

食盐对 β -乳球蛋白与花青素结合及其分子动力学的影响

管思彤¹ 胡 霄¹ 黄业传^{1,2}

(1. 荆楚理工学院食品与生物学院, 湖北 荆门 448000; 2. 荆楚理工学院特色食品功能挖掘与综合利用研究中心, 湖北 荆门 448000)

摘要: [目的] 探究食盐浓度对蛋白与小分子物质间结合的影响。[方法] 分别以 β -乳球蛋白和花青素作为目标蛋白和小分子, 采用分子动力学模拟研究在 5 种食盐浓度下 (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mol/L) 两者的结合规律和蛋白结构变化。[结果] 花青素主要结合在 β -乳球蛋白疏水腔处。在 150 ns 的分子动力学模拟中, 各食盐浓度下蛋白结构均较稳定, 其与小分子的结合也比较平稳; 但随 NaCl 浓度的增加, 蛋白间氢键、疏水表面积和 α -螺旋均有所降低, 同时 β -折叠在 0.75 mol/L 的食盐浓度下有所增加。两者的结合自由能先随食盐浓度的增加而增加, 在 0.50 mol/L 达到最大值后逐渐下降, 1.00 mol/L 时甚至远低于对照组, 主要是由于在 1.00 mol/L 的食盐浓度下, 范德华力、氢键作用和疏水作用力同时减弱引起的, 小分子在蛋白的结合位置也从疏水腔内部向表面靠近。[结论] 食品体系中食盐的添加量会显著影响蛋白与植物小分子的结合, 进而可能影响到蛋白的性质和小分子物质的生物活性。

关键词: NaCl; 花青素; β -乳球蛋白; 分子动力学

Molecular dynamics study of salt on the binding of β -lactoglobulin to anthocyanins

GUAN Sitong¹ HU Xiao¹ HUANG Yechuan^{1,2}

(1. College of Food and Biology, Jingchu University of Technology, Jingmen, Hubei 448000, China;
2. Characteristic Food Function Mining and Comprehensive Utilization Research Center,
Jingchu University of Technology, Jingmen, Hubei 448000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the effects of different NaCl concentrations on the binding of proteins to small molecules. [Methods] The β -lactoglobulin and anthocyanin were selected as the target protein and small molecule, respectively. Molecular dynamics simulations were conducted to study the binding patterns and protein structural changes under five NaCl concentrations (0, 0.25, 0.50, 0.75, and 1.00 mol/L). [Results] Anthocyanin mainly bound to the hydrophobic cavity of β -lactoglobulin. In the 150 ns molecular dynamics simulations, the protein structure remained stable at each NaCl concentration, and its binding with the small molecule was steady. However, with the increase in NaCl concentration, the hydrogen bonds between proteins, hydrophobic surface area, and α -helix content decreased, while the β -sheet content increased within the 0.75 mol/L NaCl concentration range. The binding free energy of the two components first increased with NaCl concentration, reached a maximum at 0.50 mol/L, and then gradually decreased. At 1.00 mol/L, it was even much lower than the control group, mainly due to the simultaneous weakening of van der Waals forces, hydrogen bonding, and hydrophobic interactions under 1.00 mol/L NaCl. Small molecules also moved from the interior of the hydrophobic cavity toward the surface at the protein binding site. [Conclusion] The amount of NaCl added in the food system significantly affects the binding of proteins to small plant molecules, which may further affect the properties of proteins and the biological activity of small molecules.

Keywords: NaCl; anthocyanins; β -lactoglobulin; molecular dynamics

基金项目: 湖北省大学生创新创业训练计划项目 (编号: S202411336027); 湖北省科技计划项目 (编号: 2022BEC031)

通信作者: 黄业传 (1975—), 男, 荆楚理工学院教授, 博士。E-mail: 563248056@qq.com

收稿日期: 2024-06-21 改回日期: 2025-01-14

牛乳的营养十分丰富,除了直接饮用外,也常作为配料添加到各种食物中。现在人们越来越注重食物的保健功能和营养价值,因此在一些非植物性食物中也经常加入植物原料。植物原料中含有一些小分子物质,如黄酮、花青素、类胡萝卜素,当植物原料与牛乳共存时,牛乳蛋白与这些小分子间不可避免会发生结合,结合会影响蛋白和小分子物质的功能性质,如蛋白的持水性及溶解性,小分子的生物活性等。小分子与蛋白间结合主要靠范德华力、疏水相互作用、氢键和静电相互作用等非共价键^[1],一些学者对二者结合的机理进行过研究^[2-5]。

大多数食物中或多或少都会加入一些调味料,特别是食盐和食糖,食盐或食糖的加入不可避免地会影响到其中蛋白的一些特性。目前关于食盐对蛋白结构与功能的影响较多学者进行了报道^[6-9],但食盐的添加是否会影响蛋白与小分子间的结合,以及不同浓度的食盐影响规律的差异尚未见报道。

