

## 谷氨酰胺酶催化交联大米蛋白对大米淀粉理化特性的影响

唐倩<sup>1</sup>, 肖华西<sup>1\*</sup>, 魏宇君<sup>1</sup>, 林亲录<sup>1</sup>, 张智忠<sup>2</sup>, 夏旭<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>中南林业科技大学食品科学与工程学院 特医食品加工湖南省重点实验室

食品安全监测与预警湖南省重点实验室 长沙 410004

<sup>2</sup>怀化市农业科学研究所 湖南怀化 418000)

**摘要** 为弄清谷氨酰胺酶(TG)催化交联前、后大米蛋白对大米淀粉理化特性的影响,测定淀粉的膨胀系数与溶解度、直链淀粉溢出率。采用红外光谱法、可见分光光度法、差示扫描量热仪(DSC)、快速粘度分析仪(RVA)等技术手段分析淀粉共混体系的结构特征和功能特性。结果表明,蛋白在 TG 酶催化下对淀粉的结构、消化率与其它功能特性均有显著影响,且大米蛋白与淀粉二者间相互作用增强,表现为:大米淀粉的膨胀系数由 13.24 g/g 降至最低,为 7.02 g/g,其直链淀粉溢出量降低 38.7%。在 TG 酶作用下,随着蛋白含量的增加,淀粉短程有序结构的稳定性逐渐增强。添加量为 10%的蛋白在 TG 酶的催化下对淀粉消化性减轻效果更好。TG 酶作用前、后蛋白对淀粉的热特性影响不大,而其糊化特性参数均明显下降,黏度也显著降低。TG 酶催化蛋白使得淀粉颗粒网络结构更加致密且聚集。结论: TG 酶催化交联蛋白对淀粉的改性效果显著。

**关键词** 大米淀粉; 大米蛋白; TG 酶; 催化交联; 理化特性

**文章编号** 1009-7848(2023)08-0094-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.08.011

大米淀粉(Rice starch, RS)是人类膳食中的主要成分。人体对淀粉消化吸收快,易引起血糖水平快速上升,这是人体产生高血糖反应的关键,易导致肥胖、糖尿病等慢性疾病的发生。出于对人体饮食健康的考虑,调控米制品中淀粉消化率愈加被重视。蛋白质作为食品中的主要成分,对淀粉的理化特性具有重要影响<sup>[1]</sup>。据了解,蛋白质对淀粉具有包埋作用,可限制淀粉酶与淀粉的接触,使其难以消化吸收。大米蛋白(Rice protein, RP)为谷物籽实体中提取的蛋白质,具有高生物价、氨基酸组成合理和低过敏性等特点。TG 酶是一类能够催化蛋白质中谷氨酰胺残基与赖氨酸之间酰基发生转移的酶<sup>[2]</sup>,通过这种交联造成蛋白质凝胶网络结构增强,进而提高食品的凝胶性和可塑性<sup>[3]</sup>。TG 酶黏合力强,pH 值稳定性好且热稳定性强,因在 pH 6.0 至 7.0 及温度 45 °C 至 55 °C 的范围都具有较高

的活性而被广泛应用<sup>[4]</sup>。

淀粉类食品作为重要的能量补充来源,其在加工及食用过程中的功能特性与其结构紧密关联<sup>[5-6]</sup>。蛋白质可导致淀粉链和聚集态结构出现不同程度的降解或破坏,最终影响淀粉聚集态结构的相变行为及重组过程中关键结构域的形成,继而改变相关米制品的营养品质。研究表明,淀粉的链结构在不同尺度空间排列形成的短程有序结构、螺旋结构、结晶结构、颗粒结构等聚集态结构会显著影响淀粉的消化性能<sup>[5,7-8]</sup>。在食品加工过程中,淀粉通过疏水、氢键、静电相互作用和范德华力等非共价作用与蛋白质、脂质、多酚和非淀粉多糖等交互结合形成各类复合物,进而影响淀粉的糊化、凝沉等功能特性<sup>[9]</sup>。叶晓汀<sup>[10]</sup>阐释了淀粉颗粒中通道蛋白的剥离过程可能削弱了蛋白对淀粉颗粒的保护作用,从而导致淀粉消化性、结晶度、黏度及糊化温度等特性的下降。余世峰等<sup>[11]</sup>研究玉米淀粉和大豆蛋白两相共存体系的相互作用,结果表明,玉米淀粉-大豆蛋白复合凝胶微观结构致密且孔隙增多,热稳定性高。也有研究表明,蛋白质经酶改性后,更容易与淀粉发生相互作用。López-Barón 等<sup>[12]</sup>研究了天然、变性和酶解的蛋白对小麦淀粉热力学特性的影响,发现变性后和酶解后的蛋白质增强了与淀粉之间的作用力,显著

**收稿日期:** 2022-08-30

**基金项目:** 湖南省教育厅重点项目(20A532);食品安全监测与预警湖南省重点实验室开放基金项目(2021KFJJ01);湖南省科技创新平台与人才工程项目(2017TP1021);湖南省重点研发计划项目(2020NK2020);长沙市重大专项(kh2003013)

**第一作者:** 唐倩,女,硕士

**通信作者:** 肖华西 E-mail: xiaoxijingjing@163.com

增加了淀粉的糊化起始温度和峰值温度。陈博<sup>[13]</sup>的研究表明 TG 酶修饰的蛋白质提高了马铃薯淀粉中抗性淀粉的含量,并且降低了马铃薯淀粉的体外酶解速率。

为改善大米淀粉功能性质,调控米制品的淀粉消化性能,本研究探究 TG 酶催化交联前、后 RP 影响 RS 消化性的机制及其对 RS 理化性质的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

大米淀粉,河北德瑞淀粉有限公司;大米蛋白,安徽顺鑫盛源生物食品有限公司;谷氨酰胺转氨酶,上海源叶生物科技有限公司;其它化学试剂均为分析纯级。

### 1.2 仪器与设备

AuY220 分析天平,岛津(香港)有限公司;JS39D-250 多功能食品搅拌机,浙江绍兴苏泊尔生活电器有限公司;722G 可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;FE20 PH 计,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;Lab-1A-50E 冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;TDZ5 台式低速离心机,湖南赫西仪器装备有限公司;SHA-C 水浴恒温摇床,国华企业集团有限公司;IRTracer-100 傅里叶红外光谱仪,日本岛津公司;Q2000 差示扫描量热仪、DH-2 型流变仪 TA,美国沃特斯集团;RVA-Super4 快速粘度计,瑞典波通公司。

