

## 藜麦多肽与食品多酚复合物的制备、表征及功能性研究

俞瑜媛, 周青青, 周柳莎, 胡香莲, 施永清\*

(浙江工商大学食品与生物工程学院 杭州 310018)

**摘要** 研究常用食品多酚(茶多酚(TPs)、竹叶抗氧化物(AOB))对藜麦多肽(QPs)结构、抗氧化性和抑菌性的影响。采用荧光分光光度计、傅里叶红外光谱仪探究 QPs 和多酚复合过程的结构变化,运用 ANS 探针分析 QPs 表面疏水性,并通过粒径、电位等指标对复合胶粒进行表征。荧光光谱结果表明,QPs 与多酚复合后,QPs 的固有荧光发生猝灭,且随多酚添加量的增加而降低,固有荧光光谱的最大发射波长发生红移。QPs 与 TPs 复合后,表面疏水性显著降低( $P<0.05$ ),QPs:TPs 添加比例为 1:2 时,ANS 荧光强度由  $(74.13 \pm 1.67)$  AU,降低至  $(62.14 \pm 1.36)$  AU;而 QPs 与 AOB 复合后,表面疏水性无显著变化( $P>0.05$ )。二级结构分析表明,所有复合样品中 QPs 的  $\beta$ -折叠、 $\alpha$ -螺旋、无规则卷曲的百分含量下降, $\beta$ -转角的百分含量增加。QPs:TPs 为 1:2 时, $\beta$ -折叠、 $\alpha$ -螺旋、无规则卷曲和  $\beta$ -转角的百分含量分别为 43.58%,17.20%,12.92%和 26.30%;QPs:AOB 为 1:2 时, $\beta$ -折叠、 $\alpha$ -螺旋、无规则卷曲和  $\beta$ -转角的百分含量分别为 49.60%,14.99%,9.79%和 25.62%。此外,QPs 与 TPs、AOB 复合后能够显著提高 QPs 的抗氧化活性和对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制活性( $P<0.05$ )。这些发现表明 TPs 和 AOB 在改善 QPs 功能特性方面可行,以及 QPs-多酚复合物在食品配料及功能性食品体系中具有潜在用途。

**关键词** 藜麦多肽-多酚复合物; 二级结构; 抗氧化活性; 抑菌活性

文章编号 1009-7848(2024)06-0083-14 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.06.008

食品多酚主要包括两大类:非黄酮类(主要是酚酸)和黄酮类化合物<sup>[1]</sup>。茶多酚(Tea polyphenols, TPs)和竹叶抗氧化物(Antioxidant of bamboo leaves, AOB)均属于食品多酚。TPs 是从茶叶中提取得到的天然酚类物质,主要包括表儿茶素(epicatechin, EC)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)及表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)<sup>[2]</sup>。因 TPs 具有抗氧化<sup>[3]</sup>、抗肿瘤<sup>[4]</sup>、抗炎活性<sup>[5]</sup>以及抑菌<sup>[6]</sup>等特性,在食品保鲜和保健食品制造中被广泛应用<sup>[7]</sup>。AOB 是从竹叶中提取的抗氧化物质,抗氧化成分主要包括黄酮碳苷(flavone C-glycoside)、羟基香豆素(hydroxy coumarin)和酚酸类化合物,于 2004 年列入 GB2760-1996《食品添加剂使用卫生标准》,可在水产品、肉制品等食品中使用,具有抗氧化和抑菌功能<sup>[8-9]</sup>。

藜麦是一种被联合国粮农组织(FAO)选定的 21 世纪粮食安全作物之一,可在高盐、干旱、营养贫瘠的土壤中种植<sup>[10]</sup>。藜麦中蛋白质平均含量在

12%~23%,其必需氨基酸种类和含量高于小麦、水稻、大豆和玉米等常见禾谷类作物,是优质的生物活性肽来源<sup>[11-12]</sup>。藜麦蛋白常用物理、化学及生物方法进行加工与改性。其中微生物发酵技术在制备具有保健作用的藜麦蛋白生物活性肽方面取得了很大进展。用微生物发酵藜麦制备的生物活性肽具有多种生物活性,包括抗氧化、抑菌活性、血管紧张素转换酶抑制活性<sup>[13-14]</sup>。多肽活性强弱与蛋白的水解程度有关,具有更佳生物活性的多肽必须进行有限或受控水解<sup>[15]</sup>。开发一些合适的改性方法来提高多肽的抗氧化活性和抑菌活性越来越受关注。

研究发现,多酚可以通过共价和非共价相互作用(氢键、静电吸引、疏水缔合和范德瓦尔斯力)与蛋白质结合,且可以增强蛋白质的功能<sup>[16-17]</sup>。例如,EGCG 可与大豆蛋白、鸭蛋蛋白水解物相互作用,显著改善蛋白的乳化性和抗氧化性<sup>[18-19]</sup>。乳铁蛋白(lactoferrin, BLF)-单宁酸(tannic acid, TA)复合后抗氧化性显著提高( $P<0.05$ ),且对枯草芽孢杆菌和酿酒酵母表现出较好的抑制作用<sup>[20]</sup>。大豆蛋白和百里香酚通过疏水相互作用形成复合物,能够显著提升大豆蛋白的热稳定性以及对金黄色葡萄球菌和沙门氏菌的抑制作用( $P<0.05$ )<sup>[21]</sup>。上述

收稿日期: 2023-06-04

第一作者: 俞瑜媛,女,硕士生

通信作者: 施永清 E-mail: shiyq@zjsu.edu

研究表明食品多酚与蛋白质或多肽相互作用产生良好的抗氧化和抑菌效果。

本文利用实验室前期从藜麦发酵液中得到的藜麦多肽(Quinoa polypeptides,QPs)与常用食品添加剂TPs或AOB复合,研究其相互作用及抗氧化和抑菌活性,为藜麦多肽在食品配料及功能性食品的开发应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

藜麦,格尔木纳木蓝商贸有限公司;茶多酚(多酚含量 $\geq 98\%$ ,儿茶素含量 $\geq 80\%$ ,EGCG $\geq 50\%$ ),杭州沁园天然植物科技有限公司;竹叶抗氧化物(总黄酮含量 $\geq 20\%$ ),浙江圣氏生物科技有限公司; $\alpha$ -淀粉酶(1~2万U/g),南宁庞博生物工程有限公司;Spectra多色低分子质量蛋白Marker(1.7~40ku),Thermo Fisher公司;葡聚糖凝胶G-15,台州四甲生化塑料厂;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),上海宝曼生物技术有限公司;8-苯胺基-1-萘磺酸钠(ANS),上海阿拉丁试剂有限公司;营养肉汤培养基、营养琼脂培养基,杭州微生物试剂有限公司;其它试剂均为国产分析纯。

菌种:毛霉(*Mucor wutungkiao*,CICC 3109)、米根霉(*Rhizopus oryzae*,CICC 41214),中国工业微生物菌种保藏中心;大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),浙江工商大学食品与生物工程学院微生物实验室提供。

Mini-PROTEAN型电泳仪,美国Bio-Rad公司;F-7000型荧光分光光度计,日本日立公司;NANO ZS90型纳米粒度仪,英国马尔文仪器公司;spectraMax Plus 38型酶标仪,美谷分子;Nicolet型傅里叶红外光谱仪,美国尼高力仪器公司;UV-2600型紫外分光光度计,日本岛津公司;FreeZone2.5冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 藜麦多肽制备 根据前期试验结果,将藜麦与水按照质量比1:18在25℃下浸泡12h后用打浆机打成匀浆,全部转入烧杯中,加入藜麦质量分数1%的 $\alpha$ -淀粉酶于80℃水浴酶解40min后

升温至100℃,灭酶10min,得藜麦酶解液。冷却至25℃后接种孢子浓度均为 $10^5\sim 10^6$ CFU/mL的毛霉和米根霉(总接种量为藜麦酶解液体积分数的2.8%,菌接种体积比为1:1)于28℃发酵8.7d。发酵液于10000r/min离心10min,取上清液,真空浓缩至原体积的1/10,冻干,得粗多肽,-40℃保存。将粗多肽用葡聚糖凝胶G-15分离,用紫外检测仪检测280nm的紫外吸收值,绘制多肽洗脱曲线。收集洗脱曲线峰对应的组分,浓缩、冻干,配制成2mg/mL的溶液,分别测定抗氧化活性,重复收集抗氧化活性高的组分,得QPs,冷冻干燥后于-40℃保存。

