 ^c	670.67±8.54 ^c	1 226.33±1.53 ^c	395.67±7.51 ^c	84.80±0.06 ^a
DAY4-6 h-淀粉	1 462.00±11.14 ^d	744.67±4.73 ^c	717.33±2.52 ^b	1 164.33±8.08 ^d	420.33±3.51 ^c	84.82±0.10 ^a

[†] DAY1 代表贮藏天数为 1 d, DAY4 代表贮藏天数为 4 d; 每列小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

对比米谷蛋白, RGFAs 对小麦淀粉水解的抑制效果更明显, 这可能是由于蛋白纤维具有极端长径比, 为小麦淀粉颗粒的结合提供了更多的蛋白质表面^[1,8]从而减缓了淀粉的糊化, 该推论与 2.3 得出的结论一致; 也可能是因为纤维与淀粉之间的相互作用(物理和/或化学)在空间上阻断了 α -淀粉酶对淀粉的水解作用。López-Barón 等^[37]指出, 在蛋白质变性过程中, 淀粉与蛋白质之间的疏水相互作用会加强, 从而促进变性蛋白对糊化淀粉底物的包裹作用。纤维化本质上也是蛋白质的酸热变性过程, 米谷蛋白在形成纤维聚集体后, 包裹在内部的疏水基团暴露, 促进与淀粉颗粒的疏水相互作用。

由图 5 可知, 贮藏 1 d 的 RGFAs 的水解率低于贮藏 4 d 的纤维样品。由图 1 可知, 贮藏 1 d 的 2 h-和 6 h-RGFAs 样品的表面疏水性显著高于贮藏 4 d 的样品, 表明疏水性的高低导致了蛋白质—淀粉相互作用的差异; 疏水性差异也可能与蛋白纤维消化后的水解物对抑制酶活性的强弱有关, Chi 等^[38]发现大米蛋白酶解物的氨基酸配体与 α -淀粉酶的催化残基通过氢键、静电相互作用和疏水相互作用结合来抑制 α -淀粉酶的酶活。无论是贮藏 1 d 还是 4 d, 2 h-RGFAs 样品的水解率略小于 6 h-RGFAs 样品的, 这可能与 2 h-RGFAs 较高的黏度有关(图 3), 研究^[34]报道, 蛋白质的存在会干扰淀粉颗粒在糊化过程中的水流动性, 此外, 黏度较高的蛋白质纤维聚集体样品粘附在淀粉颗粒表面, 使得淀粉酶难以和糊化淀粉接触, 从而使得淀粉水解率下降^[39]。

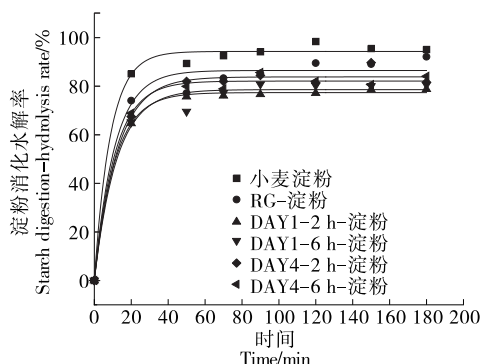
3 结论

米谷蛋白纤维聚集体在贮存过程中, 暴露在样品表面的疏水基团通过疏水相互作用促进纤维聚集体的生长和成熟; 加热 15 h 的米谷蛋白纤维聚集体样品的表面疏水性无显著变化, 但剪切黏度降低。在抑制小麦淀粉糊化和水解特性方面, 米谷蛋白纤维聚集体的表现优于米

