

玉米醇溶蛋白的超声辅助酶法提取工艺 及不同提取方法对其结构和功能特性的影响

张明珠¹, 张丽芬^{1,2}, 陈复生¹, 蒋守业³

(1. 河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001; 2. 河南省南街村(集团)有限公司, 河南 漯河 462600;
3. 国粮武汉科学研究设计院有限公司, 武汉 430079)

摘要:以玉米蛋白粉为原料,对超声辅助 α -淀粉酶提取玉米醇溶蛋白的工艺条件进行探究,并研究了超声波法、 α -淀粉酶法、超声辅助 α -淀粉酶法和醇法对玉米醇溶蛋白功能特性和结构的影响。结果表明:超声辅助 α -淀粉酶法在超声功率密度 2.85 W/cm^3 、超声时间 35 min 、超声温度 $45\text{ }^\circ\text{C}$ 、酶添加量 0.9% 、酶解 $\text{pH } 6.0$ 时提取的玉米醇溶蛋白蛋白质含量最高,为 80.09% ,显著高于超声波法(68.49%)和 α -淀粉酶法(76.37%)提取的玉米醇溶蛋白;与醇法相比,超声辅助 α -淀粉酶法、超声波法和 α -淀粉酶法玉米醇溶蛋白的持水/持油力和乳化活性显著提高,溶解度和粒径减小,玉米醇溶蛋白二级结构更舒展,紫外吸收增强,内源荧光最大吸收峰发生红移,巯基含量升高,二硫键含量显著降低;不同提取方法对玉米醇溶蛋白的相对分子质量影响不大。

关键词:超声波辅助提取; α -淀粉酶;玉米醇溶蛋白;功能特性;结构

中图分类号:Q816;Q814.9 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)04-0026-07

Ultrasound - assisted enzymatic extraction of zein and effects of different extraction methods on its structure and functional properties

ZHANG Mingzhu¹, ZHANG Lifan^{1,2}, CHEN Fusheng¹, JIANG Shouye³

(1. College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China;
2. Henan Nanjiecun(Group) Co. ,Ltd. , Luohe 462600, Henan, China; 3. China Grain Wuhan
Science Research and Design Institute Co. ,Ltd. , Wuhan 430079, China)

Abstract: Using corn protein powder as raw material, the process conditions of ultrasound - assisted α - amylase extraction of zein were explored, and the effects of ultrasonic method, α - amylase method, ultrasound - assisted α - amylase method and ethanol method on the functional properties and structure of zein were studied. The results showed that zein extracted by ultrasound - assisted α - amylase method had the highest protein content (80.09%) when the ultrasonic power density was 2.85 W/cm^3 , ultrasonic time was 35 min , ultrasonic temperature was $45\text{ }^\circ\text{C}$, enzyme dosage was 0.9% , and the enzymatic hydrolysis pH was 6.0 , significantly higher than that by ultrasonic method (68.49%) and α - amylase method (76.37%). By analyzing the functional properties and structure changes of zein obtained by

different methods, it was found that compared with ethanol method, the water/oil holding capacity and emulsifying activity of zein extracted by ultrasound - assisted α - amylase method, ultrasonic method and α - amylase method were significantly improved, and solubility and particle size were reduced, and the secondary structure of zein was more stretched, the ultraviolet absorption of gliadin was enhanced, the maximum absorption peak of endogenous fluorescence was red -

收稿日期:2020-10-23;修回日期:2021-01-24

基金项目:河南工业大学青年骨干教师培育计划项目(21420051);河南省高等学校青年骨干培养计划;河南省重点研发与推广专项(182102110253);小麦和玉米深加工国家工程中心(NL2018008)

作者简介:张明珠(1996),女,在读硕士,研究方向为植物蛋白开发与利用(E-mail) zhangmingzhu0426@163.com。

通信作者:张丽芬,副教授(E-mail) zhanglifan2013@hotmail.com;陈复生,教授(E-mail) fusheng@haut.edu.cn。

shifted, the content of sulfhydryl groups increased, and the content of disulfide bonds decreased significantly. While different extraction methods had little effect on the relative molecular weight of zein.