1.2.2 QPs的分子质量测定 参考戴志远等<sup>[22]</sup>的方法并稍作修改,采用Tricine-SDS-PAGE凝胶电泳测定QPs的分子质量。分离胶、夹层胶和浓缩胶的质量分数分别为16%,10%和3%。将80 $\mu$ L的50mg/mL的样品溶液和20 $\mu$ L的4 $\times$ 的上样缓冲液混合,于100℃水浴10min,上样量为20 $\mu$ L,蛋白Marker上样量为10 $\mu$ L。电泳时先采用60V的电压使样品完全进入浓缩胶,再用120V的电压电泳,当指示剂到达底部时停止。

1.2.3 QPs-多酚复合物的制备 称取100mg QPs粉末溶解于1mL的蒸馏水中,涡旋混匀。分别称取(1,1.67,3.33,5,10,20mg)的多酚溶解在4.9mL的蒸馏水中。将QPs溶液0.1mL缓慢注入不同浓度的多酚溶液中,然后将混合物溶液在室温下以150r/min的转速旋转120min,获得质量比分别为10:1,6:1,3:1,2:1,1:1和1:2的QPs-多酚复合物溶液。

1.2.4 粒径、PDI和Zeta-电位分析 参考Dai等<sup>[23]</sup>的方法,使用配备动态光散射的Zeta-电位仪测定QPs、多酚、QPs-多酚复合物的粒径、PDI及Zeta-电位。所有样品在25℃下平衡120s后测定。

1.2.5 荧光光谱分析 参考Zhao等<sup>[24]</sup>的方法并稍做修改,使用荧光分光光度计获取QPs及其多酚复合物的荧光光谱。所有样品稀释10倍(QPs质量浓度为0.2mg/mL)后测定荧光发射光谱,设定激发波长为280nm,发射波长为300~450nm,狭缝宽为5nm。

1.2.6 表面疏水性分析 参考Sarteshnizi等<sup>[25]</sup>的

方法并稍做修改,以ANS为疏水荧光探针,分析QPs-多酚复合物的表面疏水性。将样品稀释100倍后,取4 mL与10  $\mu$ L 8 mmol/L ANS溶液混合,避光反应3 min,在激发波长360 nm,发射波长530 nm测定荧光强度。

1.2.7 红外光谱分析 参考Shi等<sup>[26]</sup>的方法,分别将2 mg QPs、多酚、QPs-多酚复合物与100 mg溴化钾混合,用玛瑙研钵研磨成粉末,然后用模具压制透明薄片。使用FTIR光谱仪扫描,波长范围为4 000~400  $\text{cm}^{-1}$ ,32次扫描,分辨率为4  $\text{cm}^{-1}$ 。采用OMNIC 8.2软件进行自动基线校正。通过Peak Fit v4.12软件分析光谱中酰胺I带(1 600~1 700  $\text{cm}^{-1}$ )中二级结构含量。

### 1.2.8 抗氧化性分析

1.2.8.1 DPPH自由基清除活性 参考Djuardi等<sup>[27]</sup>的方法,并稍作调整:用无水乙醇配制40 g/mL的DPPH-乙醇溶液,于4  $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。将QPs-TPs、QPs-AOB复合物分别稀释60倍和10倍后测定(稀释后QPs质量浓度分别为0.033,0.2 mg/mL),在酶标板中加入20  $\mu$ L稀释后样品和180  $\mu$ L DPPH溶液,混合均匀,于37  $^{\circ}\text{C}$ 下避光放置1 h。以等体积蒸馏水代替样品加入到DPPH-乙醇溶液中作为对照组。以蒸馏水代替DPPH-乙醇溶液作为样品空白。用酶标仪在517 nm下测定吸光度。并测定相同浓度QPs、多酚溶液的DPPH自由基清除活性。

$$X(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad (1)$$

式中: $A_1$ 为样品+DPPH-乙醇溶液的吸光度; $A_2$ 为样品+不含DPPH-乙醇溶液的吸光度; $A_0$ 为蒸馏水+DPPH-乙醇溶液的吸光度。

1.2.8.2 ABTS自由基清除活性 参考Djuardi等<sup>[27]</sup>的方法,并稍作调整:用5 mmol/L pH 7.4的磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffered Saline, PBS)分别配制7 mmol/L ABTS溶液和2.45 mmol/L过硫酸钾溶液,1:1混合均匀,于室温避光静置12~16 h,使用时用PBS稀释至734 nm处的吸光值为0.70 $\pm$ 0.02,作为ABTS工作液。

样品ABTS自由基清除能力测定:将QPs-TPs、QPs-AOB复合物分别稀释60倍和10倍后测定(稀释后QPs质量浓度分别为0.033,0.2 mg/

mL),在酶标板中分别加入25  $\mu$ L稀释后样品和175  $\mu$ L DPPH溶液,混合均匀,在37  $^{\circ}\text{C}$ 下避光放置10 min,以等体积蒸馏水代替样品加入到ABTS工作液中作为对照组。以蒸馏水代替ABTS工作液作为样品空白。用酶标仪在734 nm下测定吸光度。并测定相同浓度QPs、多酚溶液的ABTS自由基清除活性。

$$X(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad (2)$$

式中: $A_1$ 为样品+ABTS工作液的吸光度; $A_2$ 为样品+不含ABTS工作液的吸光度; $A_0$ 为蒸馏水+ABTS工作液的吸光度。

1.2.8.3  $\cdot\text{OH}$ 自由基清除活性 参考Ruan等<sup>[28]</sup>的方法,并稍作调整:在酶标板中依次加入50  $\mu$ L QPs-TPs、QPs-AOB复合物溶液(QPs质量浓度为2 mg/mL)、50  $\mu$ L 8 mmol/L  $\text{FeSO}_4$ 和50  $\mu$ L 1%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,静置10 min后加入50  $\mu$ L 6 mmol/L水杨酸-乙醇溶液,于37  $^{\circ}\text{C}$ 避光反应30 min。以等体积蒸馏水代替样品加入到作为对照组。以蒸馏水代替 $\text{FeSO}_4$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、水杨酸-乙醇溶液作为样品空白。用酶标仪在510 nm下测定吸光度。并测定相同浓度QPs、多酚溶液的 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除活性。

$$X(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad (3)$$

式中: $A_1$ 为样品组的吸光度; $A_2$ 为样品空白的吸光度; $A_0$ 为对照组的吸光度。

1.2.8.4 还原力 参考Parolia等<sup>[29]</sup>的方法并稍作修改,将QPs-TPs稀释10倍、QPs-AOB复合物不稀释(稀释后QPs质量浓度分别为0.2,2 mg/mL)。取1 mL样品溶液与2.5 mL 0.01 mol/L pH 6.8的PBS混合。然后加入3 mL质量分数1%铁氰化钾。然后将反应混合物在50  $^{\circ}\text{C}$ 下孵育20 min。再加入2.5 mL质量分数10%三氯乙酸,混合物在5 000 r/min下离心10 min。然后取上清液2.5 mL与2.5 mL蒸馏水和0.5 mL质量分数0.1%  $\text{FeCl}_3$ 混合,室温反应15 min。以等体积蒸馏水代替样品作为空白对照。用酶标仪在700 nm处吸光度。并测定相同浓度QPs、多酚溶液的还原力。绘制质量浓度范围为0.01~0.80 mg/mL的VC标准曲线。VC标准曲线方程: $y=0.1594x+0.0812$ , $R^2=0.999$ 。

1.2.9 抑菌能力分析 参考Xiong等<sup>[30]</sup>的方法并

稍作修改,将大肠杆菌和金黄色葡萄球菌分别用营养肉汤培养基活化 12~16 h,于 4 °C 保藏。取 1 mL 菌悬液( $1 \times 10^3$  CFU/mL)加入到 8 mL 的营养肉汤培养基中,再分别加入 1 mL 的 QPs-多酚复合物(QPs 质量浓度为 2 mg/mL),混合均匀,于 37 °C 培养 2 h 后取 0.1 mL 样品在营养琼脂培养基上于 37 °C 培养 24 h。计数菌落数在 20 至 300 个之间的菌落数(CFU/mL)。以相同浓度 QPs、多酚溶液做为对照,评价每小时细菌的倍增速率。

$$\text{每小时倍增速率} = \frac{N_t}{N_0} \times \frac{1}{t} \quad (4)$$

式中: $N_0$ 为接种后营养肉汤培养基中细菌数,CFU/mL; $N_t$ 为培养 2 h 后营养肉汤培养基中细菌数,CFU/mL; $t$ 为培养时间,h。