### 1.3 方法

1.3.1 样品的制备 准确称取 5.0 g (干基)原大米淀粉,配制为 5 g/100 g 的淀粉乳,在悬浮液中加入不同比例的大米蛋白(淀粉干基重的 0.5%, 10%, 15%),使用磁力搅拌器将混合物在室温下搅拌混匀,后用 0.1 mol/L NaOH 或 HCl 调节 pH 值到 7.0,加入谷氨酰胺转氨酶(酶量 4.5 U/g)并在温度为 50 °C 的水浴锅中水浴处理 2 h,等待样品缓慢冷却至室温,冷冻干燥后过 100 目筛,分别制成淀粉-蛋白、淀粉-蛋白-酶共混物。酶催化前、后 RP 与 RS 相互作用制备而成的样品名称分别缩写为 RS-RP、RS-RP-酶。

1.3.2 膨胀系数和溶解度 分别称取 0.2 g 样品( $X_0$ ),放入预先已知质量的 50 mL 离心管中,确保

样品未粘在管壁上。向离心管中缓慢加入 10 mL 超纯水使其混合均匀,获得淀粉混合物悬浮液。将离心管置于 85 °C 恒温水浴锅中持续加热振荡 30 min,结束后小心取出并避免管内悬浮液晃动,将离心管置于室温下冷却 2 min,随后以 4 000 r/min 转速离心 5 min,管中出现分层之后,用吸管吸出上清液至铝盒中,在 105 °C 烘箱中烘 4 h 直至烘干,称重( $X_1$ )并记录,管中沉淀物称重( $X_2$ )并记录。样品溶解度和膨胀系数计算公式:

$$\text{溶解度}(\%) = \frac{X_1}{X_0} \times 100$$

$$\text{膨胀系数}(\text{g/g}) = \frac{X_2}{X_0 - X_1}$$

1.3.3 溢出的直链淀粉含量的测定 参照 GB/T 15683-2008《大米 直链淀粉含量的测定》中的方法测定直链淀粉含量<sup>[14]</sup>。

1.3.4 消化特性的测定 参照 Englyst 等<sup>[15]</sup>建立的体外模拟消化的方法并稍作修改。准确称取样品 0.2 g,加入 6 颗大小一致的玻璃珠于 50 mL 的离心管中,再加入 15 mL 已配置好的醋酸钠缓冲液(pH = 5.2)使其混合均匀后,在 37 °C 水浴摇床中振荡糊化 5 min,随后加入猪胰腺  $\alpha$ -淀粉酶 290 U/mL,糖化酶 15 U/mL 两者配置的混合酶液 5 mL,酶液应提前在 37 °C 下活化 30 min 后继续在 37 °C 恒温水浴锅内以 180 r/min 振荡反应 20 min 和 120 min,分别在既定时间后,吸取 1 mL 消化液和 4 mL 无水乙醇溶液灭酶,3 000 r/min 离心 10 min,离心后根据 DNS(3,5-二硝基水杨酸)法测定上清液中葡萄糖含量。具体公式如下:

$$\text{RDS}(\%) = \frac{G_{20}}{\text{TG}} \times 0.9 \times 100$$

$$\text{SDS}(\%) = \frac{(G_{120} - G_{20})}{\text{TG}} \times 0.9 \times 100$$

$$\text{RS}(\%) = [1 - (\text{RDS} + \text{SDS})] \times 100$$

式中, $G_{20}$ ——消化 20 min 后样品产生的葡萄糖含量,mg; $G_{120}$ ——消化 120 min 后样品产生的葡萄糖含量,mg;TG——样品干基质量,mg;RDS——快消化淀粉含量,%;SDS——慢消化淀粉含量,%;RS——抗性淀粉,%。

1.3.5 红外光谱的测定 利用傅里叶红外光谱仪(FT-IR)测定,可反映淀粉颗粒表面淀粉链的结构排列,红外光束渗透深度为 2  $\mu\text{m}$ ,采用 KBr(溴化

钾)压片法,先后称取 0.002 g 样品与 0.2 g KBr 并研磨均匀,使其充分混合,将研磨好的混合物粉末倒入压片机模具上进行压片,然后置于红外光谱仪中以 400~4 000  $\text{cm}^{-1}$  波段扫描,得到样品的红外光谱图。

**1.3.6 热力学性质的测定** 采用差示热量扫描仪(DSC)测定热力学性质,在铝坩埚中准确称取 3 mg 大米淀粉或淀粉混合物,加入 9 mg 超纯水,然后将铝坩埚密封并在室温下平衡 24 h。将 DSC 程序设置在 30~110  $^{\circ}\text{C}$  范围内加热,扫描速率设定为 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,重复测量 3 次。

**1.3.7 糊化特性的测定** 用快速黏度分析仪(RVA)测定糊化特性。分别称取 3.0 g 样品(以干基计),蒸馏水添加量为 25 mL,将两者装入铝罐中静置待测。RVA 谱特征值主要以糊化温度、峰值黏度、谷值黏度、最终黏度、崩解值、回生值等表示。

**1.3.8 静态流变性质的测定** 淀粉样品首先在 25  $^{\circ}\text{C}$  的条件下静置 5 min,之后由仪器施加剪切力进行静态流变试验,剪切速率从 0.1  $\text{s}^{-1}$  增加到 100  $\text{s}^{-1}$ ,流变仪自动记录表观黏度随剪切速率增加而发生的变化。测量参数如下:转子为直径 60 mm 的不锈钢平行板转子,间距设定为 1 mm,剪切速率为 0.1~100  $\text{s}^{-1}$ ,持续时间 30 s,测定温度 25  $^{\circ}\text{C}$ 。每个样品重复测定 3 次,结果取平均值。

**1.3.9 表观形态观察** 将样品用体积比为 1:1 的丙三醇和蒸馏水的混合液配制 5% 的淀粉乳,搅拌均匀,用玻璃棒蘸取一滴样品于干净的载玻片上,倾斜一定角度缓慢盖上盖玻片,保证无气泡,用滤纸吸收溢出来的样液,将准备好的观测品放入载物台,观察样品的形貌特征并拍摄照片。