谷蛋白的效果, 并且贮藏 1 d 的米谷蛋白纤维聚集体样品抑制小麦淀粉糊化的效果更好。米谷蛋白纤维聚集体的形状、表面疏水性、粒径和黏度等在贮存过程中的变化可能影响了其与淀粉的相互作用和淀粉酶与底物的可接触性, 然而, 米谷蛋白纤维聚集体抑制淀粉水解的机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] CAO Y P, MEZZENGA R. Food protein amyloid fibrils: Origin, structure, formation, characterization, applications and health implications[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2019, 269: 334-356.
- [2] FARROKHI F, BADI F, EHSANI M R, et al. Functional and thermal properties of nanofibrillated whey protein isolate as functions of denaturation temperature and solution pH[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2019, 583: 124002.
- [3] JI F Y, XU J J, OUYANG Y Y, et al. Effects of NaCl concentration and temperature on fibrillation, structure, and functional properties of soy protein isolate fibril dispersions[J]. *LWT*, 2021, 149: 111862.
- [4] LI T, WANG L, ZHANG X X, et al. Assembly behavior, structural characterization and rheological properties of legume proteins based amyloid fibrils[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 111: 106396.
- [5] WANG Y J, SHEN Y T, QI G Y, et al. Formation and physicochemical properties of amyloid fibrils from soy protein[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 149: 609-616.
- [6] AHMED M, DAVIS J, AUCCOIN D, et al. Structural conversion of neurotoxic amyloid- β_{1-42} oligomers to fibrils[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2010, 17(5): 561-567.
- [7] LASSÉ M, ULLUWISHEWA D, HEALY J, et al. Evaluation of protease resistance and toxicity of amyloid-like food fibrils from whey, soy, kidney bean, and egg white[J]. *Food Chemistry*, 2016, 192: 491-498.
- [8] LI S, JIANG Z Y, WANG F X, et al. Characterization of rice glutelin fibrils and their effect on in vitro rice starch digestibility[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 106: 105918.
- [9] 李娜, 李向红, 刘永乐, 等. 提取方法对米谷蛋白分子理化性质的影响[J]. *食品科学*, 2014, 35(3): 43-46.
LI Na, LI Xiang-hong, LIU Yong-le, et al. Effects of extraction methods on physicochemical properties of rice glutelin[J]. *Food Science*, 2014, 35(3): 43-46.
- [10] DONG S R, XU H H, LI B Y, et al. Inhibition or improvement for acidic subunits fibril aggregation formation from β -conglycinin, glycinin and basic subunits[J]. *Journal of Cereal Science*, 2016, 70: 263-269.
- [11] LI T, WANG L, GENG H, et al. Formation, structural characteristics, foaming and emulsifying properties of rice glutelin fibrils[J]. *Food Chemistry*, 2021, 354: 129554.
- [12] 顾楠, 张子沛, 吴锦波, 等. 不同处理方式对鹰嘴豆分离蛋白乳化性质的影响[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(12): 158-161.



DAY1 代表贮藏天数为 1 d, DAY4 代表贮藏天数为 4 d

图 5 米谷蛋白纤维聚集体—小麦淀粉混合物的体外消化性拟合曲线

Figure 5 Fitting curve of in vitro digestibility of rice glutelin fibril aggregates-wheat starch