蛋白与小分子的结合主要研究手段有两种,一是光谱技术等试验手段,但测得的只是蛋白的静态结构,而蛋白多数条件下处于动态变化,为从分子水平认识蛋白的动态变化,越来越多的研究者采用分子动力学模拟^[10],一些学者用分子模拟的手段研究了茶多酚^[11]、柑橘黄酮^[12]、姜黄素^[13]、芹菜素^[14]等与牛乳蛋白间的结合。这些模拟大部分都是在水溶液中进行,在食盐溶液中的模拟很少,陈星^[15]用分子模拟手段研究了钠离子对胰抑素蛋白结构稳定性的影响,关婧等^[16]用分子模拟手段研究了溶菌酶在食盐溶液中的聚集现象。但不同食盐浓度下蛋白与小分子的结合规律还未见报道。

牛奶中蛋白主要由酪蛋白和乳清蛋白组成,其中 β -乳球蛋白含量最丰富,具有良好的功能与营养特性,对疏水及两性配体均具有较好亲和力^[17],因而被广泛应用在食品工业中。研究拟用分子模拟的手段探究不同食盐浓度下, β -乳球蛋白与植物中常见的一种小分子花青素的结合规律及相关机理,为进一步提高植物活性成分的高值化利用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 β -乳球蛋白与花青素间的分子对接

从 RCSB 网站下载 β -乳球蛋白初始结构 ID 号为 3np0,然后用 PyMOL 软件进行分子结构整理,除去结晶水。花青素的三维结构用 ChemDraw Professional 17.1 和 Chem3D 17.1 绘制,并进行能量最小化。分子对接使用 AutoDock Tools (1.5.6 版本)软件,方法和对接参数参考孔庆新等^[18]的方法。

1.2 β -乳球蛋白与花青素于不同食盐浓度下结合的分子动力学模拟

以 1.1 中最优构象进行分子模拟,从复合物中剥离出小分子后并在 ATB 网站生成其 top 文件。分子模拟使用 Gromacs (2019.6) 软件^[19],先将小分子的 top 文件合并到蛋白的 top 中。选用 GROMOS54a7 力场^[20]和 SPC 水模型,蛋白离子盒子边缘最短距离设为 1 nm,向体系中添加食盐使其达到预设浓度并保持电中性,能量最小化使用最速下降法^[21]。然后参考孔庆新等^[22]的方法进行 NVT 和 NPT 平衡及 150 ns 的分子动力学模拟。模拟结束后,使用 gmx 命令分析不同食盐浓度下小分子和蛋白的均方根误差(RMSD)、蛋白残基波动(RMSF)、蛋白二级结构、可及表面积、蛋白间氢键、回旋半径(R_g)等。其中 RMSD 采用全部 150 ns 的数据,其他指标选取结构相对较稳定的后 50 ns (100~150 ns) 数据。

1.3 花青素与 β -乳球蛋白间 MM-PBSA 结合自由能计算

提取 5 组体系后 50 ns 的轨迹,借助 g_mmpbsa 计算工具,利用 MM-PBSA (molecular mechanics poisson-boltzmann surface area) 模块计算花青素与 β -乳球蛋白间的结合自由能^[23-24]。

1.4 花青素与 β -乳球蛋白结合的二维平面与表面结构图

提取 5 组复合物在 100~150 ns 的平均结构,用 LigPlot+ (V 2.2) 分析二者在结合口袋处的相互作用;并用 PyMOL 软件绘制蛋白与花青素结合的表面图^[25]。

1.5 数据分析与处理

用 Excel 2019 对数据进行处理,结果用平均值±标准差表示;作图用 Origin 8.0 软件。

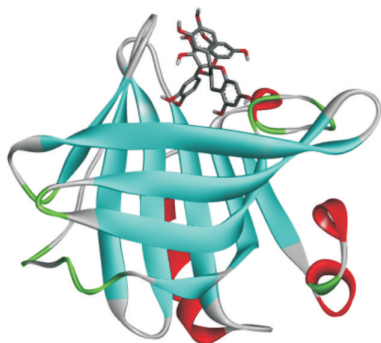
2 结果与分析

2.1 花青素在 β -乳球蛋白中的结合位点

如图 1,花青素主要结合在 β -乳球蛋白上部的疏水腔,分子对接的前 20 个优势构象全部在此处,只是结合姿势有所不同,这与但倩誉^[26]、刘婵^[11]的研究结论一致。研究^[18-19]发现,茶多酚除了主要结合在疏水腔外,也结合到蛋白下部的其他位置,但结合自由能低于疏水腔,这与 Al-Shabib 等^[27]研究芦丁与蛋白结合时得到的结论一致;Li 等^[28]发现小分子主要吸附在乳球蛋白的表面而非疏水腔,这些差异可能与小分子结构或模拟条件不同有关。图 1 为分子对接中能量最高的构象,后续分子模拟将以此构象为初始结构。

2.2 β -乳球蛋白与花青素在不同食盐浓度下结合的分子动力学分析

2.2.1 食盐浓度对均方根误差(RMSD)的影响 图 2 和图 3 分别为不同食盐浓度模拟体系中 β -乳球蛋白和花青素的 RMSD。从图 2 可以看出,蛋白的 RMSD 在整个模拟

图1 β -乳球蛋白与花青素的分子对接结果Figure 1 Molecular docking results of β -lactoglobulin and anthocyanin

