

pH 对玉米蛋白水解物功能特性的影响 及其抗氧化活性分析

李冠龙^{1,2}, 赵玉昊^{1,2}, 刘晓兰^{1,2}, 景言¹, 郑喜群^{2,3}

(1. 齐齐哈尔大学 食品与生物工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省玉米深加工理论与技术重点实验室, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 3. 黑龙江八一农垦大学 食品学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘要: 为了促进玉米蛋白的开发利用, 以玉米蛋白粉为原料, 通过酶法制备玉米蛋白水解物(CPT), 然后经超滤分级获得3个组分[CPT1(分子质量 > 5 kDa)、CPT2(分子质量 3 ~ 5 kDa)、CPT3(分子质量 < 3 kDa)], 测定了各组分的粗蛋白质含量、谷氨酰胺含量和氨基酸组成, 研究了 pH 对各组分功能特性的影响以及各组分的抗氧化活性。结果表明: 玉米蛋白水解物各组分粗蛋白质含量范围为 73.46% ~ 88.51%, 超滤分级后大部分含有谷氨酰胺的肽段存在于较小分子质量的组分中; CPT3 中总氨基酸含量最高, 为 71.83 g/100 g; 在 pH 2 ~ 9 的范围内, CPT 的溶解性最好, 当 pH 为 6 时, CPT、CPT2、CPT3 的溶解性最低, 当 pH 为 5 时, CPT1 的溶解性最低; 在 pH 5.0 ~ 7.0 的范围内, CPT1 在 pH 为 7.0 时有最大的乳化性和乳化稳定性, CPT2 和 CPT3 在 pH 为 6.2 时有最大的泡沫稳定性, CPT3 在 pH 为 5.6 时有最大的起泡性。与 CPT 相比, 超滤分级后各组分的抗氧化活性有所提高, CPT、CPT1、CPT2 和 CPT3 的羟自由基清除能力 IC_{50} 分别为 2.14、1.47、0.98 mg/mL 和 0.77 mg/mL (以蛋白质计), 亚铁离子螯合能力 IC_{50} 分别为 2.05、1.01、1.33 mg/mL 和 1.16 mg/mL (以蛋白质计)。综上, pH 对不同分子质量玉米蛋白水解物组分的功能特性的影响存在差异, 其功能特性和分子质量分布有密切关系, 今后可根据实际需求选择适合的组分应用于食品加工中。

关键词: 玉米蛋白粉; 玉米蛋白水解物; 超滤分级; 功能特性; 抗氧化活性

中图分类号: TS201.2; TS229 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2025)05-0020-08

Effect of pH on functional properties of corn protein hydrolysates and its antioxidant activity analysis

LI Guanlong^{1,2}, ZHAO Yuhao^{1,2}, LIU Xiaolan^{1,2}, JING Yan¹, ZHENG Xiqun^{2,3}

(1. College of Food and Bioengineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China;

2. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Corn Deep Processing Theory and Technology,

Qiqihar 161006, Heilongjiang, China; 3. College of Food, Heilongjiang Bayi Agricultural

University, Daqing 163319, Heilongjiang, China)

收稿日期: 2023-10-14; 修回日期: 2024-10-19

基金项目: 中央支持地方高校改革发展资金高水平人才项目(2020GSP08); 新时代龙江优秀博士论文立项资助项目(LJYXL-2023023); 黑龙江省自然科学基金项目(PL2024C039); 黑龙江省省属本科高校优秀青年教师基础研究支持计划(YQJH2024271)

作者简介: 李冠龙(1995), 男, 讲师, 博士, 研究方向为食品科学(E-mail) liguanlong03@163.com; 赵玉昊(1997), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工(E-mail) 924925539@qq.com。李冠龙和赵玉昊为共同第一作者。