**1.3.10 数据分析** 所有样品重复测定 3 次,试验数据使用平均值 $\pm$ 标准差的形式来表示。使用 SPSS 数据分析,并利用 Origin 作图。

## 2 结果与讨论

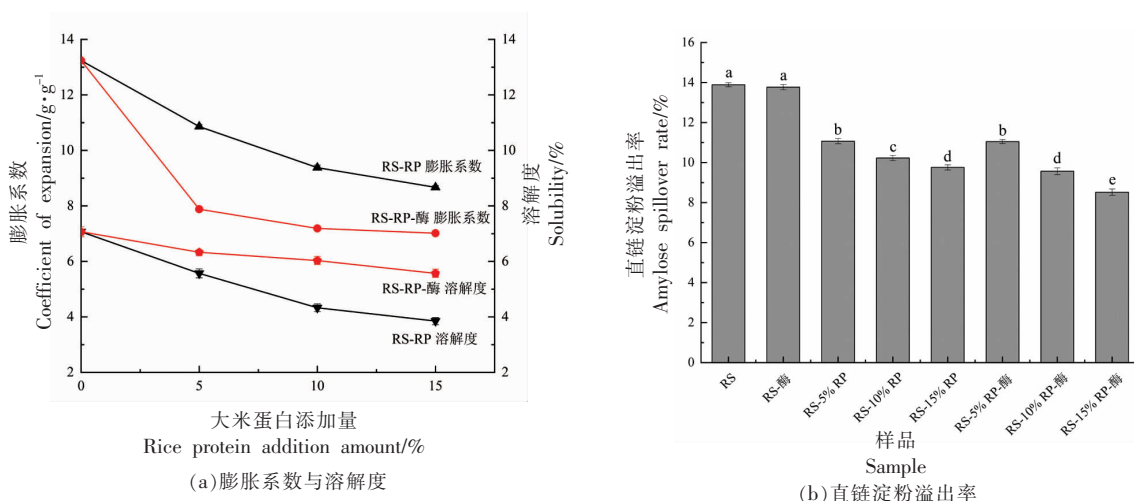
### 2.1 TG 酶催化前、后 RP 对 RS 膨胀系数、溶解度及直链淀粉溢出率的影响

图 1a 中,RS-RP 共混体系的膨胀系数和溶解度随着各蛋白添加量的增多均呈现明显下降的趋势,膨胀系数由原来 13.24 g/g 下降至 8.67 g/g,溶

解度由原来 7.07% 下降至 3.85%。此研究结果与 Rungtiwa 等<sup>[10]</sup>的研究结论一致,即淀粉颗粒结合蛋白可能增强了淀粉分子表面和内部张力而抑制其膨胀(使膨胀度下降),并减少了淀粉中可与水分子结合的亲水羟基(使溶解度下降)。与 RS、RS-酶和淀粉-天然大米蛋白共混体系相比,随 RP 添加量的增多,TG 酶催化的大米蛋白与淀粉相互作用力增强,样品的膨胀系数持续下降,当 RP 添加量为 15% 时,样品 RS-15% RP-酶的膨胀系数降至最低为 7.02 g/g。由于淀粉的膨胀能力通常与支链淀粉结构有关,直链淀粉起到稀释和阻碍膨胀的作用<sup>[17]</sup>,上述结果可能是 TG 酶诱导催化淀粉颗粒外围的蛋白质分子更多地与直链淀粉分子发生接触而导致的,如图 2 所示。另外,蛋白经酶催化改性后能更有效地和直链淀粉分子通过分子间氢键或是链缠绕的方式形成复配物<sup>[13]</sup>,从而进一步抑制淀粉颗粒的膨胀。然而,蛋白在 TG 酶的催化作用下与淀粉结合,且伴随着一定程度的水热反应而引发淀粉或蛋白分子链部分解旋或分解,淀粉颗粒通道可能暴露出一些淀粉亲水羟基,使得部分游离出的淀粉分子更易溶解于水中,从而使样品的溶解度相较于天然蛋白与淀粉作用体系而言略有些上升<sup>[18]</sup>。

另外,如图 1b 所示,天然 RS、RS-酶样品中溢出的直链淀粉含量最高。TG 酶作用淀粉时,对其直链淀粉溢出的抑制影响不大,而 TG 酶催化 RP 作用的 RS 后,使其直链淀粉溢出率均明显低于天然 RS,且随着蛋白添加量的增多,淀粉的直链淀粉溢出率持续下降。具体表现为:与 RS 相比,当 RP 的添加量为 15% 时,直链淀粉溢出率降低了 29.7%;大米蛋白与大米淀粉在 TG 酶催化作用下形成的共混体系中,直链淀粉溢出率降低了 38.7%。TG 酶催化的蛋白与淀粉交互作用比仅天然植物蛋白作用于淀粉时对体系中直链淀粉溢出率的影响更大。该结果表明,蛋白质分子的存在可以防止直链淀粉从淀粉颗粒中扩散出来,对淀粉颗粒膨胀的抑制也会造成直链淀粉溢出量的降低<sup>[13]</sup>;大量的水分子迁移到淀粉颗粒中将导致淀粉充分溶胀和直链淀粉溢出<sup>[9]</sup>,在这项工作中溢出的直链淀粉含量随着天然蛋白或 TG 酶催化蛋白与淀粉交互作用而下降,这或许归因于它们通过分子

间氢键或疏水相互作用形成了直链淀粉-天然蛋白复合物或直链淀粉与 TG 酶交联的改性蛋白复合物,改善了淀粉的热稳定性。



注:不同小写字母表示有显著性差异( $P<0.05$ )。

图 1 TG 酶催化前、后大米蛋白对大米淀粉膨胀系数与溶解度(a)及直链淀粉溢出率(b)的影响

Fig.1 Effects of rice protein added before and after TG enzyme catalysis on rice starch coefficient of expansion and solubility (a) and amylose spillover rate (b)

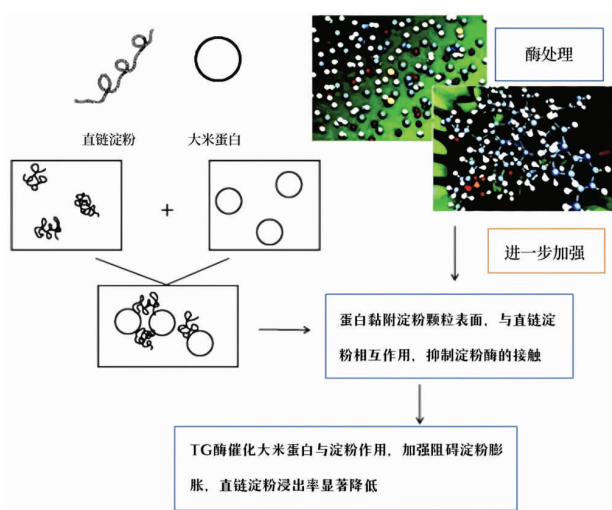


图 2 TG 酶催化交联大米蛋白对大米淀粉膨胀系数、溶解度及直链淀粉溢出率影响的作用机制

Fig.2 The mechanism of TG enzyme-catalyzed cross-linked rice protein on rice starch expansion coefficient, solubility and amylose overflow rate