中较为恒定,特别是80 ns后,只有1.0 mol/L溶液中蛋白的RMSD波动较大,因此后续部分指标分析时选取结构较稳定的100~150 ns数据。具体而言,100 ns后,随食盐浓度的增加,蛋白平均RMSD分别为0.272,0.258,0.243,0.266,0.324 nm。关婧等^[16]报道在0.5 mol/L的NaCl溶液中溶菌酶的RMSD大于对照组,而试验中食盐浓度为1.0 mol/L时的RMSD平均值远大于其他浓度的且波动较大,这种差异可能是体系不同引起的。

如图3所示,小分子的波动总体上大于蛋白,这与研究不同pH条件下茶多酚与 β -乳球蛋白结合时得到的结论类似^[22]。小分子也是在100 ns后保持稳定,除0.25 mol/L溶液中波动较大,其余4个样品都较稳定。与蛋白的RMSD有所不同,对照组小分子的RMSD波动最大,平均值为0.827 nm,随食盐浓度增加依次为0.676,0.611,0.654,0.624 nm,说明在食盐溶液中小分子相对更稳定。Gholami等^[3]、Al-shabib等^[27]在分别研究柚皮苷、芦丁与 β -乳球蛋白结合时,前者认为小分子波动比蛋白小,后者则发现两者波动相当。

2.2.2 食盐浓度对回旋半径(R_g)的影响 分析100 ns后

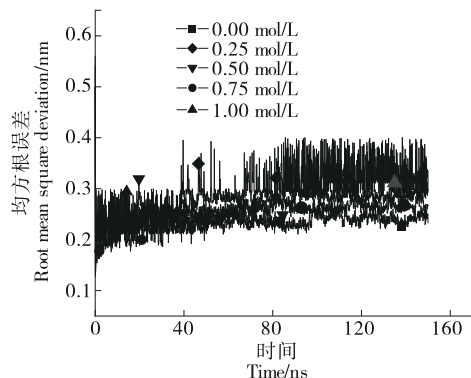


图2 食盐浓度对蛋白RMSD的影响

Figure 2 Effect of different salt concentrations on protein RMSD

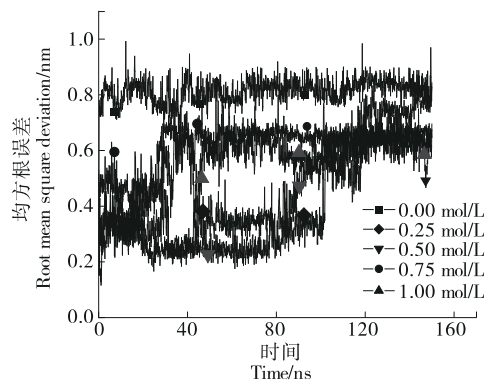


图3 食盐浓度对小分子RMSD的影响

Figure 3 Effect of different salt concentrations on small molecule RMSD

的平均回旋半径,如图4所示,食盐浓度为0.25 mol/L时平均回旋半径最大,为1.507 nm,随食盐浓度增加,回旋半径有减小的趋势,0.75,1.00 mol/L时分别为1.491,1.478 nm,说明食盐浓度越大,蛋白越容易形成相对致密的结构。陈星^[15]研究钠离子对鸡肽素蛋白结构的影响时也发现钠离子会增加蛋白的回旋半径。

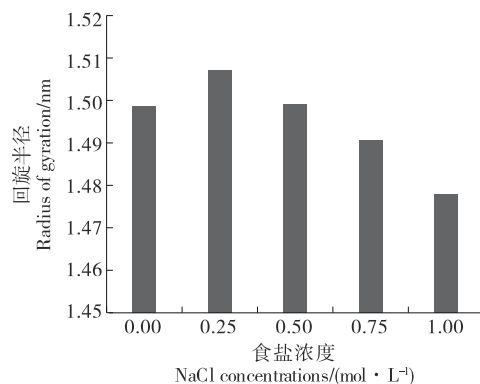


图4 食盐浓度对蛋白回旋半径的影响

Figure 4 Effect of different salt concentrations on protein Radius of gyration

2.2.3 食盐浓度对残基波动(RMSF)的影响 如图5所示,不同食盐浓度对蛋白氨基酸残基波动的影响不大,因此选取食盐浓度为0,0.25,1.00 mol/L的3组RMSF相对差异较大的数据进行分析。随食盐浓度的增加,平均残基波动依次为0.123 8,0.145 7,0.135 3 nm,与研究不同压力或pH条件下 β -乳球蛋白时得到的数据基本一致^[18-19]。朱玉珍等^[29]报道在浓度分别为0.1,0.3,1.0 mol/L的食盐溶液中,人类神经元钙传感蛋白的柔性也随食盐浓度升高而增加。就具体氨基酸残基而言,波动较大的有35、51、62、63、64、65、77、85、86、87、88、89、112、113、114、115号氨基酸残基,其中与小分子结合口袋或相邻处的有112号位的Glu和113号位的Pro。