Key words: ultrasound - assisted extraction; α - amylase; zein; functional property; structure

玉米醇溶蛋白是玉米蛋白粉中主要蛋白质,约占玉米蛋白粉中蛋白质总量的68%^[1],其均匀分布在细胞质基质和淀粉颗粒之间,含有丰富的谷氨酸、亮氨酸、脯氨酸和丙氨酸^[2]。研究表明,玉米醇溶蛋白具有抗氧化活性^[3-4],被广泛应用于纳米乳液制备、包装材料等领域。工业制备玉米醇溶蛋白的主要方法为乙醇提取法,但此方法提取率低、乙醇消耗量大,且存在溶剂残留等问题^[5]。超声波作为一种新型非热物理加工技术,应用于液体介质中会产生空化气泡,气泡破裂可起到增溶、搅拌以及改变蛋白质特性的效果^[6],但单独应用时不能有效地提高蛋白纯度,常作为辅助方法应用于蛋白质提取过程^[7]。将 α -淀粉酶应用于玉米醇溶蛋白的提取,则有助于去除与蛋白质紧密结合的淀粉,提高蛋白纯度^[8]。超声波与酶联合使用时,能够加快酶促反应进程,提高蛋白质的提取效率,且超声波的空化效应在一定程度上会改变蛋白质的结构和功能特性^[9],有利于扩大玉米醇溶蛋白的应用范围。

本文以玉米蛋白粉为原料,对超声辅助 α -淀粉酶提取玉米醇溶蛋白的工艺条件进行探究,并对比了不同提取方法(醇法、超声波法、 α -淀粉酶法和超声辅助 α -淀粉酶法)对玉米醇溶蛋白功能性质和结构的影响,以期为玉米醇溶蛋白的提取提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

玉米蛋白粉(CGM),由吉林中粮生化能源销售有限公司提供;5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(Ellman's 试剂),购于麦克林公司;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

SCIENTZ-II D 超声波细胞粉碎机,宁波新芝仪器有限公司;HH-6 数显恒温水浴锅,常州普天仪器制造有限公司;K1100 全自动凯氏定氮仪,山东海能仪器股份有限公司;FM200 高速剪切分散机,上海弗鲁克科技发展有限公司;BT-9300S 激光粒度分布仪,丹东百特仪器有限公司;TU-1900 紫外

可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;WQF-510傅里叶红外光谱仪,北京瑞利分析仪器有限公司;MY17040001 荧光分光光度计,北京安捷伦科技(中国)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 玉米蛋白粉组分测定

粗蛋白质含量测定,参照 GB/T 5009.5—2016;脂肪含量测定,参照 GB/T 5009.6—2016;水分含量测定,参照 GB/T 5009.3—2016;灰分含量测定,参照 GB/T 5009.4—2016。

1.2.2 玉米醇溶蛋白的提取

1.2.2.1 超声辅助 α -淀粉酶法

将 CGM 与蒸馏水按 1:10 混合后,调节 pH 6.0,预热溶液后加入 0.9% 的 α -淀粉酶,混合均匀后,在一定条件下进行超声波提取。超声结束后将溶液在 5 000 r/min 条件下离心 20 min,水洗沉淀 3 次,冷冻干燥,得超声辅助 α -淀粉酶法玉米醇溶蛋白。

1.2.2.2 醇法

将 CGM 与 80% 乙醇以 1:10 的比例混合,在室温下搅拌 3 h,然后在 5 000 r/min 条件下离心 20 min,将上清液与 1% NaCl 溶液按 1:1 混合,放置 4℃ 冰箱过夜沉淀后,将沉淀冷冻干燥,得醇法玉米醇溶蛋白。

1.2.2.3 酶法

将 CGM 与蒸馏水按 1:10 混合后,调节 pH 6.0,加入 0.9% 的 α -淀粉酶,在酶解温度 45℃ 下酶解 2 h 后,将酶解液在 5 000 r/min 条件下离心 20 min,水洗沉淀 3 次,冷冻干燥,得酶法玉米醇溶蛋白。

1.2.2.4 超声波法

将 CGM 与蒸馏水按 1:10 混合后,放入超声波细胞粉碎机中,设置超声波功率密度 4.75 W/cm³,在 65℃ 下超声 35 min 后,在 5 000 r/min 条件下离心 20 min,水洗沉淀 3 次,冷冻干燥,得超声波法玉米醇溶蛋白。

1.2.3 玉米醇溶蛋白功能特性的测定

1.2.3.1 溶解性

取 0.2 g 玉米醇溶蛋白于离心管中,加入 20 mL

85%乙醇混合,在室温下密封振荡3 h,再于5 000 r/min下离心15 min,采用凯氏定氮法测定上清液中蛋白质的含量^[10]。按式(1)计算溶解度(x)。

$$x = \frac{m_1 \times a}{m_2 \times b} \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 为上清液的总质量; a 为上清液中的蛋白质含量; m_2 为玉米醇溶蛋白的质量; b 为玉米醇溶蛋白的蛋白质含量。