## 2.2 TG 酶催化前、后大米蛋白对大米淀粉消化性的影响

图 3 结果表明,TG 酶催化前、后 RP 添加量不同,对淀粉消化性能影响程度也不同。在天然大米

蛋白与淀粉作用体系中,随着大米蛋白添加量的增多,淀粉消化性均呈现逐渐减轻的趋势,即在 RP 添加量为 15% 时,RDS 含量由 77.56% 降至 73.20%,表现出较强的抗消化性。另外,在 TG 酶的参与下,TG 酶通过催化蛋白来增强其空间网络结构,这更有利于蛋白与淀粉分子间交互结合,对淀粉消化性减轻产生了更大的影响。表现为:相较于淀粉-天然蛋白体系而言,当 RP 添加量为 5% 时,TG 酶催化下的 RP 使淀粉消化率又降低了 1.78%;随着 RP 添加量的持续增加,TG 酶催化下的 RP 对淀粉消化性逐渐趋于平缓,即当 RP 添加量为 10% 时对淀粉消化率减轻的更多。这一研究结果表明,淀粉及其对血糖反应的影响可能受淀粉结构、食品加工条件和食品基质中存在的单个成分(本文即蛋白质)的影响。蛋白质已被证明会影响谷物中淀粉水解的速度<sup>[20]</sup>,淀粉消化性的减轻一方面可能是因为蛋白质网络包裹淀粉颗粒形成基质,作为抵抗淀粉酶酶解的物理屏障<sup>[21]</sup>,另一方面蛋白可能也会通过氢键与淀粉产生极性相互作用或在一定温度下蛋白质暴露出疏水性氨基酸与淀粉表面的非极性成分(颗粒表面蛋白质或脂质)形成疏水性相互作用<sup>[22]</sup>,提高淀粉的热稳定

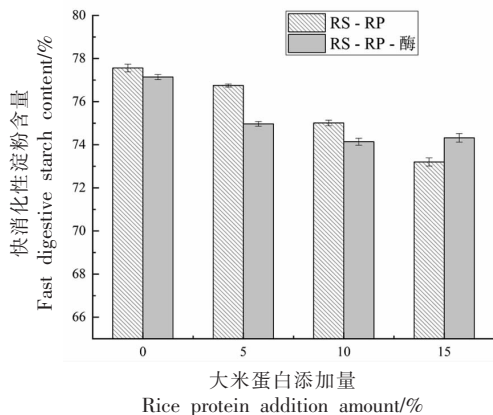


图3 TG酶催化前、后不同添加量大米蛋白对大米淀粉消化性的影响

Fig.3 Effects of rice protein with different additions before and after TG enzyme catalysis on the digestibility of rice starch

性。

### 2.3 TG酶催化前、后大米蛋白对大米淀粉短程有序结构的影响

如图4所示,与RS相比,处理后的样品在特征光谱区域 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 之间并没有出现新的吸收峰,可见酶催化前、后蛋白与淀粉的相互作用并未产生新的共价键,即蛋白和淀粉两者是通过非共价键结合的,可能是通过疏水相互作用或者氢键相互作用。淀粉-酶共混体系的吸收峰强和峰偏移与原淀粉相似,这一现象表明淀粉和TG酶二者间的相互作用力较弱。图中 $3\,600\text{ cm}^{-1}$ 至 $3\,000\text{ cm}^{-1}$ 的图谱与OH的振动有关<sup>[23]</sup>,振动越强,表明淀粉附着的蛋白越多,基团中更多的蛋白与淀粉结合。淀粉共混体系均在 $3\,600\sim 3\,000\text{ cm}^{-1}$ 的图谱内,峰的位置均有明显变化,且随着蛋白添加量的增多,体系的峰位均明显向波数更高的方向偏移,这表明羟基伸缩振动强度增大,且TG酶的参与可催化交联大米蛋白使得淀粉的峰偏移程度更加显著。

此外,由于 $1\,053, 1\,047, 1\,040\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,022\text{ cm}^{-1}$ 处的峰与淀粉的无定形区域和短程有序相关, $995\text{ cm}^{-1}$ 处的峰与含水结晶层和回生部分相关,透过率比值的变化与淀粉的相对结晶度和分子有序性结构有关<sup>[24]</sup>,有研究表明在通常情况下, $1\,047/1\,022\text{ cm}^{-1}$ 的比值越高,样品的相对结晶度

就越大,分子双螺旋的有序性越高, $1\,022/995\text{ cm}^{-1}$ 处的比值就越低<sup>[25]</sup>,这种趋势说明蛋白质增加了淀粉在回生过程的相对结晶度。大米蛋白在不同添加水平下与淀粉作用的 $1\,047/1\,022\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,022/995\text{ cm}^{-1}$ 的透过率比值变化符合上述理论规律,进而,TG酶催化蛋白作用淀粉的共混样品的透过率比值变化更为显著,如表1所示。由样品

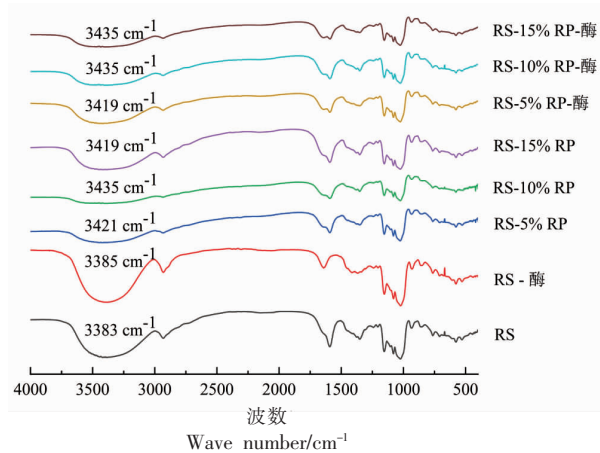


图4 TG酶催化交联前、后不同添加量大米蛋白对大米淀粉作用的红外光谱图

Fig.4 Infrared spectra of the effect of rice protein with different additions before and after TG enzyme-catalyzed cross-linking on rice starch

表1 TG酶催化前、后不同添加量的大米蛋白与大米淀粉交互作用的 $1\,047/1\,022\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,022/995\text{ cm}^{-1}$ 的透过率比值

Table 1 The transmittance ratios of  $1\,047/1\,022\text{ cm}^{-1}$  and  $1\,022/995\text{ cm}^{-1}$  in the interaction between different amounts of rice protein before and after TG enzyme catalysis and rice starch