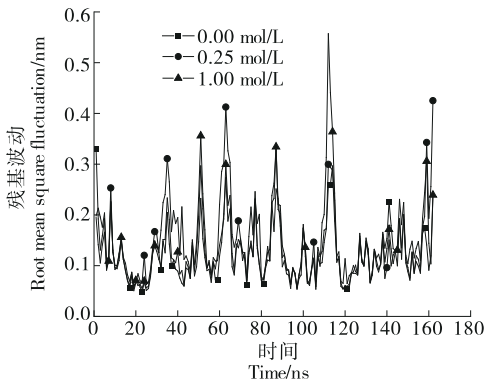


图5 食盐浓度对蛋白RMSF的影响
Figure 5 Effect of different salt concentrations on protein RMSF

2.2.4 食盐浓度对蛋白间氢键的影响 由图6可知,在研究的食盐浓度范围内,蛋白间氢键总体变化不大。选取100 ns后氢键数目的均值,可以看出,随着食盐浓度的增加,蛋白间氢键有减小的趋势,特别是0.75 mol/L时蛋白间氢键从对照组的122.1减少到119.2,这可能是食盐浓度的增加破坏了蛋白间氢键,也可能是 Na^+ 或 Cl^- 与蛋白形成了氢键。相关的研究^[15-16]也表明,食盐会破坏蛋白间氢键。

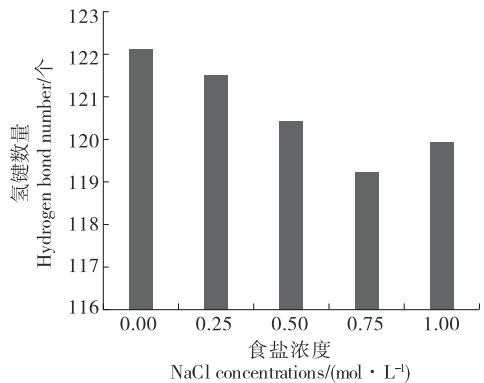


图6 食盐浓度对蛋白间氢键的影响
Figure 6 Effect of different salt concentrations on hydrogen bonds between proteins

2.2.5 食盐浓度对蛋白溶剂可及表面积的影响 如表1所示,总可及表面积在食盐浓度为0.75 mol/L以下,与对照组(即0 mol/L的样品)比较有所增加,而浓度为1.00 mol/L时则低于对照组。疏水表面积随食盐浓度的增加先增加后减少,0.50 mol/L时达最大值,只有浓度1.00 mol/L时小于对照体系,说明食盐浓度较低时(<1.00 mol/L时)会增加蛋白的疏水表面,这与部分研究者得到的结论一致,其中胡远辉等^[30]认为随着食盐浓度增大,鱼肌原纤维蛋白表面疏水性先显著上升,0.4 mol/L

时最大,后随食盐浓度的增大呈下降趋势;宋世超^[31]研究0.2~0.6 mol/L NaCl对鸡肉肌原纤维蛋白结构的影响时发现,蛋白表面疏水性随NaCl浓度升高而增大,主要是在盐溶液中蛋白有更多的疏水部分暴露出来,导致蛋白的整体疏水性增加。食盐浓度为1.0 mol/L时疏水性的降低可能是蛋白结构受到破坏。

表1 食盐浓度对蛋白溶剂可及表面积的影响
Table 1 Effect of different salt concentrations on the solvent accessible surface area of lactoglobulin

食盐浓度/ ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	总可及表面 积/ nm^2	疏水表面/ nm^2	亲水表面/ nm^2
0.00	89.64 ± 1.49	35.60 ± 1.10	54.03 ± 1.33
0.25	92.26 ± 1.68	35.94 ± 1.11	56.33 ± 1.18
0.50	92.17 ± 1.67	37.65 ± 1.12	54.52 ± 1.42
0.75	91.47 ± 1.59	36.71 ± 1.11	54.76 ± 1.23
1.00	89.50 ± 1.55	34.78 ± 1.02	54.72 ± 1.36

2.2.6 蛋白二级结构受食盐浓度的影响 从表2可以看出,不同食盐条件下蛋白二级结构变化规律不一致。0.25 mol/L时除了 β -折叠略有升高外,其他与对照组相当;随食盐浓度继续升高, α -螺旋逐渐降低,这可能与高盐浓度下蛋白间氢键的减少有关,氢键对 α -螺旋的稳定起着重要影响^[32];在0.25~0.75 mol/L浓度下 α -螺旋的下降与 β -折叠的增加是相对应的。食盐浓度为1.00 mol/L时 β -折叠和 α -螺旋同时降低,加上无规卷曲和转角总数量在食盐浓度较高时明显增加,说明当食盐浓度超过一定限值时,对蛋白二级结构存在明显破坏作用,这与RMSD的结果一致。陈星^[15]通过分子模拟得到类似的结论;胡远辉等^[30]和楼宵玮等^[9]通过试验手段也得到类似的结论;但陈画^[7]的研究表明适度的盐浓度造成了牛肉肌原纤维蛋白二级结构由 β -折叠向 α -螺旋转变,这可能是试验条件不同引起的,陈画的研究是NaCl对热诱导肌原纤维蛋白二级结构的影响,而且未采用分子模拟手段。