1.2.3.2 持水/持油力

称取一定量玉米醇溶蛋白(质量为 m_0)于离心管中,记总质量为 m_1 。向离心管中加入5 mL蒸馏水或花生油,分散均匀后在25℃下静置30 min。然后于3 000 r/min离心10 min,弃去未吸附的水或油,记总质量为 m_2 。持水或持油力(R)按式(2)计算^[11]。

$$R = (m_2 - m_1) / m_0 \quad (2)$$

1.2.3.3 乳化性

称取0.075 g玉米醇溶蛋白溶于15 mL 85%乙醇溶液,加入5 mL大豆油。使用高速剪切分散机以10 000 r/min分散1 min,迅速用移液枪从底部吸取100 μ L乳液并加至5 mL 0.1 g/mL的十二烷基硫酸钠(SDS)溶液中,以SDS溶液为对照测定吸光度(A_0)。乳液在室温下放置10 min,并从底部吸取100 μ L乳化液加入至5 mL 0.1 g/mL的SDS溶液中,测定吸光度(A_{10}),乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)分别按式(3)、(4)计算^[12]。

$$I_{EA} = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{10\,000\varphi\rho} \quad (3)$$

$$I_{ES} = \frac{A_{10} \times \Delta t}{A_0 - A_{10}} \quad (4)$$

式中: I_{EA} 、 I_{ES} 分别为EAI和ESI值; N 为稀释倍数; φ 为乳液中油的体积分数; ρ 为蛋白质的质量浓度; Δt 为测定吸光度的时间间隔。

1.2.4 粒径、SDS-PAGE分析

粒径的测定:采用BT-9300S激光粒度分布仪测定。称取0.1 g玉米醇溶蛋白样品用蒸馏水分散,振荡平衡30 min并定容至50 mL。设置样品色散折射率为1.450,连续相水折射率为1.331,泵转速为2 000 r/min^[13]。

SDS-PAGE分析:用85%乙醇配制3 mg/mL的玉米醇溶蛋白溶液,采用12%分离胶、5%浓缩胶进行SDS-PAGE电泳,上样量10 μ L。初始电压20 mA,待条带过浓缩胶后将电压调至40 mA。将凝胶固定、染色、脱色后进行分析^[14]。

1.2.5 玉米醇溶蛋白结构的测定

1.2.5.1 傅里叶红外光谱测定

取0.004 g玉米醇溶蛋白与0.4 g KBr粉末混合研磨后用油压机压片。测定波数范围为4 000 ~ 400 cm^{-1} ,分辨率为1 cm^{-1} ,利用Peakfit软件进行拟合和计算^[15]。

1.2.5.2 紫外吸收光谱测定

用85%乙醇配制0.2 mg/mL的玉米醇溶蛋白溶液,以85%乙醇作为空白,用紫外可见分光光度计进行光谱扫描,扫描波长为200 ~ 400 nm,扫描频率为0.1 nm/s^[4]。

1.2.5.3 内源荧光光谱测定

用85%乙醇配制0.1 mg/mL的玉米醇溶蛋白溶液,以85%乙醇作为空白,采用荧光分光光度计测定蛋白荧光光谱。激发波长为295 nm,发射波长为300 ~ 500 nm,激发和发射狭缝宽均为5 nm,电压为500 mV^[16]。

1.2.5.4 扫描电子显微镜分析

使用导电双面胶将少量冻干后的玉米醇溶蛋白粉末固定在金属样品台上,置于样品舱后,在15 mA的电流下喷金1.5 min,放大3 000倍进行观察^[17]。

1.2.5.5 巯基(SH)和二硫键(SS)含量测定

将0.075 g玉米醇溶蛋白与1 mL Tris-甘氨酸(pH 8.0)缓冲液混合,加入4.7 g盐酸胍,定容至10 mL。取1 mL蛋白溶液,加入4 mL脲-盐酸胍溶液(摩尔比8:5)、0.05 mL 4 mg/mL Ellman's试剂,412 nm处比色,游离SH含量按式(5)计算。取1 mL蛋白溶液,加入0.05 mL巯基乙醇和4 mL脲-盐酸胍溶液(摩尔比8:5),25℃保温1 h后加入10 mL 12%三氯乙酸,再保温1 h,于5 000 r/min离心10 min,用5 mL 12%三氯乙酸洗涤两次,加入10 mL 8 mol/L脲溶解沉淀,加入0.05 mL 4 mg/mL Ellman's试剂,412 nm处比色,计算总SH含量(按式(5)计算),SS含量按式(6)计算^[18]。