样品	$1\,047/1\,022\text{ cm}^{-1}$	$1\,022/995\text{ cm}^{-1}$
RS	$2.299 \pm 0.011^e$	$0.191 \pm 0.001^b$
RS-酶	$2.009 \pm 0.014^f$	$0.324 \pm 0.001^a$
RS-5% RP	$2.311 \pm 0.001^e$	$0.175 \pm 0.001^c$
RS-10% RP	$2.354 \pm 0.001^d$	$0.167 \pm 0.001^d$
RS-15% RP	$2.387 \pm 0.017^d$	$0.157 \pm 0.001^e$
RS-5% RP-酶	$2.835 \pm 0.073^c$	$0.084 \pm 0.001^f$
RS-10% RP-酶	$3.402 \pm 0.059^b$	$0.072 \pm 0.004^e$
RS-15% RP-酶	$4.125 \pm 0.102^a$	$0.057 \pm 0.002^b$

注:数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差,同一列中字母不同表示有显著性差异( $P<0.05$ )。

的红外结构特征表明, TG 酶催化交联下的大米蛋白与淀粉相互作用表现出的淀粉无定形区域及短程有序性结构明显增强, 其影响程度与蛋白质添加的水平有关。

#### 2.4 TG 酶催化前、后大米蛋白对大米淀粉热力学特性的影响

表 2 列出了原淀粉和 TG 酶催化前、后不同添加量的 RP 对 RS 的糊化起始温度( $T_0$ )、峰值温度( $T_p$ )、终止温度( $T_c$ )和焓值( $\Delta H$ )的影响。从表 2 结果得知, 与 RS 相比, TG 酶只对淀粉作用时对淀粉的热特性产生的影响较小, 且 TG 酶催化前、后

RP 对淀粉热特性产生的影响也不显著, 这与蛋白添加量的多少基本不相关。Fitzsimons 等<sup>[26]</sup>在研究  $\alpha$ -乳清蛋白和  $\beta$ -乳球蛋白对玉米淀粉性质影响中也得出了类似的结果。本试验中 TG 酶催化前、后的蛋白对淀粉  $T_0$  和  $T_p$  增加的较少, 而淀粉糊化焓有不同程度的降低。 $T_0$  和  $T_p$  的增加可能因为蛋白质与淀粉相互作用限制了淀粉水合和溶胀<sup>[21]</sup>。 $T_0$  升高,  $\Delta H$  明显降低, 这归因于原淀粉结构的破坏, 导致淀粉内短程有序结构产生变化, 吸水溶胀能力降低, 糊化作用所需温度升高, 热稳定性降低<sup>[27]</sup>。

表 2 TG 酶催化前、后不同添加量的大米蛋白对大米淀粉热力学性质的影响

Table 2 Effects of different amounts of rice protein before and after TG enzyme catalysis on the thermodynamic properties of rice starch

样品	$T_0/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta H/\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$
RS	$59.4 \pm 0.2^d$	$62.4 \pm 0.2^d$	$72.1 \pm 0.4^a$	$8.6 \pm 0.1^a$
RS-酶	$59.7 \pm 0.2^{cd}$	$63.6 \pm 0.3^b$	$71.9 \pm 0.4^{ab}$	$8.6 \pm 0.2^a$
RS-5% RP	$59.5 \pm 0.1^{cd}$	$62.8 \pm 0.1^c$	$70.7 \pm 0.3^{bc}$	$6.9 \pm 0.1^{bc}$
RS-10% RP	$59.6 \pm 0.1^{cd}$	$63.0 \pm 0.2^c$	$70.4 \pm 0.4^c$	$5.3 \pm 0.1^d$
RS-15% RP	$60.7 \pm 0.1^{ab}$	$63.6 \pm 0.3^b$	$71.3 \pm 0.3^{abc}$	$6.4 \pm 0.2^c$
RS-5% RP-酶	$59.8 \pm 0.3^c$	$63.7 \pm 0.1^b$	$71.7 \pm 0.5^{ab}$	$7.2 \pm 0.3^b$
RS-10% RP-酶	$61.1 \pm 0.3^a$	$64.2 \pm 0.2^a$	$72.4 \pm 0.6^a$	$6.9 \pm 0.4^{bc}$
RS-15% RP-酶	$60.5 \pm 0.3^b$	$63.9 \pm 0.2^b$	$71.5 \pm 0.5^{abc}$	$6.4 \pm 0.6^c$

注: 数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差, 同一列中字母不同表示有显著性差异( $P < 0.05$ )。

#### 2.5 TG 酶催化前、后大米蛋白对大米淀粉糊化特性的影响

由表 3 中数据所知, 与 RS 相比, TG 酶作用于大米淀粉时对淀粉的糊化温度(PT)影响有显著性差异, RP 显著提高了淀粉糊化温度, 这可能是因

为蛋白质是带正/负电荷肽的复杂混合物, 可以通过与淀粉分子发生静电相互作用来抑制淀粉颗粒的分解<sup>[28]</sup>。蛋白质还包含  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OH}$  等多种亲水基团和脯氨酸、亮氨酸等疏水性氨基酸, 它们都可附着在淀粉颗粒表面通过氢键或疏水相互

表 3 TG 酶催化前、后大米蛋白与大米淀粉共混体系的黏度参数

Table 3 Viscosity parameters of blends of rice protein before and after TG enzyme catalysis and rice starch

样品	PT/ $^\circ\text{C}$	PV/cP	TV/cP	BD/cP	FV/cP	SB/cP
RS	$72.5 \pm 0.5^c$	$3\ 614 \pm 11^a$	$3\ 035 \pm 7^a$	$597 \pm 5^a$	$4\ 679 \pm 6^a$	$1\ 644 \pm 6^a$
RS-酶	$72.4 \pm 0.3^c$	$3\ 293 \pm 9^b$	$2\ 725 \pm 8^c$	$568 \pm 5^a$	$4\ 280 \pm 5^b$	$1\ 555 \pm 7^b$
RS-5% RP	$72.5 \pm 0.5^c$	$3\ 286 \pm 11^b$	$3\ 030 \pm 9^a$	$256 \pm 7^b$	$4\ 378 \pm 9^c$	$1\ 348 \pm 9^f$
RS-10% RP	$74.0 \pm 0.1^d$	$3\ 183 \pm 13^c$	$2\ 980 \pm 10^b$	$203 \pm 12^c$	$4\ 472 \pm 3^b$	$1\ 492 \pm 11^c$
RS-15% RP	$75.0 \pm 0.2^c$	$2\ 877 \pm 11^d$	$2\ 639 \pm 9^c$	$238 \pm 7^c$	$4\ 205 \pm 4^d$	$1\ 566 \pm 11^b$
RS-5% RP-酶	$74.0 \pm 0.3^d$	$2\ 669 \pm 9^c$	$2\ 414 \pm 7^d$	$255 \pm 7^b$	$3\ 829 \pm 6^c$	$1\ 415 \pm 10^d$
RS-10% RP-酶	$75.8 \pm 0.1^b$	$2\ 241 \pm 12^e$	$2\ 109 \pm 8^f$	$132 \pm 10^f$	$3\ 502 \pm 8^f$	$1\ 393 \pm 9^c$
RS-15% RP-酶	$76.4 \pm 0.2^a$	$2\ 470 \pm 11^f$	$2\ 248 \pm 10^e$	$222 \pm 8^d$	$3\ 333 \pm 6^g$	$1\ 085 \pm 12^g$