### 1.3 数据分析

采用 SPSS Statistics 26.0 软件进行统计学分析,采用单因素方差分析(ANOVA)比较显著性差异,设定差异水平判别标准为  $P < 0.05$ 。数据以平均

值  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,用 Origin 2018 软件绘制相关图表。

## 2 结果分析

### 2.1 QPs 葡聚糖凝胶 G-15 分离

由图 1 可知,粗多肽经葡聚糖 G-15 凝胶洗脱,在 280 nm 处出现 4 个洗脱峰,记为 A、B、C、D。分别收集 4 个组分,浓缩、冻干,配制成 2 mg/mL 多肽溶液,测定其抗氧化活性。如表 1 所示,组分 A、B、D 抗氧化活性显著低于组分 C ( $P < 0.05$ ),且组分 C 含量较高,命名为 QPs,并重复收集组分 C 进行后续分析。

### 2.2 Tricine-SDS-PAGE 电泳分子质量分析

由图 2 可知,经分离纯化后的 QPs 的 Tricine-SDS-PAGE 电泳图谱中显示为单一条带,与标准分子质量蛋白的图谱对比分析可知,QPs 的分子质量约为 11 ku。

表 1 葡聚糖凝胶 G-15 分离组分抗氧化活性分析

Table 1 Antioxidant activity analysis of separated components of Sephadex G-15

组分	DPPH 自由基清除率/%	ABTS 自由基清除率/%	·OH 自由基清除率/%	还原力
A	$7.99 \pm 0.57^e$	$12.32 \pm 1.79^b$	$6.79 \pm 2.15^e$	$0.1371 \pm 0.0057^e$
B	$4.37 \pm 1.00^d$	$18.79 \pm 3.07^b$	$10.85 \pm 1.16^b$	$0.2150 \pm 0.0123^b$
C	$23.45 \pm 1.21^a$	$30.86 \pm 2.77^a$	$22.53 \pm 3.01^a$	$0.4404 \pm 0.0069^a$
D	$13.57 \pm 0.96^b$	$16.86 \pm 2.16^b$	$11.41 \pm 1.62^b$	$0.1173 \pm 0.0098^d$

注:表中同列小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。

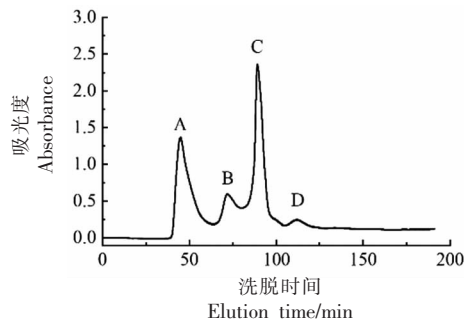
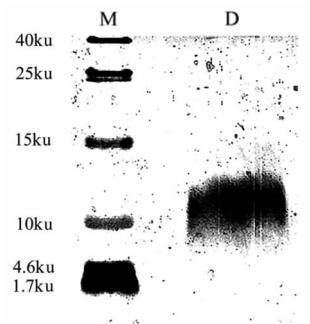


图 1 葡聚糖凝胶 G-15 分离

Fig.1 Separation and purification by Sephadex G-15

### 2.3 粒径和电位

图 3a 显示了 QPs 和 TPs 复合物的粒径和 PDI 变化,其中 TPs 的粒径最大,为 (814.20 123.85) nm,QPs 次之。QPs-TPs 复合物的粒径与



注:M 为标准分子质量蛋白;D 为藜麦多肽。

图 2 藜麦多肽 Tricine-SDS-PAGE 电泳图谱

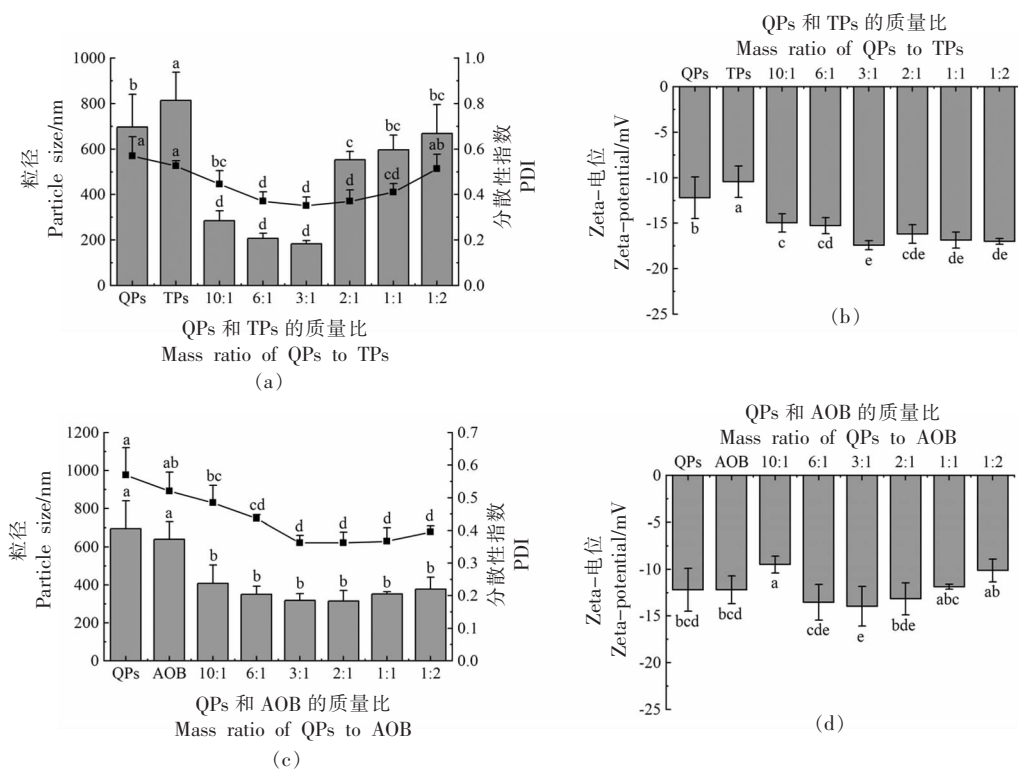
Fig.2 Tricine-SDS-PAGE electropherogram of quinoa polypeptides

二者相比显著减小( $P < 0.05$ ),且复合物粒径随 TPs 添加比例增大而先减小后增大,可能是因为少量 TPs 存在的情况下,TPs 破坏 QPs 胶粒原先的结构,并重新组装,使得胶粒的粒径减小<sup>[31]</sup>;当 QPs:

TPs 为 2:1~1:2 时,复合物的粒径比低 TPs 比例下显著增大 ( $P<0.05$ ),且电位值也显著增加 ( $P<0.05$ ),表明在高 TPs 浓度下,QPs 和 TPs 相互作用增强<sup>[32]</sup>。图 3b 显示了 QPs-TPs 复合物的电位变化,其复合物的电位较 QPs 和 TPs 单独存在时稳定。这与 TPs-乳清蛋白复合物的变化一致,在 5% 的乳清蛋白溶液中添加 TPs 后,电位值显著降低 ( $P<0.05$ ),并随 TPs 浓度的升高先升高,而后趋于平缓<sup>[33]</sup>。

图 3c 显示了 QPs-AOB 复合物的粒径和 PDI 变化,其中 QPs 粒径最大,为  $(696.40\pm 144.18)\text{nm}$ 。与 QPs 相比,QPs-AOB 复合物的粒径显著减小

( $P<0.05$ ),PDI 值随 AOB 的加入显著降低 ( $P<0.05$ ),表明二者形成的复合物分散均匀。当 QPs:AOB 为 10:1 和 3:1 时电位值变化显著 ( $P<0.05$ ),电位值的变化表明两种粒子有电荷的变化,进一步表明二者有相互作用<sup>[34]</sup>。QPs-AOB 复合物与 QPs-TPs 复合物的粒径变化趋势略有不同,可能是因为该复合物的形成与多酚羟基和蛋白质链结合或芳香族多酚和蛋白质基团疏水区域结合有关,而 TPs 中的酚类化合物的含量高于 AOB 中酚类化合物的含量,所以在相同质量浓度下 TPs 中多酚的含量更高,易形成较大的聚集体<sup>[35]</sup>。