2.3 花青素与蛋白间的结合自由能

从表3可见, β -乳球蛋白与花青素的结合力主要为范德华力和静电作用,极性溶剂化能对两者的结合起阻碍作用。总结合能随食盐浓度的增加先增加然后减少,在0.50 mol/L时最大,其主要是由范德华力的增加引起的;而在1.00 mol/L时两者的结合能远低于对照组,主要也是由范德华力的减少所致,虽然静电作用力有所增加,但被增加的极性溶剂化能所屏蔽^[33];非溶剂化自由能主要反映疏水作用,其对总结合自由能的贡献不大,0.50 mol/L时的增加和1.00 mol/L时的降低与疏水表面积的变化基本一致。Ji等^[6]报道添加NaCl导致的静电屏蔽削弱了蛋

表2 食盐浓度对蛋白二级结构的影响

Table 2 Effect of different salt concentrations on the secondary structure of lactoglobulin

食盐浓度/(mol·L ⁻¹)	无规卷曲/个	β -折叠/个	弯曲/个	旋转/个	α -螺旋/个
0.00	34.72±2.55	63.17±2.75	28.45±3.01	11.88±3.68	21.52±3.58
0.25	34.35±2.32	64.50±2.20	27.94±2.92	11.72±3.32	21.27±3.52
0.50	35.33±2.13	64.77±2.19	29.50±2.81	12.20±3.52	20.37±3.17
0.75	34.16±2.62	64.00±2.62	27.48±2.52	14.25±3.01	20.00±3.04
1.00	35.44±2.20	62.25±2.16	28.35±2.58	14.41±2.82	18.37±2.82

白分子之间的静电排斥因而使静电相互作用有所增加。但试验过程中只有当食盐在0.75 mol/L及以上浓度时,静电作用增加的效果才比较明显。

很多研究者都报道了小分子与蛋白间的结合自由能,孔庆新等^[18-19]研究了不同压力和pH条件下茶多酚与

β -乳球蛋白间的结合自由能,得到的结合自由能数值基本一致;Al-shabib等^[27]报道芦丁和 β -乳球蛋白间的结合自由能相对较大,可能与小分子结构差异或计算方法不同有关。Zhan等^[33]发现 β -乳球蛋白与辣椒素结合时结合自由能也以范德华作用为主。

表3 不同食盐浓度对蛋白与花青素结合自由能的影响

Table 3 Effect of different salt concentrations on the binding affinity between protein and anthocyanin

食盐浓度/(mol·L ⁻¹)	范德华力/(kJ·mol ⁻¹)	静电作用力/(kJ·mol ⁻¹)	极性溶剂化能/(kJ·mol ⁻¹)	非极性溶剂化能/(kJ·mol ⁻¹)	总吸附能/(kJ·mol ⁻¹)
0.00	224.708±14.088	-43.770±15.565	160.898±34.896	-25.830±1.170	133.410±25.654
0.25	221.661±21.017	-38.786±10.892	141.137±21.378	-24.472±1.999	143.783±20.799
0.50	241.658±22.224	-36.741±14.191	158.768±36.653	-27.064±1.685	146.696±22.071
0.75	205.828±18.324	-62.601±13.622	159.704±20.605	-23.674±1.508	132.359±23.361
1.00	177.747±14.624	-74.021±20.235	190.971±24.933	-22.609±1.298	-83.406±21.694

为进一步探究不同氨基酸残基对结合自由能的贡献,将食盐浓度为0.50,1.00 mol/L(结合自由能分别最大和最小)体系中对小分子与蛋白结合有显著贡献(<-1.0 kJ/mol)或阻碍作用(>1.0 kJ/mol)的氨基酸及其能量贡献单独进行分析。如图7所示,当食盐浓度为0.50 mol/L时,有19个氨基酸对小分子与蛋白的结合起显著贡献作用,5个氨基酸起阻碍作用,特别是60位的赖氨酸;而食盐浓度为1.00 mol/L时,对两者结合有显著贡献的氨基酸残基减少到10个,起阻碍作用的依然是5个,特

别是62位的氨基酸从正作用到负作用,62和90位氨基酸的阻碍作用也显著增加。上述作用的综合结果导致食盐浓度为0.50 mol/L时小分子与蛋白的结合能远大于1.00 mol/L时的。

2.4 花青素与 β -乳球蛋白可能的结合机制分析

为进一步探究食盐对花青素与 β -乳球蛋白间结合的影响,以结合能最高和最低的两个体系为例进行分析,图8为0.50,1.00 mol/L食盐浓度下小分子与蛋白结合口袋处的二维平面图,可以看出,食盐浓度为0.50 mol/L时,