注: 数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差, 同一列中字母不同表示有显著性差异( $P < 0.05$ )。

作用来提高淀粉糊化温度<sup>[12]</sup>。淀粉的峰值黏度(PV)、崩解值(BD)、最终黏度(FV)和回生值(SB)等糊化参数均随蛋白添加量的增多而不同程度地降低,如图5所示。基于这些糊化特性参数,可以证明蛋白显著影响了大米淀粉的糊化特性,且影响效果与蛋白质添加水平有关。相比于淀粉-天然蛋白共混体系,TG酶可通过催化改性蛋白后显著降低淀粉黏度,糊化温度也相对升高。例如:淀粉-天然蛋白共混体系中RP的添加量达到15%时,淀粉的峰值黏度下降了20.4%,而TG酶催化大米

蛋白作用淀粉时,RP的添加量为10%时,PV下降了38.0%。蛋白对淀粉作用使得淀粉黏度降低可能归因于淀粉-蛋白复合物的形成会抑制淀粉的膨胀,从而降低黏度<sup>[29]</sup>。另外,BD的下降可能归因于淀粉颗粒膨胀程度降低而使得淀粉糊的稳定性提高<sup>[13]</sup>。SB通常表示淀粉的直链淀粉和长支链淀粉的短期回生或重新结合,SB的下降意味着加入的蛋白能够不同程度地抑制淀粉糊的短期回生,然而考虑到蛋白能抑制淀粉颗粒的膨胀,所以SB的下降也有可能是淀粉糊黏度下降导致的。

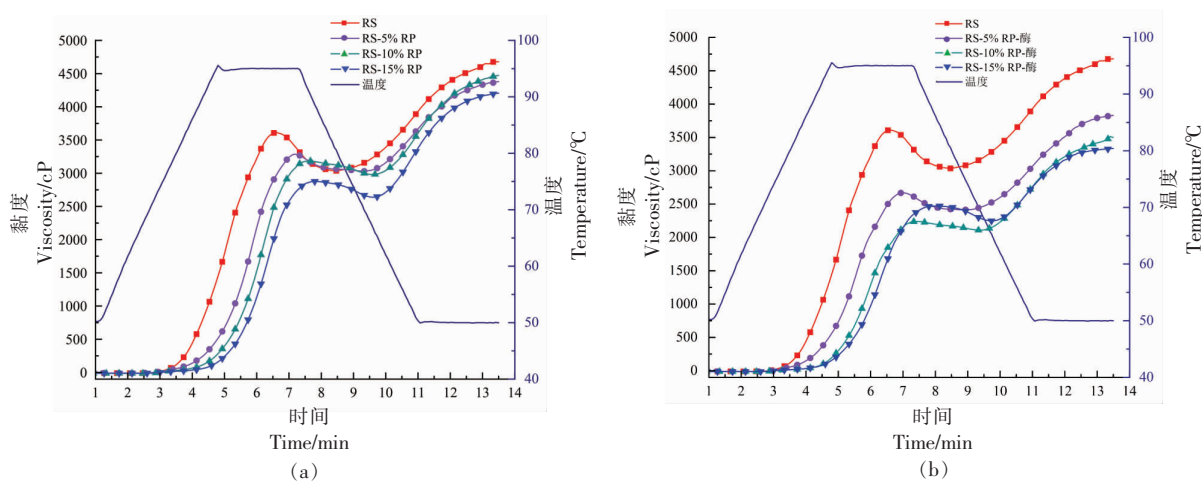


图5 TG酶催化前、后大米蛋白与大米淀粉相互作用的黏度曲线图

Fig.5 Viscosity curves of interaction between rice protein before and after TG enzyme catalysis and rice starch

## 2.6 TG酶催化前、后大米蛋白对大米淀粉静态流变特性的影响

图6是原大米淀粉和淀粉共混体系的静态流变曲线图,蛋白在TG酶催化前、后对大米淀粉黏度特性均有异同。所有样品在低剪切速率时黏度急剧下降,随后逐渐平缓,均表现出了非牛顿流体的特性,这是因为在初始剪切阶段,淀粉样品中的淀粉和蛋白分子间互相缠绕的分子链阻碍了流体的相互运动,造成黏度的下降;当剪切速率继续增加到某一数值后,淀粉分子缠绕的分子链有被拉直的趋势,使得流层间的表观黏度维持在一个常数<sup>[30]</sup>。

与原淀粉相比,随着各蛋白含量的增加样品均表现出黏度逐渐下降的趋势,说明淀粉共混体系中表观黏度的影响与蛋白添加水平有关,蛋白

易发生吸水溶胀,增强了蛋白与淀粉之间的相互作用力,从而更加提高了样品的剪切应力,降低了黏度。此外,在TG酶的参与下,酶催化下的蛋白能更好地与大米淀粉产生交互作用,淀粉样品黏度下降产生更大的影响。具体表现为:图6a中,淀粉-蛋白共混体系中,RS-RP样品的黏度随着RP含量的增加而逐渐降低。由图6b可知,TG酶催化蛋白作用淀粉体系的黏度进一步下降,其中RS-10%RP-酶样品的黏度下降效果更显著。由此可见,当大米蛋白在适合的添加量下,TG酶作用蛋白后能够与淀粉更为紧密地结合而使黏度下降的程度更大。