通信作者: 刘晓兰, 教授, 博士(E-mail) Liuxiaolan001@126.com。

Abstract: In order to promote the development and utilization of corn protein, the corn protein hydrolysates (CPT) were prepared by enzymatic method with corn protein powder as raw material, and then three components, CPT1 (molecular weight > 5 kDa), CPT2 (molecular weight 3 - 5 kDa), and CPT3 (molecular weight < 3 kDa) were obtained by ultrafiltration grading. The contents of crude protein, glutamine, and amino acid composition of each component were

determined, and the effect of pH on the functional properties and antioxidant activity of each component were studied. The results showed that the crude protein content of each component ranged from 73.46% to 88.51%. Most of the glutamine-containing peptides after ultrafiltration grading were present in the smaller molecular weight fractions. CPT3 had the highest total amino acid content of 71.83 g/100 g. CPT had the best solubility in the range of pH 2–9. When the pH was 6, the solubility of CPT, CPT2 and CPT3 was the lowest, and when the pH was 5, the solubility of CPT1 was the lowest. In the range of pH 5.0–7.0, CPT1 had the maximum emulsification and emulsion stability at pH 7.0, CPT2 and CPT3 had the maximum foam stability at pH 6.2, and CPT3 had the maximum foaming property at pH 5.6. Compared with CPT, the antioxidant activity of each component after ultrafiltration grading was improved. The IC_{50} values of hydroxyl radical scavenging ability of CPT, CPT1, CPT2 and CPT3 were 2.14, 1.47, 0.98 mg/mL and 0.77 mg/mL (based on protein), and the IC_{50} values of ferrous ion chelating ability were 2.05, 1.01, 1.33 mg/mL and 1.16 mg/mL (based on protein), respectively. In conclusion, the effects of pH on the functional properties of different molecular weight corn protein hydrolysates components were different, and their functional properties were closely related to molecular weight distribution. In the future, suitable components can be selected for food processing according to actual needs.

Key words: corn protein powder; corn protein hydrolysates; ultrafiltration grading; functional property; antioxidant activity

玉米是我国第一大粮食作物,在粮食生产中占有重要地位。玉米蛋白粉是湿法生产玉米淀粉过程中的主要副产物,其含有丰富的蛋白质^[1]。玉米蛋白富含谷氨酰胺,其含量约占玉米谷蛋白中总氨基酸含量的 1/3^[2]。谷氨酰胺在生物体代谢过程中能够提高机体的抗氧化能力,促进大分子物质的合成,增强机体的免疫功能^[3]。但谷氨酰胺单体具有溶解性差、易分解、稳定性差等缺点,限制了其应用^[4]。谷氨酰胺肽是指通过水解富含谷氨酰胺的蛋白质获得的生物活性肽,其不仅保留了谷氨酰胺本身的生物学功能,还可以克服谷氨酰胺单体的缺点。谷氨酰胺肽作为谷氨酰胺的稳定化替代品,具有吸收性好、致敏性低、稳定性强等优点。因此,谷氨酰胺肽是一种具有广泛应用前景和开发潜力的生物活性肽,而玉米蛋白因其较高的谷氨酰胺含量,是制备谷氨酰胺肽的优质蛋白质原料。

目前有关谷氨酰胺肽的功能特性及抗氧化活性方面的研究较多,如孟丹阳等^[5]对小麦面筋蛋白在连续酶解过程中的水解度、有效谷氨酰胺含量以及起泡性、乳化性等功能性质的变化规律进行了研究,结果表明,随着水解度的增加,水解物中有效谷氨酰胺含量小幅度降低,其起泡能力、泡沫稳定性、乳化活力、乳化稳定性在水解度为 2.21%~15.13% 范围内皆先升高后降低。许瑞雪等^[6]以玉米蛋白粉为原料提取玉米谷蛋白,再利用蛋白酶进行酶解制备富含谷氨酰胺的水解物,结果表明,水解物的羟自