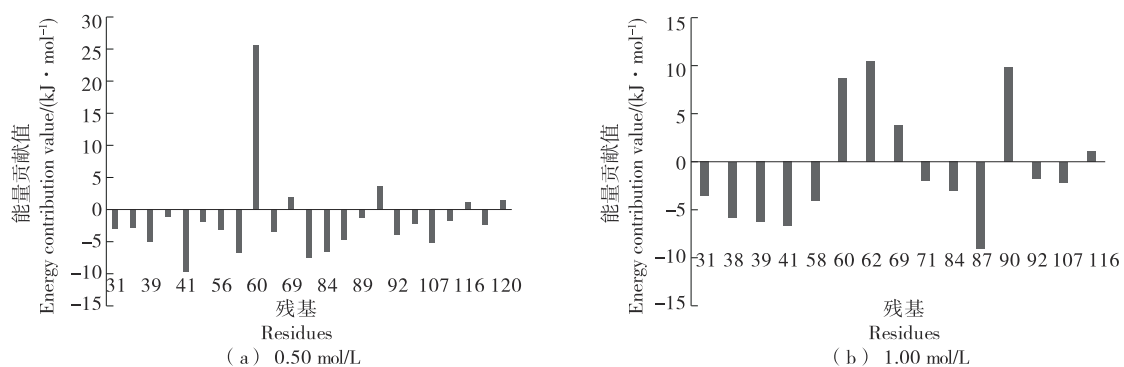


图7 主要残基对蛋白与花青素结合的能量贡献

Figure 7 Energy contribution of major residues to protein-anthocyanin binding

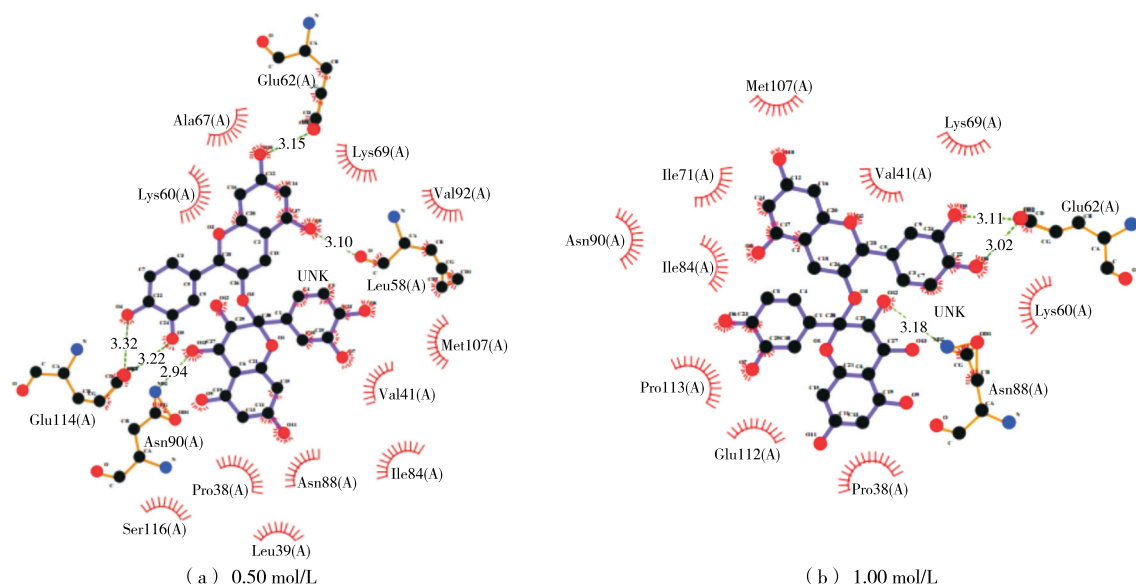


图8 蛋白与花青素结合的二维平面图

Figure 8 Two-dimensional planar diagram of protein binding with anthocyanins

小分子 UNK 与蛋白形成了 5 个氢键；而食盐浓度为 1.00 mol/L 时，只形成 3 个氢键。另外，从疏水环境来看，0.50, 1.00 mol/L 时周围分别有 11, 10 种氨基酸，只有 6 个氨基酸相同，真正的疏水氨基酸分别为 6, 4 个，贡献总能量为 -20.98 , -13.94 kJ/mol，说明前者小分子与蛋白间的疏水作用力强于后者。

Cheng 等^[34]发现矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷与 β -乳球蛋白间作用力主要是氢键和疏水作用；贾晶晶^[35]发现茶多酚与 β -乳球蛋白以疏水结合力为主，同时也有部分范德华力和氢键。试验中，花青素与 β -乳球蛋白的结合同时有氢键、疏水作用、静电作用与范德华力，1.00 mol/L 食盐浓度下小分子与蛋白的结合自由能显著低于 0.50 mol/L 浓度下的，主要是由于范德华力、氢键作用和疏水作用力同时减弱所致。有研究表明，不同 pH 下 EGCG 与 β -乳球蛋白间结合自由能的差异主要与范德华力、氢键和疏水作用的差异有关^[22]，而不同压力条件下则主要与范德华力和氢键作用有关^[18]。

用 PyMOL 软件绘制了 0.50, 1.00 mol/L 食盐浓度下 β -乳球蛋白和花青素结合的表面结构图，如图 9 所示，两者蛋白表面结构差异较大，食盐浓度为 0.50 mol/L 时，小分子的结合更靠近蛋白内部，结合前面的平面图分析也可以得出，0.50 mol/L 时小分子与蛋白间形成的氢键更多，周围的疏水环境也更强。因此，食盐浓度为 0.50 mol/L 相比浓度为 1.00 mol/L 小分子与蛋白间无论结合位置、结合机理都发生了较大变化。