## 2.7 表观形态观察

从图7中可以看出,原大米淀粉处理前、后的颗粒聚集状态都有显著性变化,而颗粒形貌未发

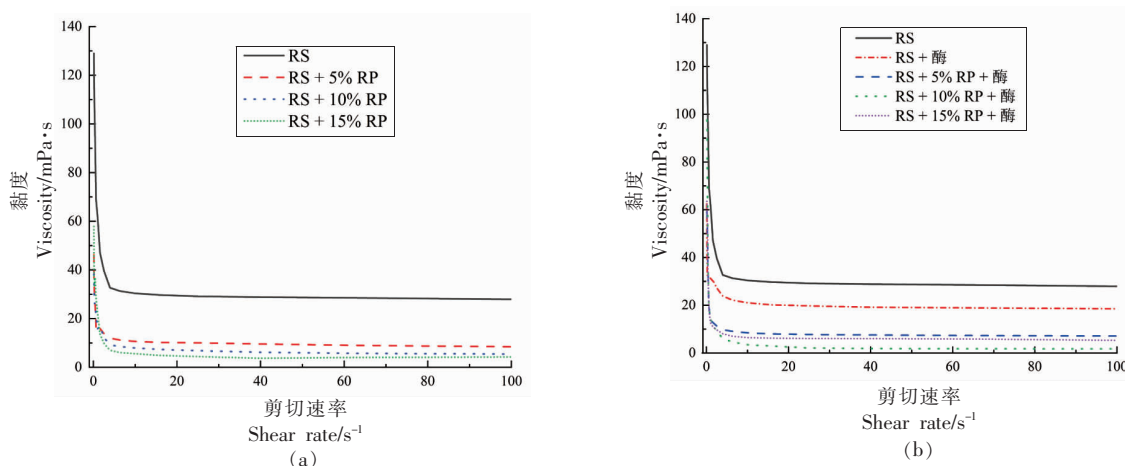


图 6 TG 酶催化前、后不同添加量的大米蛋白与大米淀粉交互作用的静态流变曲线

Fig.6 Static rheological curves of the interaction between different amounts of rice protein before and after TG enzyme catalysis and rice starch

生大的改变,颗粒感清晰且多数呈圆球状。未处理的原大米淀粉颗粒分布状态均一,四周分散均匀,个体散落(图 7a)。TG 酶作用于大米淀粉时,酶对淀粉的形貌结构未有明显改变(如图 7b),而在 RS-10% RP 样品中明显观察到颗粒之间发生聚集,相邻抱团凝结成块,局部较疏散(图 7c),这可能是因为在水热过程中,蛋白与淀粉分子的链内或链间通过氢键及疏水作用等聚集成致密分子,形成了淀粉-蛋白大分子聚合物。蛋白质经 TG 酶催化后使蛋白与淀粉相互作用力进一步增强,颗粒形态变得更为聚集,四周均凝固成片,形成了交织的团状结构(图 7d),这说明了 TG 酶催化后的蛋白质能更好地与淀粉产生交互作用。

### 3 结论

本试验主要探究并分析 TG 酶催化交联大米蛋白与大米淀粉相互作用对淀粉消化特性、结构和功能特性的影响。交联酶作用蛋白质可进一步改善并调控淀粉特性,蛋白经 TG 酶催化交联能够使淀粉结构变得更加有序且紧密,TG 酶催化交联蛋白可促进改性蛋白与淀粉二者间的高效结合,且进一步高效降低淀粉消化率,这也为有效地改善淀粉的特性提供了不错的选择。探究大米蛋白在 TG 酶催化交联前、后对大米淀粉交互作用的影响,是为更好地改善大米淀粉的结构、功能及消化性能,同时也有助于了解蛋白质与淀粉之间

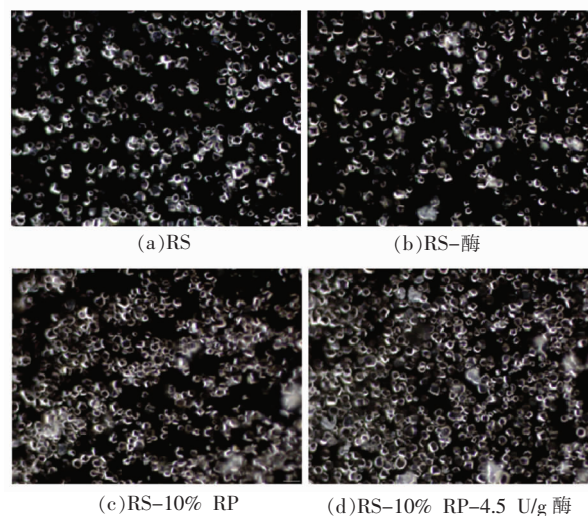


图 7 原大米淀粉及淀粉共混体系的表现形态

Fig.7 Apparent morphology of raw rice starch and starch blends

的相互作用,并且为蛋白质作为淀粉基食品的添加剂奠定一定的理论基础。掌握大米淀粉与其它组分的相互作用以及对淀粉结构与消化性能的影响规律也是构建淀粉类功能食品的关键,为后期能开发出高蛋白低糖化的营养功能性米制品研究提供理论依据和新的思路,也期望能在食品工业等众多领域中开拓出更广阔的应用前景。