$$C_{SH} = \frac{73.53A_{412}D}{c_s} \quad (5)$$

式中: C_{SH} 为巯基含量, $\mu\text{mol/g}$; A_{412} 为412 nm处吸光度; c_s 为样品质量浓度,mg/mL; D 为稀释因子。

$$C_{SS} = (C_{SH_{总}} - C_{SH_{游离}}) / 2 \quad (6)$$

式中: C_{SS} 为二硫键含量, $\mu\text{mol/g}$; $C_{SH_{总}}$ 为总巯基含量, $\mu\text{mol/g}$; $C_{SH_{游离}}$ 为游离巯基含量, $\mu\text{mol/g}$ 。

1.2.6 数据统计分析

实验结果以“平均值 \pm 标准偏差”表示,采用

SPSS 对数据进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 表明具有显著性差异, 采用 Origin 8.5 绘图。

2 结果与分析

2.1 玉米蛋白粉组分(见表1)

表1 玉米蛋白粉组分含量

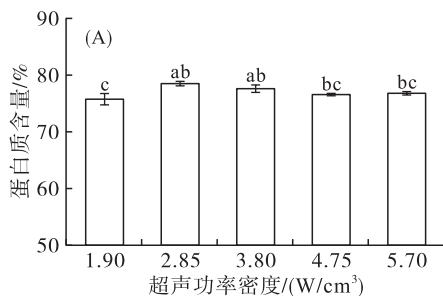
粗蛋白质	水分	脂肪	灰分	碳水化合物
57.50 ± 0.84	7.78 ± 0.05	1.07 ± 0.05	1.34 ± 0.06	32.31 ± 0.80

注: 碳水化合物含量 = 1 - 粗蛋白质含量 - 水分含量 - 脂肪含量 - 灰分含量。

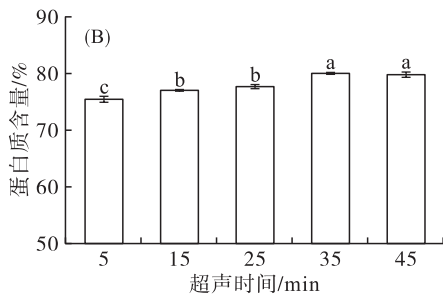
由表1可看出, 玉米蛋白粉粗蛋白质含量较高, 为57.50%。

2.2 超声辅助 α -淀粉酶法工艺优化

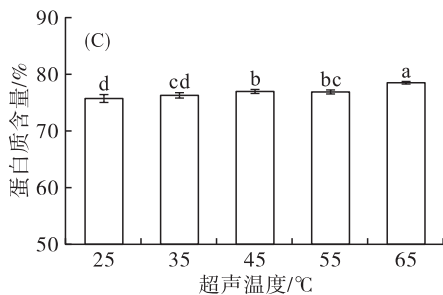
超声辅助 α -淀粉酶法提取过程中超声功率密度、超声时间和超声温度对玉米醇溶蛋白中蛋白质含量的影响如图1所示。



注: 超声时间 25 min, 超声温度 45 °C。不同字母表示差异显著, 下同



注: 超声功率密度 2.85 W/cm³, 超声温度 45 °C。



注: 超声功率密度 2.85 W/cm³, 超声时间 35 min。

图1 超声辅助 α -淀粉酶法提取条件对玉米醇溶蛋白中蛋白质含量的影响

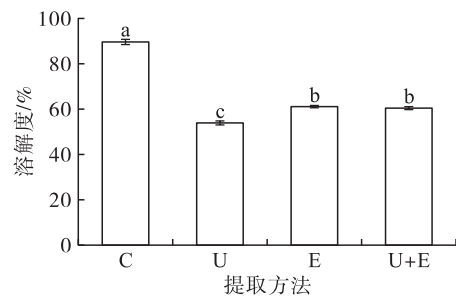
由图1可看出: 随着超声功率密度的提高, 玉米醇溶蛋白的蛋白质含量先增大后减小, 在 2.85 W/cm³ 时达到最大; 随着超声时间的延长, 玉米醇溶蛋白的蛋白质含量先增大, 35 min 后趋于稳定, 随超声时间的延长, 非均相体系混合更加均匀, 有利于 α -淀粉酶脱除淀粉进而提高蛋白质含量; 随超声温度的升