注:不同小写字母表示不同比例复合样品测定值的差异显著 ( $P<0.05$ )。

图 3 QPs 和多酚复合物的粒径、PDI 和电位

Fig.3 Particle size, PDI and potential of QPs and polyphenol complexes

## 2.4 荧光光谱分析

由于蛋白质中的酪氨酸、色氨酸以及苯丙氨酸残基可以发射荧光的特性,所以常用荧光猝灭来反应蛋白质和小分子物质之间的相互作用<sup>[36]</sup>。由图 4 可知,QPs 胶粒在 330 nm 处有最大荧光强度,且荧光强度随着体系中 TPs 和 AOB 添加比例增加逐渐降低,并发生了红移,由 330 nm 红移至

331 nm,表明与 TPs 和 AOB 发生了相互作用,淬灭了 QPs 的固有荧光,增加了荧光团微环境的极性<sup>[37-38]</sup>。在添加相同质量比的情况下,TPs-QPs 复合物荧光强度下降的幅度大于 AOB-QPs 复合物。这可能是因为 TPs 中含有较多的 EGCG,酚羟基含量较多,使得其与 QPs 的结合强度高于与 AOB 的结合强度<sup>[39-40]</sup>。

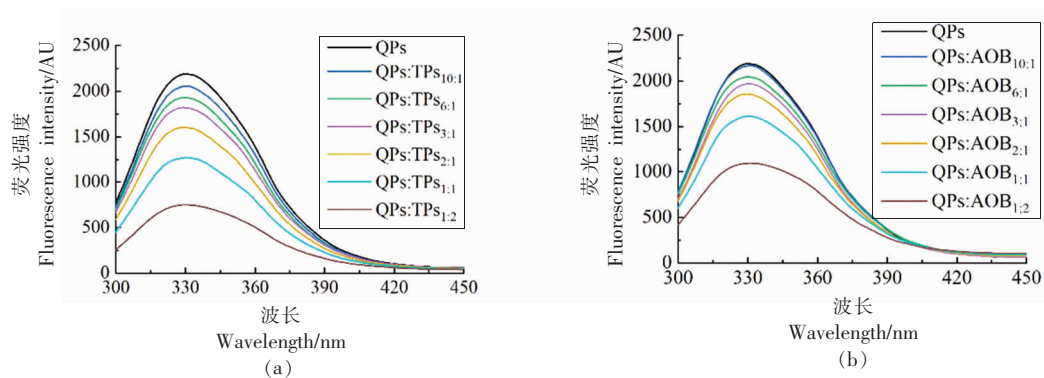


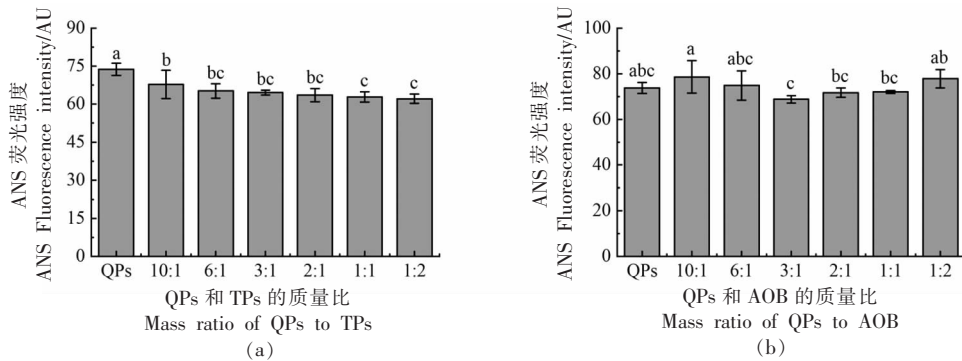
图4 QPs和多酚的荧光光谱分析

Fig.4 Fluorescence spectroscopic analysis of QPs and polyphenols

## 2.5 表面疏水性分析

表面疏水性的高低可反映蛋白质表面上暴露的疏水基团的数量,对蛋白质的表面相关功能起着至关重要的作用。如图5a所示,添加TPs后QPs-TPs复合物的表面疏水性荧光强度变低,QPs:TPs添加比例为1:2时,ANS荧光强度由 $(74.132 \pm 1.675)$  AU,降至 $(62.147 \pm 1.362)$  AU。可能是TPs与QPs的疏水部分结合,ANS探针与疏水氨基酸残基结合的概率降低,从而使得表面疏水性降低<sup>[41]</sup>。同时TPs中亲水基团(如OH和COOH)

的引入也使得表面疏水性降低<sup>[42]</sup>。如图5b所示,AOB对QPs的表面疏水性无显著影响( $P > 0.05$ ),AOB和QPs的结合可能与QPs上的疏水基团无关。Zhao等<sup>[43]</sup>研究了具有不同取代基的黄酮类化合物与小麦醇溶蛋白的相互作用,表明大豆黄酮、芒柄花黄素、毛蕊异黄酮可以与小麦醇溶蛋白相互作用,但不会导致其表面疏水性的显著改变( $P < 0.05$ )。所以,不同的多酚可以不同的相互作用模式与QPs的活性位点结合,从而在表面疏水性上引起差异。



注:不同小写字母表示不同比例复合样品的ANS荧光强度差异显著( $P < 0.05$ )。

图5 QPs和多酚复合物表面疏水性分析

Fig.5 Surface hydrophobicity analysis of QPs and polyphenol complexes

## 2.6 红外光谱分析

红外光谱常用于研究蛋白质二级结构的变化。如图6所示,QPs在3428 nm(O-H的拉伸振动)、2934 nm(C-H的拉伸振动)、1650 nm(肽链上C=O的拉伸振动)、1548 nm(氨基上的C-N、C-C拉伸振动和N-H弯曲振动)处有典型的蛋白吸收峰<sup>[44]</sup>。QPs和多酚结合后,这些吸收带的形状

和峰位都发生了改变,表明QPs的二级构象发生了改变。如图6a所示,QPs-TPs复合物的O-H拉伸振动峰出现红移,表明QPs与TPs之间形成氢键<sup>[45]</sup>。同时,二者相互作用的程度和TPs添加量有关,更多的TPs加入,导致更多酚羟基引入形成更多的氢键;C-H的拉伸振动峰出现红移,表明复合物在形成过程中QPs和TPs发生了疏水相互作用

用, 在高 TP<sub>s</sub> 添加量情况下疏水相互作用受 TP<sub>s</sub> 浓度的影响较小, 可能是因为高浓度的 TP<sub>s</sub> 诱导了 QP<sub>s</sub> 聚集, 并抑制了 TP<sub>s</sub> 与 QP<sub>s</sub> 内部疏水基团之间的疏水相互作用<sup>[46]</sup>。QP<sub>s</sub>-AOB 复合物的变化同 QP<sub>s</sub>-TP<sub>s</sub> 复合物的变化相似, QP<sub>s</sub>-AOB 复合物的 O-H 拉伸振动峰出现红移, 且最大峰波长低于 AOB 的 O-H 拉伸振动峰的最大波长, C-H 的拉伸振动峰出现红移(图 6b)。通过酰胺 I 带和酰胺 II 带位置的改变, 可以推断 QP<sub>s</sub> 通过 C=O、C-N 和 N-H 与多酚(TP<sub>s</sub>、AOB)结合<sup>[47]</sup>。

酰胺 I 带在评估蛋白二级结构变化时比酰胺 II 带更敏感。因此, 使用傅里叶自反褶积和二阶导数分析酰胺 I 带区(1 600~1 700 cm<sup>-1</sup>)的二级结构

( $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠等)。1 610~1 640 cm<sup>-1</sup> 为  $\alpha$ -螺旋, 1 640~1 650 cm<sup>-1</sup> 为  $\beta$ -折叠, 1 650~1 660 cm<sup>-1</sup> 和 1 660~1 695 cm<sup>-1</sup> 分别为  $\beta$ -转角和无规则卷曲<sup>[48]</sup>。从图 6c、图 6d 可以看出, QP<sub>s</sub> 中含有 54.53% 的  $\beta$ -折叠、22.08% 的无规则卷曲、16.70% 的  $\alpha$ -螺旋和 6.69% 的  $\beta$ -转角。QP<sub>s</sub>-TP<sub>s</sub>、QP<sub>s</sub>-AOB 复合物的二级结构均发生了不同程度的变化, 随 TP<sub>s</sub> 的加入  $\beta$ -折叠、 $\alpha$ -螺旋、无规则卷曲的百分含量出现下降,  $\beta$ -转角的百分含量增加(图 6c)。QP<sub>s</sub>:TP<sub>s</sub> 为 1:2 时,  $\beta$ -折叠、 $\alpha$ -螺旋、无规则卷曲和  $\beta$ -转角的百分含量分别为 43.58%, 17.20%, 12.92% 和 26.30%。AOB 对 QP<sub>s</sub> 二级结构的影响与 TP<sub>s</sub> 相似(图 6d), QP<sub>s</sub>:AOB 为 1:2 时,