### 参 考 文 献

- [1] LI S J, WEI Y M, FANG Y Q, et al. DSC study



- on the thermal properties of soybean protein isolates/corn starch mixture[J]. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2014, 115(2): 1633–1638.
- [2] 孙撬撬. 理化复合预处理对TG酶改性小麦面筋蛋白的影响研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016.  
SUN Q Q. Study on the effect of physicochemical compound pretreatment on TG enzyme-modified wheat gluten[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2016.
- [3] 朱小燕. TG酶与糖基化交联作用对米渣蛋白的结构、功能及流变学特性的影响研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2016.  
ZHU X Y. Effects of TG enzyme and glycosylation cross-linking on the structure, function and rheological properties of rice dregs protein[D]. Nanchang: Nanchang University, 2016.
- [4] 裴正培. 突变茂源链霉菌谷氨酰胺转胺酶的性质研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2014.  
PEI Z P. Properties of mutant *Streptomyces maoyuan* transglutaminase [D]. Shanghai: East China Normal University, 2014.
- [5] TIAN J, OGAWA Y, SHI J, et al. The microstructure of starchy food modulates its digestibility [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(19): 3117–3128.
- [6] VANIER N L, EL HALAL S L M, DIAS A R G, et al. Molecular structure, functionality and applications of oxidized starches: A review[J]. *Food Chemistry*, 2017, 221: 1546–1559.
- [7] TOUTOUNJI M R, FARAHNAKY A, SANTHAKUMAR A B, et al. Intrinsic and extrinsic factors affecting rice starch digestibility [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 88: 10–22.
- [8] DHITAL S, WARREN F J, BUTTERWORTH P J, et al. Mechanisms of starch digestion by  $\alpha$ -amylase – Structural basis for kinetic properties[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(5): 875–892.
- [9] ZHU F. Interactions between starch and phenolic compound[J]. *Trends in Food Science & Technology*. 2015, 43(2): 129–143.
- [10] 叶晓汀. 淀粉颗粒结合蛋白对大米淀粉理化性质的影响[D]. 上海: 上海交通大学, 2018.  
YE X T. Effects of starch granule binding protein on physicochemical properties of rice starch [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2018.
- [11] 余世锋, 肖云鹏, 高帅, 等. 大豆蛋白对玉米淀粉复合凝胶微观结构的影响[J]. *食品工业*, 2017, 38(10): 140–142.  
YU S F, XIAO Y P, GAO S, et al. Effect of soybean protein on the microstructure of corn starch composite gel [J]. *Food Industry*, 2017, 38(10): 140–142.
- [12] 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.
- [13] 陈博. 谷氨酰胺酶修饰的麦谷蛋白和麦醇溶蛋白对马铃薯淀粉糊化回生特性的影响及相互作用研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.  
CHEN B. Effects of glutaminase-modified glutenin and gliadin on retrogradation characteristics of potato starch and their interaction[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2018.
- [14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 大米直链淀粉含量的测定: GB/T15683–2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.  
The State Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, the Determination of the National Standardization Management Committee. The meter of the rice straight chain starch content: GB/T15683–2008 [S]. Beijing: China Standard Press, 2008.
- [15] ENGLYST H N, HUDSON G J. The classification and measurement of dietary carbohydrates [J]. *Food Chemistry*, 1996, 57(1): 15–21.
- [16] RUNGTIWA, W, SAIYAVIT V, JAMESN B M. Increasing slowly digestible starch content of normal and waxy maize starches and properties of starch products[J]. *Cereal Chemistry*, 2008, 85(6): 738–745.
- [17] TESTER R F, MORRISON W R. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose, and lipids[J]. *Cereal Chemistry*, 1990, 67(6): 551–557.
- [18] WANI A A, SINGH P, SHAH M A, et al. Rice starch diversity: Effects on structural, morphological, thermal, and physicochemical properties – A review[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2012, 11(5): 417–436.
- [19] CHI C D, LI X X, ZHANG Y P, et al. Under-

- standing the mechanism of starch digestion mitigation by rice protein and its enzymatic hydrolysates[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 84: 473–480.
- [20] EZEUGU L, DUODU K, EMMAMBUX M, et al. Influence of cooking conditions on the protein matrix of sorghum and maize endosperm flours[J]. Cereal Chemistry, 2008, 85(3): 397–402.
- [21] LOPEZ-BARON N, GU Y, VASANTHAN T, et al. Plant proteins mitigate *in vitro* wheat starch digestibility[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 69: 19–27.
- [22] RYAN K, BREWER M. *In situ* examination of starch granule- soy protein and wheat protein interactions[J]. Food Chemistry, 2006, 104(2): 619–629.
- [23] LIAN X J, LIU L Z, GUO J J, et al. Screening of seeds prepared from retrograded potato starch to increase retrogradation rate of maize starch[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 60: 181–185.
- [24] BELLO-PÉREZ L A, OTTENHOF M A, AGAMA-ACEVEDO E, et al. Effect of storage time on the retrogradation of banana starch extrudate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(4): 1081–1086.
- [25] MAN J M, YANG Y, ZHANG C Q, et al. Structural changes of high-amylose rice starch residues following *in vitro* and *in vivo* digestion[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(36): 9332–9341.
- [26] FITZSIMONS S M, MULVIHILL D M, MORRIS E R. Co-gels of whey protein isolate with crosslinked waxy maize starch: Analysis of solvent partition and phase structure by polymer blending laws[J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(3): 468–484.
- [27] 张亭亭. 大米蛋白-淀粉相互作用对婴幼儿米粉品质和消化性的影响研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- ZHANG T T. Effects of rice protein-starch interaction on the quality and digestibility of rice flour for infants and young children[D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.
- [28] OOSTEN B. Interactions between starch and electrolytes[J]. Starch Starke, 1990, 42(9): 327–330.
- [29] CHANG F D, HE X W, FU X, et al. Effects of heat treatment and moisture contents on interactions between lauric acid and starch granules [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2014, 62(31): 7862.
- [30] 卢薇, 夏宁, 王金梅, 等. 大米谷蛋白对大米淀粉理化特性的影响[J]. 现代食品科技, 2012, 28(12): 1632–1635, 1655.
- LU W, XIA N, WANG J M, et al. Effect of rice glutenin on physical and chemical properties of rice starch [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(12): 1632–1635, 1655.

### Effects on Physicochemical Properties of Rice Starch by Cross-linking Rice Protein Catalyzed by Glutaminase Enzyme

Tang Qian<sup>1</sup>, Xiao Huaxi<sup>1\*</sup>, Wei Yujun<sup>1</sup>, Lin Qinlu<sup>1</sup>, Zhang Zhizhong<sup>2</sup>, Xia Xu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>School of Food Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Hunan Provincial Key Laboratory of Special Medical Food Processing, Hunan Provincial Key Laboratory of Food Safety Monitoring and Early Warning, Changsha 410004

<sup>2</sup>Huaihua Agricultural Science Research Institute, Huaihua 418000, Hunan)

**Abstract** The purpose of this experiment was to study the effect of rice protein on the physicochemical properties of rice starch before and after glutaminase (TG) catalyzed cross-linking. The functional properties and structural characteristics of starch blending systems were analyzed by technical means such as RVA, and the formation of starch-protein composite systems could be promoted under hydrothermal conditions. The results showed that the protein had a significant effect on the structure, digestibility and other functional properties of starch under the catalysis of TG enzyme, and the interaction force between rice protein and starch under the catalysis of TG enzyme was further enhanced. The expansion coefficient decreased from 13.24 g/g to a minimum of 7.02 g/g, and its amylose overflow decreased by 38.7%; with the participation of TG enzyme, the stability of the short-range ordered structure of starch was gradually enhanced with the

increase of protein content. The protein with the addition amount of 10% has a better effect on reducing the digestibility of starch under the catalysis of TG enzyme; before and after the action of TG enzyme, the protein has little effect on the thermal properties of starch, but its gelatinization characteristics parameters were significantly reduced, and the viscosity also significantly decreased; TG enzyme catalyzed protein to make starch granule network structure more dense and aggregated. The above results indicated that the modification effect of TG enzyme catalyzed cross-linked protein on starch was more significant.

**Keywords** rice starch; rice protein; TG enzyme; catalytic cross-linking; structural and functional properties