高, 玉米醇溶蛋白的蛋白质含量略有增加, 65 °C 时达到最高, 但实验发现 65 °C 会造成 α -淀粉酶失活, 经实验比选, 选择 45 °C 作为最佳的超声温度。因此, 选择超声功率密度 2.85 W/cm³、超声时间 35 min、超声温度 45 °C、酶添加量 0.9%、pH 6.0 作为超声辅助 α -淀粉酶法提取的工艺条件, 得到的玉米醇溶蛋白的蛋白质含量为 80.09%。

而单独超声波法和单独 α -淀粉酶法提取的玉米醇溶蛋白的蛋白质含量较低, 分别为 68.49% 和 76.37%。

2.3 提取方法对玉米醇溶蛋白功能特性的影响

2.3.1 溶解性(见图2)



注: C. 酶法; U. 超声波法; E. 酶法; U + E. 超声辅助 α -淀粉酶法。下同

图2 提取方法对玉米醇溶蛋白溶解性的影响

由图2可看出, 酶法玉米醇溶蛋白的溶解度为 89.73%, 显著高于其他3种提取方法。可能是由于超声波法、酶法和超声辅助 α -淀粉酶法提取得到的玉米醇溶蛋白中含有部分谷蛋白, 造成其在醇溶液中的溶解度较低。但是, 超声辅助 α -淀粉酶法玉米醇溶蛋白的溶解度显著高于超声波法。

2.3.2 持水/持油力(见图3)

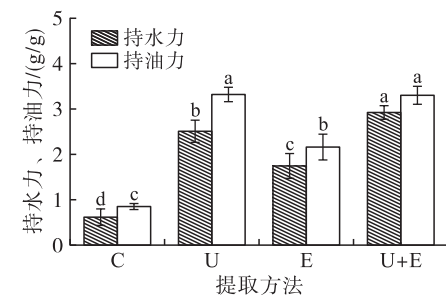


图3 提取方法对玉米醇溶蛋白持水/持油力的影响

由图3可看出, 超声辅助 α -淀粉酶法玉米醇

溶蛋白持水/持油力最高,显著高于醇法和酶法玉米醇溶蛋白。超声波作用下蛋白质粒径减小,组织疏松,比表面积增大,蛋白质的持水力增加;同时,蛋白质的分子结构更加舒展,埋藏在内部的疏水基团暴露,使蛋白质结合油脂的能力增强^[19]。超声波法玉米醇溶蛋白的持油力与超声辅助 α -淀粉酶法的无显著差异,但持水力显著低于后者,这可能与其中的蛋白质含量有关。

2.3.3 乳化性(见图4)

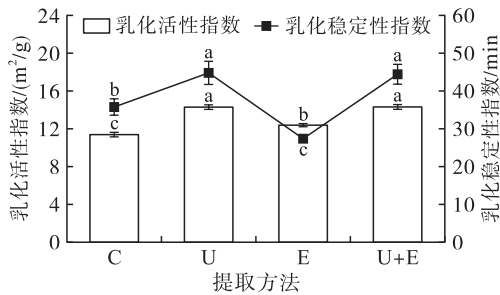


图4 提取方法对玉米醇溶蛋白乳化活性和乳化稳定性的影响

由图4可看出,酶法玉米醇溶蛋白的乳化活性指数为 $12.38 \text{ m}^2/\text{g}$,显著高于醇法玉米醇溶蛋白。Xia等^[20]研究表明添加淀粉酶预处理的米糠蛋白的乳化性能有所提高。相较于醇法和酶法,超声辅助 α -淀粉酶法和超声波法在显著改善玉米醇溶蛋白乳化活性的同时提高了其乳化稳定性。Sun等^[21]研究表明超声辅助提取能够改善花生分离蛋白的乳化特性,这与超声波引起的热、机械和化学效应有关。

2.4 提取方法对玉米醇溶蛋白粒径和相对分子质量的影响(见图5、图6)

由图5可看出:醇法玉米醇溶蛋白粒径为 $33.88 \mu\text{m}$;超声波法、酶法和超声辅助 α -淀粉酶法

玉米醇溶蛋白粒径分布有向小粒径迁移的趋势,三者的粒径分别为 14.00 、 25.21 、 $16.32 \mu\text{m}$ 。 α -淀粉酶可以破坏与蛋白质紧密结合的淀粉,有利于产物颗粒粒径的减小^[22]。超声波空化作用产生的瞬时高温、高压可打破团聚体的范德华力,从而减小蛋白质的粒径^[17]。