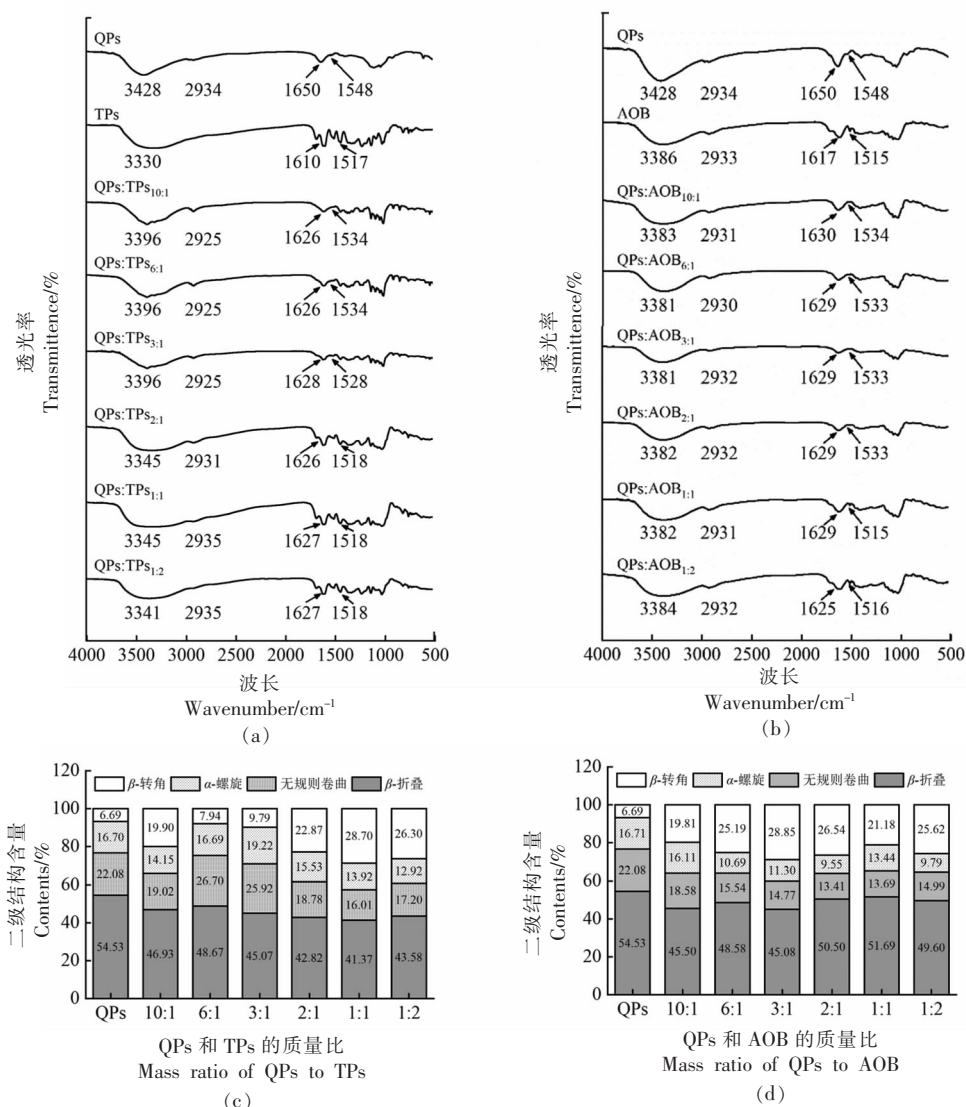


图 6 QP<sub>s</sub>-多酚复合物红外光谱分析

Fig.6 QP<sub>s</sub>-polyphenol complex infrared spectrum analysis

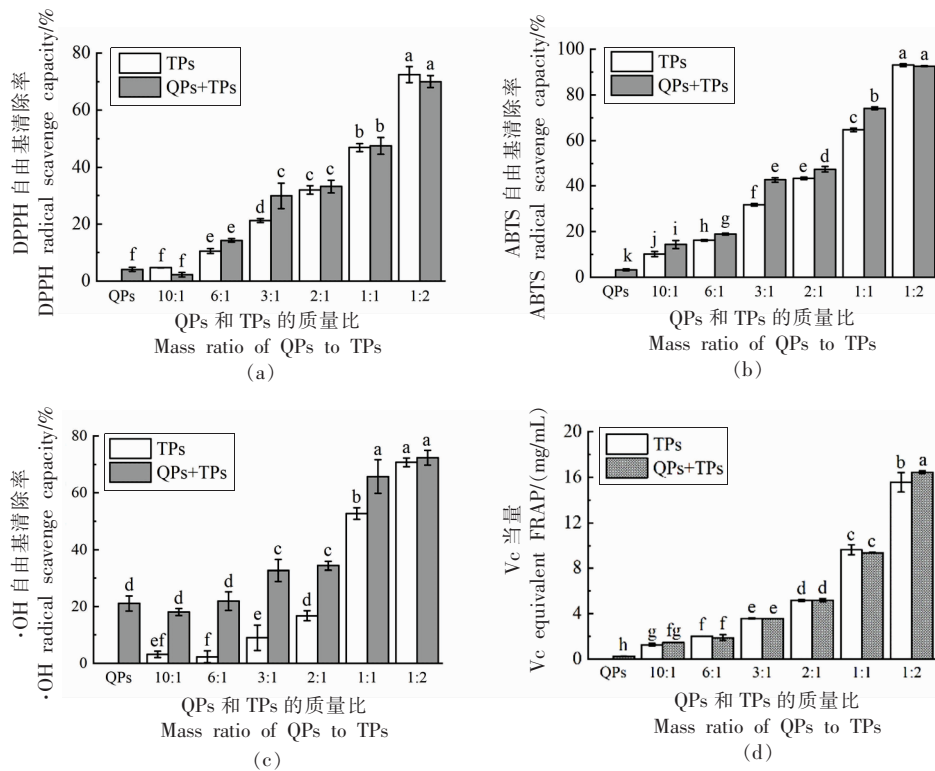
$\beta$ -折叠、 $\alpha$ -螺旋、无规则卷曲和 $\beta$ -转角的百分含量分别为49.60%,14.99%,9.79%和25.62%。以上结果表明QPs和多酚之间产生了相互作用并使蛋白质结构变得松散。Hasni等<sup>[49]</sup>研究了牛奶中 $\alpha$ -和 $\beta$ -酪蛋白与茶多酚的相互作用,也表明茶多酚使酪蛋白 $\beta$ -折叠、 $\alpha$ -螺旋的百分含量降低,使蛋白质结构由有序变为无序。

## 2.7 抗氧化性分析

### 2.7.1 QPs-TPs复合物抗氧化性分析

如图7所示,通过DPPH、ABTS、 $\cdot$ OH自由基和还原力分析,系统研究了QPs-TPs复合物的抗氧化活性。如图7a所示,在QPs:TPs添加比例在6:1~1:2时QPs-TPs复合物对DPPH自由基清除率较QPs单独存在时显著提高且与相同浓度下TPs的抗氧化能力相当( $P>0.05$ ),表明QPs-TPs复

合物提高QPs的DPPH自由基清除能力。还原力的变化趋势与DPPH的变化趋势相似,在QPs:TPs添加比例在10:1~1:2时QPs-TPs复合物对还原力较QPs单独存在时显著提高( $P>0.05$ ),且随添加比例的减小而升高(图7d)。此外,QPs-TPs复合物比TPs单独存在时具有更强的ABTS清除能力和 $\cdot$ OH自由基清除能力,且随添加比例的减小而对自由基清除能力提高(图7b、图7c)。QPs-TPs复合物抗氧化能力的提高可能是由于二者结合后TPs中的 $\cdot$ OH基团的引入而使抗氧化性提高<sup>[50]</sup>。相关研究表明,蛋白质-TPs相互作用增加了蛋白质的抗氧化能力。Jing等<sup>[51]</sup>将TPs和蛋清蛋白(egg white protein,EWP)复合,提高了EWP的抗氧化活性。