3 结论

将不同浓度的食盐加入到 β -乳球蛋白溶液中，对蛋

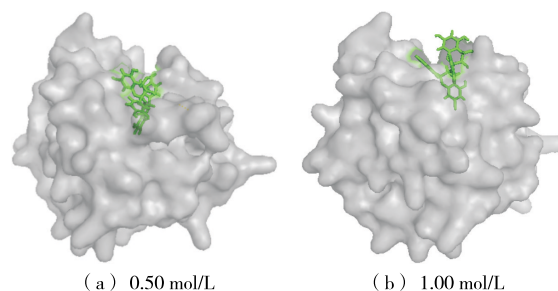


图9 蛋白与花青素结合的表面结构图

Figure 9 Surface structure of protein-anthocyanin binding

白结构和稳定性影响较小，在食盐浓度低于 0.75 mol/L 时 α -螺旋和蛋白间氢键减少，而 β -折叠和疏水表面积有所增加。但不同浓度的食盐会显著影响 β -乳球蛋白与小分子（花青素）的结合，结合自由能在 0.50 mol/L 食盐浓度时最大，而随后由于疏水作用、氢键相互作用、范德华力的减小，结合自由能显著降低，到 1.00 mol/L 食盐浓度时甚至远低于对照组。因此，不超过 0.50 mol/L 的食盐添加量可促进食品体系中蛋白与小分子的结合，而食盐浓度过高时不仅影响身体健康，也会减弱小分子活性物质于蛋白的吸附作用，进而可能影响其活性功能。

参考文献

- [1] PU P, ZHENG X, JIAO L N, et al. Six flavonoids inhibit the antigenicity of β -lactoglobulin by noncovalent interactions: a spectroscopic and molecular docking study[J]. Food Chemistry, 2021, 339: 128106.
- [2] GENG S, JIANG Z J, MA H J, et al. Interaction mechanism of

- flavonoids and bovine β -lactoglobulin: experimental and molecular modelling studies[J]. Food Chemistry, 2020, 312: 126066.
- [3] GHOLAMI S, BORDBAR A K. Exploring binding properties of naringenin with bovine β -lactoglobulin: a fluorescence, molecular docking and molecular dynamics simulation study[J]. Biophysical Chemistry, 2014, 187/188: 33-42.
- [4] VANAEI S, PARIZI M S, ABDOLHOSSEINI S, et al. Spectroscopic, molecular docking and molecular dynamic simulation studies on the complexes of β -lactoglobulin, safranal and oleuropein[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165: 2 326-2 337.
- [5] MOHSENI-SHAHRI F S, MOEINPOUR F, MALAEKEH-NIKOUEI B, et al. Combined multispectroscopic and molecular dynamics simulation investigation on the interaction between cyclosporine A and β -lactoglobulin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 95: 1-7.
- [6] 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-Food Science and Technology, 2021, 149: 111862.
- [7] 陈画. NaCl对热诱导肌原纤维蛋白结构及消化特性的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2023: 2.
- CHEN H. Exploring structure and in vitro gastrointestinal digestion of heatinduced myofibrillar proteins at different NaCl concentration[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2023: 2.
- [8] 孟嘉琪, 许树荣, 邓莎, 等. 食盐腌制对鸡肉品质、肌原纤维蛋白结构和功能特性的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(24): 45-53.
- MENG J J, XU S R, DENG S, et al. Effects of salt marinating on chicken quality and structure characteristics, function characteristics of chicken myofibrin protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(24): 45-53.
- [9] 楼宵玮, 蒋娅婷, 潘道东, 等. 氯化钠对肌原纤维蛋白与风味物质相互作用的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(5): 74-79.
- LOU X W, JIANG Y T, PAN D D, et al. Effect of NaCl on the interaction of flavor compounds with myofibrillar proteins[J]. Food Science, 2017, 38(5): 74-79.
- [10] 陈刚. 高压引发脂肪酶分子构象变化与催化行为关系的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017: 30-37.
- CHEN G. Study on the correlation between the conformational change and catalytic behavior of lipase induced by high pressure[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017: 30-37.
- [11] 刘婵. 体外消化环境下多酚与蛋白、酶间的竞争相互作用及其对多酚和蛋白功能特性的影响研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017: 1-2.
- LIU C. Competitive interaction between polyphenols and proteins, enzymes in vitro digestion and its effect on functional properties of polyphenols and proteins[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017: 1-2.
- [12] SAHIHI M, GHAYEB Y. An investigation of molecular dynamics simulation and molecular docking: interaction of citrus flavonoids and bovine β -lactoglobulin in focus[J]. Computers in Biology and Medicine, 2014, 51: 44-50.
- [13] MOHAMMADI F, SAHIHI M, BORDBAR A K. Multispectroscopic and molecular modeling studies on the interaction of two curcuminoids with β -lactoglobulin[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015, 140: 274-282.
- [14] ZHU J X, LI K J, WU H, et al. Multi-spectroscopic, conformational, and computational atomic-level insights into the interaction of β -lactoglobulin with apigenin at different pH levels[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105: 105810.
- [15] 陈星. 利用分子动力学方法研究金属离子对鸡胱抑素蛋白结构的影响[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2011: 9-21.
- CHEN X. Effect of ions on chicken cystatin C structure using molecular dynamics simulations[D]. Shenyang: Liaoning University, 2011: 9-21.
- [16] 关婧, 李辉, 邹志远, 等. 氯化钠促进溶菌酶聚集机制的分子动力学研究[J]. 东北师大学报(自然科学版), 2011, 43(3): 117-121.
- GUAN J, LI H, ZOU Z Y, et al. Mechanism study of sodium chloride on lysozyme aggregation investigated by molecular dynamics simulation[J]. Journal of Northeast Normal University (Natural Science Edition), 2011, 43(3): 117-121.
- [17] KANAKIS C D, HASNI I, BOURASSA P, et al. Milk β -lactoglobulin complexes with tea polyphenols[J]. Food Chemistry, 2011, 127(3): 1 046-1 055.
- [18] 孔庆新, 罗丽梅, 黄业传, 等. 分子动力学探究高压对 β -乳球蛋白与多酚结合的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(3): 107-114.
- KONG Q X, LUO L M, HUANG Y C, et al. The effect of high pressure on the combination of β -lactoglobulin and polyphenols using molecular dynamic model[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(3): 107-114.
- [19] ABRAHAM M J, MURTOLA T, SCHULZ R, et al. GROMACS: high performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers[J]. SoftwareX, 2015, 1/2: 19-25.
- [20] SCHMID N, EICHENBERGER A P, CHOUTKO A, et al. Definition and testing of the GROMOS force-field versions 54A7 and 54B7[J]. European Biophysics Journal, 2011, 40(7): 843-856.