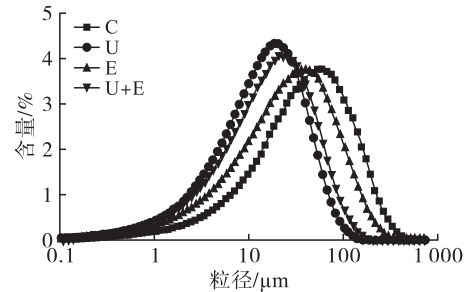


图5 提取方法对玉米醇溶蛋白粒径的影响

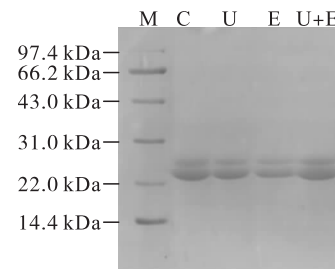


图6 不同方法提取的玉米醇溶蛋白的SDS-PAGE图

由图6可看出,不同方法提取的玉米醇溶蛋白均含有 24 kDa 和 27 kDa 两个主要条带,即 α -玉米醇溶蛋白。说明提取方法对玉米醇溶蛋白的相对分子质量影响不大。望运涛等^[23]研究也表明超声处理对鹰嘴豆分离蛋白的相对分子质量影响不显著。

2.5 提取方法对玉米醇溶蛋白结构的影响

2.5.1 二级结构(见表2)

表2 提取方法对玉米醇溶蛋白二级结构含量的影响

提取方法	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规卷曲
C	12.77 ± 0.03^a	24.27 ± 0.04^d	38.95 ± 0.06^a	12.54 ± 0.05^e
U	12.05 ± 0.03^d	28.83 ± 0.06^a	30.51 ± 0.07^d	13.03 ± 0.01^a
E	12.44 ± 0.02^b	26.68 ± 0.04^b	34.43 ± 0.09^c	12.64 ± 0.06^{bc}
U+E	12.34 ± 0.01^c	26.41 ± 0.02^c	35.02 ± 0.10^b	12.73 ± 0.05^b

注:表中同列数据不同小写字母表示差异显著。

由表2可看出,提取方法对玉米醇溶蛋白的二级结构存在一定的影响。其中,超声辅助 α -淀粉酶法和超声波法玉米醇溶蛋白 α -螺旋含量低于醇法和酶法。蛋白质分子 α -螺旋结构发生解螺旋现象,氢键断裂,导致蛋白质结构逐渐展开,使蛋白更易于分散在乳化界面中,从而提高了蛋白质的乳化活性^[24]。醇法玉米醇溶蛋白无规卷曲含量显著低

于超声辅助 α -淀粉酶法和超声波法。超声波法玉米醇溶蛋白 β -折叠含量和无规卷曲含量最高,但其 β -转角含量最低。

2.5.2 紫外吸收光谱(见图7)

由图7可看出,超声辅助 α -淀粉酶法玉米醇溶蛋白的紫外吸收强度低于超声波法,高于酶法,但三者均高于醇法玉米醇溶蛋白的紫外吸收强度。超

声波可以使玉米醇溶蛋白结构更加舒展,部分发色基团暴露于蛋白质分子表面^[4], α -淀粉酶破坏了蛋白质-淀粉团聚体的结构,释放出更多蛋白质的发色基团^[25]。

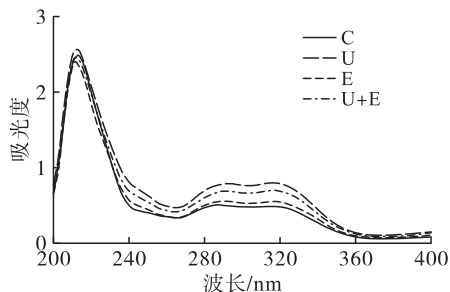


图7 提取方法对玉米醇溶蛋白紫外吸收光谱的影响

2.5.3 内源荧光光谱(见图8)

由图8可看出,酶法和超声辅助 α -淀粉酶法使玉米醇溶蛋白的最大吸收峰值从397 nm红移至401 nm,但红移的范围比超声波法小。表明芳香族氨基酸分子的侧链基团更加暴露,其所处的环境极性增加^[26]。同时,超声辅助 α -淀粉酶法与酶法提取相比荧光强度较大,这与紫外吸收强度的变化

(图7)是一致的。

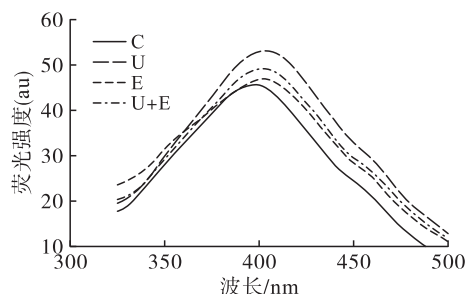


图8 提取方法对玉米醇溶蛋白荧光光谱的影响

2.5.4 微观结构(见图9)