注:不同小写字母表示不同比例复合物测定值的差异显著( $P<0.05$ )。

图7 QPs-TPs复合物抗氧化性分析

Fig.7 Antioxidant activity analysis of QPs-TPs complex

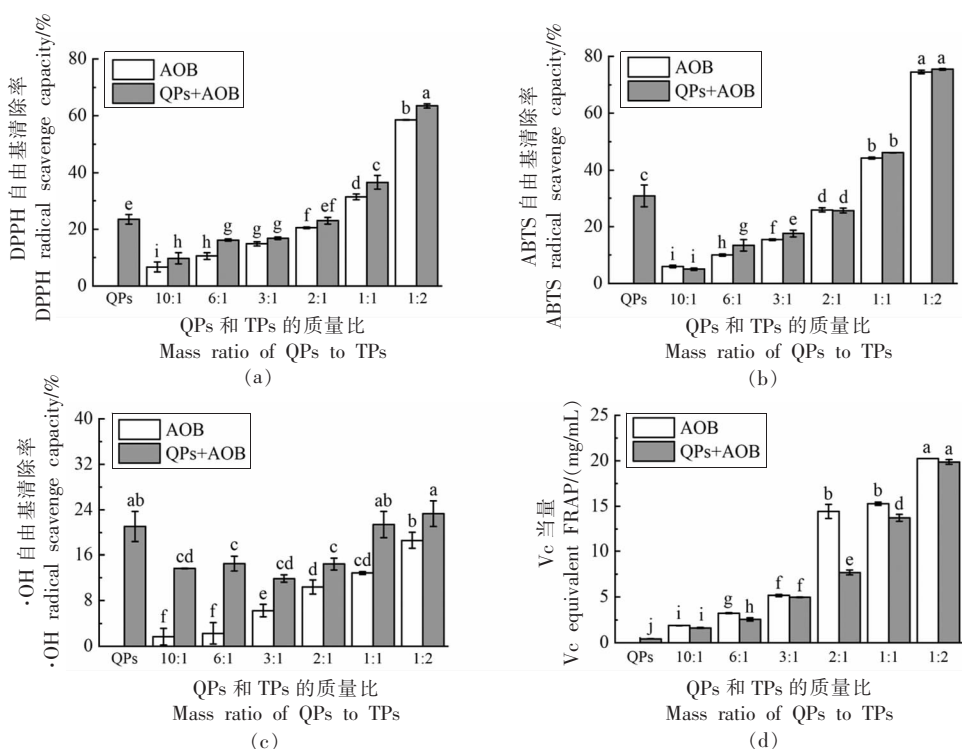
2.7.2 QPs-AOB复合物抗氧化性分析 如图8a所示,QPs:AOb为10:1~3:1时QPs-AOB复合物对DPPH自由基清除率较QPs单独存在时显著降低( $P<0.05$ ),在1:1~1:2时QPs-AOB复合物对

DPPH自由基清除率较QPs单独存在时显著提高且QPs-AOB复合物对DPPH自由基清除率较同浓度下AOB对DPPH自由基清除率显著提高( $P<0.05$ )。ABTS自由基清除率的变化趋势和DPPH



自由基清除率变化类似, QPs: AOB 为 10:1~2:1 时 QPs-AOB 复合物对 ABTS 自由基清除率较 QPs: AOB 为 1:0 时显著降低, 在 1:1~1:2 时 QPs-AOB 复合物对 ABTS 自由基清除率较 QPs 单独存在时显著提高 ( $P<0.05$ ) 但和同浓度 AOB 之间无显著差异 ( $P>0.05$ ) (图 8b)。此外, QPs-AOB 复合物未显著提高 QPs 的  $\cdot\text{OH}$  自由基清除率 ( $P>0.05$ ), 但与同浓度下 AOB 相比, QPs-AOB 复合物的  $\cdot\text{OH}$  自由基清除率显著高于 AOB 单独存在时对自由基的清除率 ( $P<0.05$ ) (图 8c)。Quan 等<sup>[52]</sup>

研究表明抗氧化活性的差异可能更多地与蛋白质和酚类化合物的比例有关, 当酚浓度较低时引入体系的羟基较少, 对抗氧化活性的影响较小, 同时多酚使多肽构象发生变化, 使多肽抗氧化性降低。QPs-AOB 复合物的还原力随 AOB 添加比例的增加而增大, 但 QPs 的存在使得 AOB 的还原力下降 (图 8d)。Yang 等<sup>[53]</sup>将南瓜子蛋白与邻苯三酚相复合, 增强了南瓜子蛋白的抗氧化活性, 还原力随邻苯三酚浓度的增加而显著增加 ( $P<0.05$ )。



注:不同小写字母表示不同比例复合样品测定值的差异显著( $P<0.05$ )。

图8 QPs-AOB复合物抗氧化性分析

Fig.8 Antioxidant activity analysis of QPs-AOB complex

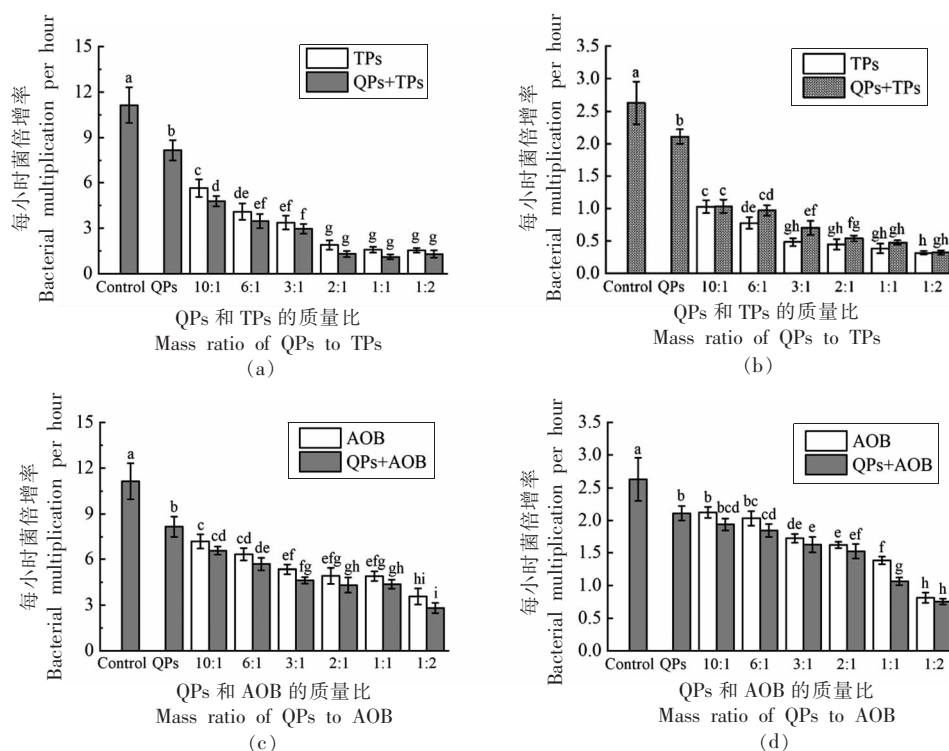
## 2.8 抑菌能力分析

TPs 和 AOB 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均具有抗菌活性。通过评价 QPs、QPs-多酚、多酚样品的抑菌活性, 研究 QPs-多酚复合物抑菌能力的变化。如图 9 所示, QPs 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有显著的抑制活性 ( $P<0.05$ ), 分别使每小时倍增速率由  $11.13\pm 1.17$  降至  $8.16\pm 0.669$  和  $2.63\pm 0.33$  降至  $2.11\pm 0.11$ 。与 QPs 相比, QPs 与 TPs、AOB 形成复合物均能够显著增强多肽的抑