由基清除率达到 29.50%。任娇艳等^[7]以乳清蛋白、大米蛋白和小麦蛋白为原料,通过不同蛋白酶水解制备富含谷氨酰胺的多肽,并测定其抗氧化活性,结果表明,中性蛋白酶酶解乳清蛋白制备的谷氨酰胺肽的抗氧化活性较好,其羟自由基清除率为 37.65%。对谷氨酰胺肽的功能特性和抗氧化活性进行研究,才能充分利用谷氨酰胺肽,拓宽其应用领域。

蛋白酶酶解玉米蛋白的产物玉米蛋白水解物中,含有多肽、小肽和小分子氨基酸等物质。谷氨酰胺肽的功能特性不仅与蛋白质的氨基酸组成、分子质量大小有关,也与所处环境的 pH 有关。此外,在食品加工过程中,依据食品的特性,不同食品间的 pH 具有一定差异。因此,本研究通过酶法水解玉米蛋白粉制备玉米蛋白水解物,通过超滤分级获得不同分子质量的玉米蛋白水解物组分,探究不同 pH 条件下各玉米蛋白水解物组分的功能特性及各组分的抗氧化活性,以期对玉米蛋白水解物在食品工业中的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

玉米蛋白粉(蛋白质含量 60.1%),齐齐哈尔龙江阜丰生物科技有限公司;复合蛋白酶(3.72×10^4 U/g)、胰蛋白酶(2.5×10^5 U/g),丹麦诺维信公司;DPPH, Biotopped 公司;其他试剂均为市售分析纯。

PB-10 pH 计,北京赛多利斯仪器有限公司;LD-53 真空冷冻干燥机、S10 生物传感器分析仪,

深圳西尔曼科技有限公司;全波长多功能酶标仪,美国 PerkinElmer 公司;T-25 均质机,北京中科汇仪科技有限公司;杜马斯燃烧仪,意大利 Velp 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 玉米蛋白粉的预处理

参考课题组前期建立的方法^[8]对玉米蛋白粉进行挤压膨化和去淀粉预处理。

1.2.2 玉米蛋白的酶解

参考文献^[9]称取一定质量预处理后的玉米蛋白粉配制成质量分数 10% 的悬浊液,使用 1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 至 7.0,预热至 55 °C,然后按加酶量 1 300 U/g(以蛋白质质量计)加入复合蛋白酶,酶解 2.5 h;反应结束后降温至 45 °C,使用 1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 至 8.0,然后按加酶量 450 U/g(以蛋白质质量计)添加胰蛋白酶,酶解 3.0 h,反应过程中始终使用 0.5 mol/L NaOH 溶液维持反应体系的 pH 恒定。反应结束后,将酶解液置于沸水中灭酶 10 min,然后在 4 500 r/min 条件下离心 15 min,取上清液,冷冻干燥,即得到玉米蛋白水解物(CPT)。

1.2.3 玉米蛋白水解物的超滤分级

采用截留分子量 3 kDa 和 5 kDa 的超滤膜对 CPT 进行超滤分级,获得大于 5 kDa、3 ~ 5 kDa 和小于 3 kDa 3 种不同分子量分布的玉米蛋白水解物组分,分别命名为 CPT1、CPT2 和 CPT3。将 3 个组分进行冷冻干燥,备用。

1.2.4 粗蛋白质含量的测定

采用杜马斯燃烧法^[10]测定 CPT 及其超滤分级组分的粗蛋白质含量,蛋白质换算系数为 6.25。各超滤分级组分的蛋白质质量与 CPT 的蛋白质质量比即为蛋白质回收率。

1.2.5 谷氨酰胺含量的测定

参考文献^[11],采用 BTI 保护法测定 CPT 及其超滤分级组分的谷氨酰胺含量。

1.2.6 氨基酸组成的测定

利用全自动氨基酸分析仪对 CPT 及其超滤分级组分的氨基酸组成进行测定。

1.2.7 功能特性的测定

参考文献^[12]的方法测定 CPT 及其超滤分级组分在不同 pH 下的溶解性;参考文献^[13]的方法测定 CPT 及其超滤分级组分在不同 pH 下的起泡性和泡沫稳定性;参考文献^[14]测定 CPT 及其超滤分级组分在不同 pH 下的乳化性和乳化稳定性。