由图9可看出,醇法玉米醇溶蛋白颗粒表面光滑,呈球状或聚集体形式存在,这与Zheng等^[17]的报道相一致。其他3种方法提取的玉米醇溶蛋白均呈不规则块状结构,其中,超声波法和超声辅助 α -淀粉酶法玉米醇溶蛋白颗粒破碎程度较大,这与粒径结果(图5)相一致,并且微观结构更加松散,表面出现一些孔洞,这是超声空化气泡破裂产生的冲击力造成的^[27]。

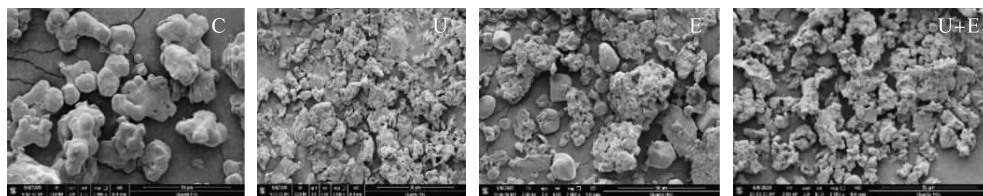


图9 提取方法对玉米醇溶蛋白微观结构的影响

2.5.5 巯基和二硫键含量(见图10)

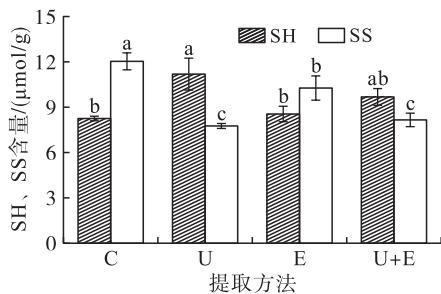


图10 提取方法对玉米醇溶蛋白巯基、二硫键含量的影响

由图10可看出,与醇法相比,超声辅助 α -淀粉酶法玉米醇溶蛋白的二硫键含量显著降低,超声波法的也具有相同的变化趋势,这是由于超声波引发的空化剪切力使蛋白质分子剧烈碰撞,分子间的二硫键被打破^[28],二硫键的断裂使蛋白质结构更加舒展,有利于淀粉的去除,提高蛋白质含量。同时,与酶法相比,超声辅助 α -淀粉酶法玉米醇溶蛋白二硫键含量也显著降低。与醇法相比,其他3种方法提取的玉米醇溶蛋白的巯基含量增大,且超声辅

助 α -淀粉酶法玉米醇溶蛋白的巯基含量介于超声波法和酶法玉米醇溶蛋白的之间。

3 结论

超声辅助 α -淀粉酶法在超声功率密度2.85 W/cm³、超声时间35 min、超声温度45℃、 α -淀粉酶添加量0.9%、酶解pH 6.0时,提取的玉米醇溶蛋白蛋白质含量最高,为80.09%,显著高于超声波法(68.49%)和酶法(76.37%)。通过分析不同方法提取的玉米醇溶蛋白功能特性和结构变化发现:与醇法相比,超声辅助 α -淀粉酶法、超声波法和 α -淀粉酶法玉米醇溶蛋白持水/持油力和乳化活性显著提高,溶解度和粒径减小;不同提取方法对玉米醇溶蛋白的相对分子质量影响不大;与醇法相比,超声辅助 α -淀粉酶法、超声波法和 α -淀粉酶法玉米醇溶蛋白二级结构更舒展,紫外吸收增强,内源荧光最大吸收峰发生红移,巯基含量升高,二硫键含量显著降低。

参考文献:

- [1] 陈双美. 玉米麸质水提取醇溶蛋白的技术研究[D]. 济南:齐鲁工业大学, 2018.