菌活性 ( $P<0.05$ )。如图 9a 所示, 随 TPs 添加比例增大对大肠杆菌的抑制活性也逐渐增大, 且二者复合未对 TPs 的抑菌活性造成不良影响。其对金黄色葡萄球菌的抑制作用与此类似 (图 9b)。QPs-AOB 复合物对微生物的抑制活性变化趋势与 QPs-TPs 复合物类似, 但 QPs-AOB 复合物的抑菌活性低于 QPs-TPs 复合物。可能与复合物中羟基的含量和位置、电荷以及电负性有关, 具有连苯三酚基团的多酚比具有儿茶酚基团的多酚具有更强

的抑制活性,在对位含有羟基取代基的酚酸具有更强的抑制活性<sup>[54]</sup>。TPs的主要成分(EGC、EGCG等)含有大量连苯三酚基团而AOB的主要成分(黄酮碳苷、羟基香豆素等)中多为儿茶酚基团,所

以QPs-TPs复合物的抑菌活性高于QPs-AOB复合物的抑菌活性<sup>[35]</sup>。综上,QPs-多酚复合物能够增强QPs的抑菌活性。



注:图 a、c 分别表示 TPs 和 AOB 对大肠杆菌每小时倍增率的影响;图 b、d 分别表示 TPs 和 AOB 对金黄色葡萄球菌每小时倍增率的影响;不同小写字母表示不同比例复合物测定值的差异显著( $P<0.05$ )。

图 9 QPs-多酚复合物的抑菌活性

Fig.9 Antibacterial activity of QPs-polyphenol complex

### 3 结论

本研究利用 QPs 和常用食品多酚相互作用形成复合物,对多肽进行改性。结果表明,多酚引入会使 QPs 发色氨基酸残基猝灭,结构发生改变,并使最大发射波长红移。通过对其二级结构分析,获知所有样品中 QPs 的 $\beta$ -折叠、 $\alpha$ -螺旋、无规则卷曲的百分含量下降, $\beta$ -转角的百分含量增加,进一步证明其二级结构的变化。QPs 与 TPs、AOB 复合过程发生重新组装,使颗粒粒径降低。QPs 和 TPs、AOB 复合物的 DPPH、ABTS 自由基清除能力和还原力获得提高。同时,QPs 和 TPs、AOB 复合物均显著降低大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的增长速率,表明其相互作用增强了抑菌活性。因此,本研究结果为多肽的改性以及 QPs 在食品配料及功能

性食品体系的开发和利用提供参考。

### 参 考 文 献

- [1] ZHANG L, HAN Z S, GRANATO D. Polyphenols in foods: Classification, methods of identification, and nutritional aspects in human health[J]. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2021, 98: 1-33.
- [2] YAN Z M, ZHONG Y Z, DUAN Y H, et al. Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits[J]. *Animal Nutrition*, 2020, 6(2): 115-123.
- [3] CHEN G L, FAN M X, WU J L, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of flavonoids from lotus plumule[J]. *Food Chemistry*, 2019, 277:

- 706–712.
- [4] MUSIAL C, SIEDLECKA–KROPLEWSKA K, KMIEC Z, et al. Modulation of autophagy in cancer cells by dietary polyphenols[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(1): 123.
- [5] ZAITONE S A, AHMED E, ELSHERBINY N M, et al. Caffeic acid improves locomotor activity and lessens inflammatory burden in a mouse model of rotenone –induced nigral neurodegeneration: Relevance to Parkinson’s disease therapy [J]. *Pharmacological Reports*, 2018, 71(1): 32–41.
- [6] WANG F Y, REN Y, LAN R T, et al. Controlled bacteriostasis of tea polyphenol loaded ultrahigh molecular weight polyethylene with high crosslink density and oxidation resistance for total joint replacement[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2021, 124: 112040.
- [7] CHEN Y, CHENG S, DAI J G, et al. Molecular mechanisms and applications of tea polyphenols: A narrative review[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2021, 45(10): e13910.
- [8] YU Y, LI Z M, CAO G T, et al. Bamboo leaf flavonoids extracts alleviate oxidative stress in HepG2 cells via naturally modulating reactive oxygen species production and Nrf2 - mediated antioxidant defense responses[J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(6): 1609–1620.
- [9] GAUCHAN D P, GURUNG V, JYAKHWO S, et al. Phytochemical, antioxidant and antimicrobial analysis of *Bambusa Tulda roxb.* and *Bambusa nutans* wall. *Ex munro*[J]. *The Journal of Indian Botanical Society*, 2020, 99: 25–35.
- [10] ELSOHAIMY S A, REFAAY T M, ZAYTOUN M. Physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate[J]. *Annals of Agricultural Sciences*, 2015, 60(2): 297–305.
- [11] DAKHILI S, ABDOLALIZADEH L, HOSSEINI S M, et al. Quinoa protein: Composition, structure and functional properties[J]. *Food Chemistry*, 2019, 299: 125161.
- [12] MIR N A, RIAR C S, SINGH S. Effect of pH and holding time on the characteristics of protein isolates from *Chenopodium* seeds and study of their amino acid profile and scoring[J]. *Food Chemistry*, 2018, 272: 165–173.
- [13] AYYASH M, JOHNSON S K, LIU S Q, et al. *In vitro* investigation of bioactivities of solid–state fermented lupin, quinoa and wheat using *Lactobacillus* spp[J]. *Food Chemistry*, 2019, 275: 50–58.
- [14] JOY UJIROGHENE O, LIU L, ZHANG S W, et al.  $\alpha$ -Glucosidase and ACE dual inhibitory protein hydrolysates and peptide fractions of sprouted quinoa yoghurt beverages inoculated with *Lactobacillus casei* [J]. *Food Chemistry*, 2019, 299: 124985.
- [15] HAMZEH A, REZAEI M, KHODABANDEH S, et al. Antiproliferative and antioxidative activities of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) protein hydrolysates as affected by degree of hydrolysis[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2018, 12(2): 721–727.
- [16] YILDIRIM–ELIKOGLU S, ERDEM Y K. Interactions between milk proteins and polyphenols: Binding mechanisms, related changes, and the future trends in the dairy industry[J]. *Food Reviews International*, 2018, 34(7): 665–697.
- [17] PÉREZ–GREGORIO R, SOARES S, MATEUS N, et al. Bioactive peptides and dietary polyphenols: Two sides of the same coin[J]. *Molecules*, 2020, 25(15): 3443.
- [18] YOU Y, YANG L, CHEN H, et al. Effects of (–)-epigallocatechin–3–gallate on the functional and structural properties of soybean protein isolate [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(7): 2306–2315.
- [19] QUAN T H, BENJAKUL S. Duck egg albumen hydrolysate–epigallocatechin gallate conjugates: Antioxidant, emulsifying properties and their use in fish oil emulsion[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2019, 579: 123711.
- [20] DAI T T, MCCLEMENTS D J, HU T, et al. Improving foam performance using colloidal protein–polyphenol complexes; Lactoferrin and tannic acid [J]. *Food Chemistry*, 2022, 377: 131950.
- [21] CHEN F P, KONG N Q, WANG L, et al. Nanocomplexation between thymol and soy protein isolate and its improvements on stability and antibacterial properties of thymol[J]. *Food Chemistry*, 2021, 334: 127594.
- [22] 戴志远, 任明, 张燕平. 电泳和层析方法对梅鱼蛋白酶解产物的分离分析[J]. *中国食品学报*, 2007, 7(4): 101–105.