- [21] HESS B, KUTZNER C, VAN DER SPOEL D, et al. GROMACS 4: algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation[J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2008, 4(3): 435-447.
- [22] 孔庆新, 黄业传, 徐伟平, 等. β -乳球蛋白与 EGCG 结合规律的分子动力学探究[J]. *食品与生物技术学报*, 2022, 41(1): 51-59.
- KONG Q X, HUANG Y C, XU W P, et al. Interaction between β -lactoglobulin and polyphenols investigated by molecular dynamics simulation[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2022, 41(1): 51-59.
- [23] 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.
- [24] ISLAM M A, PILLAY T S. β -secretase inhibitors for Alzheimer's disease: identification using pharmacoinformatics [J]. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2019, 37 (2): 503-522.
- [25] HUANG Y C, ZHANG X C, SUO H Y. Interaction between β -lactoglobulin and EGCG under high-pressure by molecular dynamics simulation[J]. *PLoS One*, 2021, 16(12): e0255866.
- [26] 但倩誉. β -乳球蛋白与川陈皮素相互作用机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019: 1.
- DAN Q Y. Research of interaction mechanism between β -lactoglobulin and nobiletin[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019: 1.
- [27] AL-SHABIB N A, KHAN J M, MALIK A, et al. Molecular insight into binding behavior of polyphenol (rutin) with beta lactoglobulin: spectroscopic, molecular docking and MD simulation studies[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2018, 269: 511-520.
- [28] LI T, HU P, DAI T T, et al. Comparing the binding interaction between β -lactoglobulin and flavonoids with different structure by multi-spectroscopy analysis and molecular docking[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 201: 197-206.
- [29] 朱玉珍, 李云翔, 蔡皓, 等. NaCl 浓度改变对人类神经元钙传感蛋白结构的影响: 来自分子动力学模拟证据[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(16): 2 549-2 557.
- ZHU Y Z, LI Y X, CAI H, et al. Variations of sodium chloride concentration affect conformational dynamics of human neuronal calcium sensor-1 protein: a molecular dynamics simulation study[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2018, 22(16): 2 549-2 557.
- [30] 胡远辉, 吕春霞, 廖慧琦, 等. NaCl 处理对养殖大黄鱼肌原纤维蛋白风味吸附及结构的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(14): 202-209.
- HU Y H, LU C X, LIAO H Q, et al. Effect of sodium chlorid treatment on flavor adsorption and structure of cultured large yellow croaker myofibrillar protein[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(14): 202-209.
- [31] 宗世超. NaCl 和三种多酚对鸡肉肌原纤维蛋白结构和凝胶品质的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2023: 1.
- ZONG S C. Effects of NaCl and three polyphenols on the structure and gel quality of chicken[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2023: 1.
- [32] MOZHAJEV V V, LANGE R, KUDRYASHOVA E V, et al. Application of high hydrostatic pressure for increasing activity and stability of enzymes[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 1996, 52(2): 320-331.
- [33] ZHAN F C, DING S, XIE W Y, et al. Towards understanding the interaction of β -lactoglobulin with capsaicin: multi-spectroscopic, thermodynamic, molecular docking and molecular dynamics simulation approaches[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 105: 105767.
- [34] CHENG J, LIU J H, PRASANNA G, et al. Spectrofluorimetric and molecular docking studies on the interaction of cyanidin-3-O-glucoside with whey protein, β -lactoglobulin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 105: 965-972.
- [35] 贾晶晶. 多酚类物质与牛乳 β -乳球蛋白及 β -半乳糖苷酶相互作用的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2018: 53.
- JIA J J. Study on interaction mechanism of β -lactoglobulin and β -galactosidase with phenolic compounds[D]. Jinan: Shandong Normal University, 2018: 53.