- [2] TANG N, ZHUANG H. Evaluation of antioxidant activities of zein protein fractions[J]. *J Food Sci*, 2014, 79(11): 2174 – 2184.
- [3] ARGOS P, PEDERSEN K, MARKS M D, et al. A structural model for maize zein proteins[J]. *J Biol Chem*, 1982, 257(17):9984 – 9990.
- [4] REN X F, ZHANG X, LIANG Q F, et al. Effects of different working modes of ultrasound on structural characteristics of zein and ACE inhibitory activity of hydrolysates[J]. *J Food Quality*, 2017(11):1 – 8.
- [5] 欧阳小艳. 玉米黄粉中醇溶蛋白的提取及成膜性能研究[D]. 武汉:湖北工业大学, 2015.
- [6] 耿军凤, 张丽芬, 陈复生, 等. 超声波辅助酶技术在食品蛋白质中的应用研究[J]. *食品工业*, 2019, 40(1): 237 – 242.
- [7] 于小帅, 刘亚伟, 刘洁. 超声波辅助淀粉提取分离工艺研究进展[J]. *食品科技*, 2020, 45(3):248 – 252.
- [8] 辛志宏, 吴守一, 马海乐, 等. α -淀粉酶法制备小麦胚芽蛋白的研究[J]. *食品科技*, 2003(6):11 – 13.
- [9] 杨桦. 超声波辅助酶法提取小米蛋白及复合小米蛋白粉的制备[D]. 长春:吉林农业大学, 2017.
- [10] 张雪莹, 郭超凡, 陶飞, 等. 不同热处理方式对玉米醇溶蛋白特性的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(13): 112 – 118.
- [11] BEUCHATL R. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein[J]. *J Agric Food Chem*, 1977, 25(2):258 – 261.
- [12] 曹威. 大麦醇溶蛋白的提取、性质及成膜研究[D]. 武汉:武汉轻工大学, 2015.
- [13] 王超跃. 以玉米黄粉为原料制备玉米蛋白和玉米黄素的研究[D]. 广州:华南理工大学, 2016.
- [14] 刘君. 玉米醇溶蛋白在醇水中的凝聚行为和性质研究[D]. 天津:天津科技大学, 2013.
- [15] DU M X, XIE J H, GONGB, et al. Extraction, physicochemical characteristics and functional properties of Mung bean protein[J]. *Food Hydrocol*, 2018, 76: 131 – 140.
- [16] XIONG T, XIONG W F, GE M T, et al. Effect of high intensity ultrasound on structure and foaming properties of pea protein isolate [J]. *Food Res Int*, 2018, 109: 260 – 267.
- [17] ZHENG X Q, LIU X L, YU S F, et al. Effects of extrusion and starch removal pretreatment on zein proteins extracted from corn gluten meal[J]. *Cereal Chem*, 2014, 91(5):496 – 501.
- [18] 罗明江, 罗春霞, 吴赣香. Ellman's 试剂比色法测定食品中蛋白质的巯基和二硫键[J]. *郑州粮食学院学报*, 1986(1):92 – 95.
- [19] WANG F, ZHANG Y Z, XU L, et al. An efficient ultrasound – assisted extraction method of pea protein and its effect on protein functional properties and biological activities[J/OL]. *LWT – Food Sci Technol*, 2020, 127: 109348[2020 – 10 – 09]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109348>.
- [20] XIA N, WANG J, YANG X, et al. Preparation and characterization of protein from heat – stabilized rice bran using hydrothermal cooking binding with amylase pretreatment[J]. *J Food Eng*, 2012, 110(1):95 – 101.
- [21] SUN X Y, ZHANG W, ZHANG L F, et al. Effect of ultrasound – assisted extraction on the structure and emulsifying properties of peanut protein isolate[J]. *J Sci Food Agric*, 2020, 101(3):1150 – 1160.
- [22] JAMBRAK A R, MASON T J, LELAS V, et al. Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins[J]. *J Food Eng*, 2014, 121:15 – 23.
- [23] 望运滔, 王营娟, 田金凤, 等. 高强度超声对鹰嘴豆分离蛋白结构和功能特性的影响[J]. *食品与机械*, 2020, 36(8):9 – 14,71.
- [24] 王晓琳, 朱力杰, 陈妍婕, 等. 不同干热处理对花生蛋白二级结构及乳化性的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(5):86 – 90.
- [25] YANG X, LI Y, LI S, et al. Effects of ultrasound – assisted α – amylase degradation treatment with multiple modes on the extraction of rice protein [J]. *Ultrason Sonochem*, 2017, 40:890 – 899.
- [26] 尹燕霞, 向本琼, 佟丽. 荧光光谱法在蛋白质研究中的应用[J]. *实验技术与管理*, 2010, 27(2):33 – 36.
- [27] JIN J, MA H, WANG K, et al. Effects of multi – frequency power ultrasound on the enzymolysis and structural characteristics of corn gluten meal[J]. *Ultrason Sonochem*, 2015, 24:55 – 64.
- [28] JIANG S, DING J, ANDRADE J, et al. Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH – shifting and ultrasound combined treatments [J]. *Ultrason Sonochem*, 2017, 38:835 – 842.