- DAI Z Y, REN M, ZHANG Y P. Isolation and analysis of enzymatic hydrolysate from small miscellaneous fish protein by electrophoresis and chromatography[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2007, 7(4): 101–105.
- [23] DAI T T, LI T, LI R Y, et al. Utilization of plant-based protein-polyphenol complexes to form and stabilize emulsions: Pea proteins and grape seed proanthocyanidins[J]. *Food Chemistry*, 2020, 329: 127219.
- [24] ZHAO Q, YU X J, ZHOU C S, et al. Effects of collagen and casein with phenolic compounds interactions on protein in vitro digestion and antioxidation[J]. *LWT*, 2020, 124: 109192.
- [25] SARTESHNIZI R A, SAHARI M A, GAVLIGHI H A. Influence of fish protein hydrolysate-pistachio green hull extract interactions on antioxidant activity and inhibition of  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase, and DPP-IV enzymes[J]. *LWT*, 2021, 142: 111019.
- [26] SHI R J, CHEN W, PAN F, et al. Characterization of the binding behavior, structure and foaming properties of bovine  $\alpha$ -lactalbumin combined with saponin by the multi-spectroscopic and silico approaches[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 124: 107259.
- [27] DJUARDI A U P, YULIANA N D, OGAWA M, et al. Emulsifying properties and antioxidant activity of soy protein isolate conjugated with tea polyphenol extracts[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, 57(10): 3591–3600.
- [28] RUAN S Y, LI Y L, WANG Y C, et al. Analysis in protein profile, antioxidant activity and structure-activity relationship based on ultrasound-assisted liquid-state fermentation of soybean meal with *Bacillus subtilis*[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2020, 64: 104846.
- [29] PAROLIA S, MALEY J, SAMMYNAIKEN R, et al. Structure-functionality of lentil protein-polyphenol conjugates[J]. *Food Chemistry*, 2022, 367: 130603.
- [30] XIONG L, BOEREN S, VERVOORT J, et al. Effect of milk serum proteins on aggregation, bacteriostatic activity and digestion of lactoferrin after heat treatment[J]. *Food Chemistry*, 2021, 337: 127973.
- [31] CHEN X J, ZHOU B, GAO J, et al. EGCG-decorated zein complex particles: Relationship to synergistic interfacial properties[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022, 652: 129879.
- [32] ZHAO Z J, LU M W, MAO Z, et al. Modulation of interfacial phenolic antioxidant distribution in Pickering emulsions via interactions between zein nanoparticles and gallic acid[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 152: 223–233.
- [33] PAN X, FANG Y, WANG L, et al. Covalent Interaction between rice protein hydrolysates and chlorogenic acid: Improving the stability of oil-in-water emulsions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(14): 4023–4030.
- [34] GU Y P, ZHAO Z L, XUE F, et al. Alginate-chitosan coated nanoliposomes as effective delivery systems for bamboo leaf flavonoids: Characterization, *in vitro* release, skin permeation and anti-senescence activity[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(5): 1024.
- [35] NASSARAWA S S, NAYIK G A, GUPTA S D, et al. Chemical aspects of polyphenol-protein interactions and their antibacterial activity[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(28): 9482–9505.
- [36] AGUDELO D, BOURASSA P, BARIYANGA J, et al. Loading efficacy and binding analysis of retinoids with milk proteins: a short review[J]. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2018, 36(16): 4246–4254.
- [37] LIU K, ZHA X Q, LI M Q. Hydrophobic interaction and hydrogen bonding driving the self-assembling of quinoa protein and flavonoids[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 118: 106807.
- [38] LIU J L, KONG Y C, MIAO J Y, et al. Spectroscopy and molecular docking analysis reveal structural specificity of flavonoids in the inhibition of  $\alpha$ -glucosidase activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 152: 981–989.
- [39] GUO X F, YUE Y D, TANG F, et al. Simultaneous determination of seven flavonoids in dan bamboo *phyllostachys glauca* McC lure leaf extract and in commercial products by HPLC - DAD[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2013, 37(6): 748–757.
- [40] LI S, LO C Y, PAN M H, et al. Black tea: chemical analysis and stability[J]. *Food & Function*, 2013, 4(1): 8–10.
- [41] LI X, DAI T T, HU P, et al. Characterization the non-covalent interactions between beta lactoglobulin and selected phenolic acids[J]. *Food Hydrocolloids*,

- 2020, 105: 105761.
- [42] XU Y J, HAN M Y, HUANG M Y, et al. Enhanced heat stability and antioxidant activity of myofibrillar protein-dextran conjugate by the covalent adduction of polyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352: 129376.
- [43] ZHAO J, HUANG L, LI R J, et al. Insights from multi-spectroscopic analysis and molecular modeling to understand the structure-affinity relationship and the interaction mechanism of flavonoids with gliadin [J]. *Food & Function*, 2022, 13(9): 5061-5074.
- [44] WANG X W, ZHAO R Y, YUAN W Q. Composition and secondary structure of proteins isolated from six different quinoa varieties from China[J]. *Journal of Cereal Science*, 2020, 95: 103036.
- [45] HUANG T, FANG Z G, ZHAO H Z, et al. Physical properties and release kinetics of electron beam irradiated fish gelatin films with antioxidants of bamboo leaves[J]. *Food Bioscience*, 2020, 36: 100597.
- [46] DAI S C, LIAN Z T, QI W J, et al. Non-covalent interaction of soy protein isolate and catechin: Mechanism and effects on protein conformation [J]. *Food Chemistry*, 2022, 384: 132507.
- [47] ZHAO Q, YU X J, ZHOU C S, et al. Effects of collagen and casein with phenolic compounds interactions on protein in vitro digestion and antioxidant[J]. *LWT*, 2020, 124: 109192.
- [48] MENG Y Y, LI C. Conformational changes and functional properties of whey protein isolate-polyphenol complexes formed by non-covalent interaction [J]. *Food Chemistry*, 2021, 364: 129622.
- [49] HASNI I, BOURASSA P, HAMDANI S, et al. Interaction of milk  $\alpha$ - and  $\beta$ -caseins with tea polyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(2): 630-639.
- [50] ASHWAR B A, GANI A. Noncovalent Interactions of sea buckthorn polyphenols with casein and whey proteins: Effect on the stability, antioxidant potential, and bioaccessibility of polyphenols[J]. *ACS Food Science & Technology*, 2021, 1(7): 1206-1214.
- [51] JING H, SUN J, MU Y Y, et al. Sonochemical effects on the structure and antioxidant activity of egg white protein-tea polyphenol conjugates[J]. *Food & Function*, 2020, 11(8): 7084-7094.
- [52] QUAN T H, BENJAKUL S, SAE-LEAW T, et al. Protein-polyphenol conjugates: Antioxidant property, functionalities and their applications[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 91: 507-517.
- [53] YANG C, WANG B Y, WANG J M, et al. Effect of pyrogallol (1, 2, 3-benzenetriol) polyphenol-protein covalent conjugation reaction degree on structure and antioxidant properties of pumpkin (*Cucurbita* sp.) seed protein isolate[J]. *LWT*, 2019, 109: 443-449.
- [54] SHAHZAD M, MILLHOUSE E, CULSHAW S, et al. Selected dietary (poly) phenols inhibit periodontal pathogen growth and biofilm formation[J]. *Food & Function*, 2015, 6(3): 719-729.

### Preparation, Characterization and Functional Study of Quinoa Polypeptide Complex with Food Polyphenols

Yu Yuyuan, Zhou Qingqing, Zhou Liusha, Hu Xianglian, Shi Yongqing\*

(College of Food and Biological Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018)

**Abstract** The effects of tea polyphenols (TPs) and antioxidant of bamboo leaves (AOB) on quinoa polypeptides (QPs) properties were investigated. Polyphenols induced structural changes, affected antioxidant and antibacterial properties of the polypeptides. The structural changes of QPs with polyphenols in all the composite samples were studied by Fourier transform infrared and fluorescence spectroscopy. ANS probe was used to analyze the surface hydrophobicity of QPs, particle size and potential were used to characterize the QPs-polyphenol particles. The fluorescence results showed that the intrinsic fluorescence of QPs was quenched and decreased with the increase of the number of polyphenols added, and the maximum emission wavelength was red-shifted. Secondary structure analysis showed that the percentage of  $\beta$ -fold,  $\alpha$ -helix and random coil of QPs decreased, while the percentage of  $\beta$ -turn increased in all composite samples. When the ratio of QPs to TPs was 1:2, the percentages of  $\beta$ -fold,  $\alpha$ -spiral, random crimp and  $\beta$ -corner were 43.58%, 17.20%, 12.92%

and 26.30%, respectively. When the ratio of QPs to AOB was 1:2, the percentages of  $\beta$ -folding,  $\alpha$ -helix, random curling and  $\beta$ -corner were 49.60%, 14.99%, 9.79% and 25.62%, respectively. TPs significantly reduced the surface hydrophobicity of QPs ( $P<0.05$ ), When the ratio of QPs:TPs was 1:2, the fluorescence intensity of ANS decreased from 74.131.67AU to 62.141.36AU; but AOB had no significant effect on the surface hydrophobicity of QPs ( $P>0.05$ ). In addition, the combination of QPs with TPs or AOB significantly improve the antioxidant activity and inhibitory activity of QPs against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* ( $P<0.05$ ). These findings demonstrate the feasible application of TPs and AOB to improve the functional properties of QPs and the potential use of QPs-polyphenol composites in food ingredients and functional food systems.

**Keywords** quinoa polypeptides-polyphenol composites; secondary structure; antioxidant activity; antibacterial activity