- GU Nan, ZHANG Zi-pei, WU Jin-bo, et al. Effects of different treatments on emulsifying properties of chickpea protein isolates[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2011, 32(12): 158-161.
- [13] SUN Q, XIONG C S L. Functional and pasting properties of pea starch and peanut protein isolate blends[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 101: 1 134-1 139.
- [14] WEI Z H, HUANG Q R. Assembly of iron-bound ovotransferrin amyloid fibrils[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 89: 579-589.
- [15] MENG Y, WEI Z H, XUE C H. Protein fibrils from different food sources: A review of fibrillation conditions, properties, applications and research trends[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 121: 59-75.
- [16] OBOROCEANU, D. Characterization of β -lactoglobulin fibrillar assemblies[D]. Limerick: University of Limerick, 2011: 22-30.
- [17] JU Z Y, HETTIARACHCHY N S, RATH N. Extraction, denaturation and hydrophobic properties of rice flour proteins[J]. *Journal of Food Science*, 2001, 66(2): 229-232.
- [18] FITZPATRICK A W, KNOWLES T P J, WAUDBY C A, et al. Inversion of the balance between hydrophobic and hydrogen bonding interactions in protein folding and aggregation[J]. *PLoS Computational Biology*, 2011, 7(10): e1002169.
- [19] SERFERT Y, LAMPRECHT C, TAN C P, et al. Characterisation and use of β -lactoglobulin fibrils for microencapsulation of lipophilic ingredients and oxidative stability thereof[J]. *Journal of Food Engineering*, 2014, 143: 53-61.
- [20] HUMBLET-HUA N-P K, VAN DER LINDEN E, SAGIS L M C. Surface rheological properties of liquid-liquid interfaces stabilized by protein fibrillar aggregates and protein-polysaccharide complexes[J]. *Soft Matter*, 2012, 9(7): 2 154.
- [21] PENG J F, SIMON J R, VENEMA P, et al. Protein fibrils induce emulsion stabilization[J]. *Langmuir*, 2016, 32(9): 2 164-2 174.
- [22] 黄颖, 高志明, 吴彬娴, 等. β -乳球蛋白纤维化过程中的界面及乳化性质[J]. *食品科学*, 2018, 39(6): 20-25.
- HUANG Ying, GAO Zhi-ming, WU Bin-xian, et al. Changes in interfacial and emulsifying properties of β -Lactoglobulin protein during its fibrillation[J]. *Food Science*, 2018, 39(6): 20-25.
- [23] LOVEDAY S M, WANG X L, RAO M A, et al. β -Lactoglobulin nanofibrils: Effect of temperature on fibril formation kinetics, fibril morphology and the rheological properties of fibril dispersions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 27(1): 242-249.
- [24] XU J H, CHATTERJEE S, KOELLING K W, et al. Shear and extensional rheology of carbon nanofiber suspensions[J]. *Rheologica Acta*, 2005, 44(6): 537-562.
- [25] AKKERMANS C, GOOT A J, VENEMA P, et al. Formation of fibrillar whey protein aggregates: Influence of heat and shear treatment, and resulting rheology[J]. *Food Hydrocolloids*, 2008, 22(7): 1 315-1 325.
- [26] LIU G, ZHONG Q X. Dispersible and thermal stable nanofibrils derived from glycated whey protein[J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(7): 2 146-2 153.
- [27] CHEN B, ZHANG B, LI M N, et al. Effects of glutenin and gliadin modified by protein-glutaminase on pasting, rheological properties and microstructure of potato starch[J]. *Food Chemistry*, 2018, 253: 148-155.
- [28] CHEN L, REN F, ZHANG Z, et al. Effect of pullulan on the short-term and long-term retrogradation of rice starch[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 115: 415-421.
- [29] TAN X, LI C, BAI Y, et al. The role of storage protein fractions in slowing starch digestion in chickpea seed[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 129: 107617.
- [30] WANG L F, ZHANG L, WANG H L, et al. Insight into protein-starch ratio on the gelatinization and retrogradation characteristics of reconstituted rice flour[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 146: 524-529.
- [31] GUI Y, ZOU F, ZHU Y, et al. The structural, thermal, pasting and gel properties of the mixtures of enzyme-treated potato protein and potato starch[J]. *LWT*, 2022, 154: 112882.
- [32] 张敏, 徐燕, 周裔彬, 等. 大米蛋白对小麦淀粉理化特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(12): 101-104, 111.
- ZHANG Min, XU Yan, ZHOU Yi-bin, et al. Effects of rice protein on the physicochemical properties of wheat starch[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(12): 101-104, 111.
- [33] XU X, LIU W, ZHONG J, et al. Binding interaction between rice glutelin and amylose: Hydrophobic interaction and conformational changes[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 81: 942-950.
- [34] YANG C, ZHONG F, DOUGLAS GOFF H, et al. Study on starch-protein interactions and their effects on physicochemical and digestible properties of the blends[J]. *Food Chemistry*, 2019, 280: 51-58.
- [35] REN X, CHEN J, MOLLA M M, et al. *In vitro* starch digestibility and *in vivo* glycemic response of foxtail millet and its products[J]. *Food & Function*, 2016, 7(1): 372-379.
- [36] 周梦露, 钱晓洁, 孙冰华, 等. 蛋白质及其水解物对谷物淀粉糊化、回生及消化性的影响研究进展[J]. *中国粮油学报*, 2022, 37(2): 180-187.
- ZHOU Meng-lu, QIAN Xiao-jie, SUN Bing-hua, et al. The effect of protein and its hydrolysates on the gelatinization, retrogradation and digestibility of cereal starch: A review[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2022, 37(2): 180-187.
- [37] LÓPEZ-BARÓN N, SAGNELLI D, BLENNOW A, et al. Hydrolysed pea proteins mitigate *in vitro* wheat starch digestibility[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 79: 117-126.
- [38] CHI C, LI X, ZHANG Y, et al. Understanding the mechanism of starch digestion mitigation by rice protein and its enzymatic hydrolysates[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 84: 473-480.
- [39] 唐倩, 肖华西, 孙术国, 等. 植物蛋白及其酶水解产物对淀粉消化性的影响研究进展[J]. *中国粮油学报*, 2021, 36(5): 184-191.
- TANG Qian, XIAO Hua-xi, SUN Shu-guo, et al. Review on effects of plant protein and its enzymatic hydrolysate on starch[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2021, 36(5): 184-191.