1.2.8 抗氧化活性的测定

参考文献^[15]的方法测定 CPT 及其超滤分级组分的羟自由基清除能力;参考文献^[16]的方法测定 CPT 及其超滤分级组分的亚铁离子螯合能力。

1.2.9 数据处理

所有实验至少重复 3 次,结果以“平均值 ± 标准差”表示,用 Origin 2021 软件作图,使用 SPSS 21.0 软件进行数据显著性分析及半抑制浓度(IC₅₀)计算。

2 结果与讨论

2.1 玉米蛋白水解物组分的粗蛋白质、谷氨酰胺含量

对玉米蛋白水解物组分的粗蛋白质含量、谷氨酰胺含量、蛋白质回收率进行测定,结果如表 1 所示。

表 1 玉米蛋白水解物组分的粗蛋白质含量、谷氨酰胺含量、蛋白质回收率

Table 1 The crude protein content, glutamine content and protein recovery rate of corn

组分	protein hydrolysates			%
	粗蛋白质含量	谷氨酰胺含量	蛋白质回收率	
CPT	79.41 ± 0.39 ^c	9.87 ± 0.11 ^a		
CPT1	73.46 ± 0.31 ^d	3.40 ± 0.18 ^d	8.57 ± 0.12 ^c	
CPT2	86.56 ± 0.13 ^b	9.08 ± 0.11 ^b	25.09 ± 0.16 ^b	
CPT3	88.51 ± 0.22 ^a	8.64 ± 0.15 ^c	30.41 ± 0.16 ^a	

注:同列不同字母表示具有显著差异($p < 0.05$)

Note: Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$)

从表 1 可以看出,各组分粗蛋白质含量范围为 73.46% ~ 88.51%,超滤分级后 CPT1、CPT2、CPT3 的蛋白质回收率分别为 8.57%、25.09%、30.41%,蛋白质总回收率为 64.07%,其原因可能是在超滤过程中,由于膜的浓差极化现象,在膜上吸附了部分蛋白质,造成了蛋白质的损失。同时,CPT2 和 CPT3 的蛋白质回收率合计为 55.50%,约占蛋白质总回收率的 87%,表明在富含谷氨酰胺的玉米蛋白水解物中,大多数多肽的分子量不大于 5 kDa。在各级超滤组分中,CPT2 中谷氨酰胺含量最高,达到 9.08%,其次是 CPT3(8.64%),表明大部分含有谷氨酰胺的肽段存在于较小分子质量的组分中。景言等^[17]以玉米蛋白粉为原料,采用碱性蛋白酶制备玉米蛋白水解物,在最适酶解条件下水解物中谷氨酰胺含量达到 8.79%,低于本研究制备的玉米蛋白水解物中谷氨酰胺的含量(9.87%)。

2.2 玉米蛋白水解物组分的氨基酸组成

对玉米蛋白水解物组分的氨基酸组成进行测定,结果如表 2 所示。

表 2 玉米蛋白水解物组分的氨基酸组成

氨基酸	hydrolysates g/100 g			
	CPT	CPT1	CPT2	CPT3
天冬氨酸 Asp	3.49	3.45	4.59	4.06
苏氨酸 Thr *	2.09	1.97	2.56	2.49
丝氨酸 Ser	3.04	2.89	3.88	3.53
谷氨酸 Glu	14.72	12.04	16.31	17.25
甘氨酸 Gly	1.57	1.62	1.89	1.71
丙氨酸 Ala	5.37	3.93	5.77	6.23
半胱氨酸 Cys	0.32	0.13	0.09	0.26
缬氨酸 Val *	2.74	2.51	3.19	3.19
蛋氨酸 Met *	1.19	0.79	1.76	1.26
异亮氨酸 Ile *	2.49	2.15	2.92	2.97
亮氨酸 Leu *	10.79	7.70	11.21	12.79
酪氨酸 Tyr	3.08	1.79	2.66	2.75
苯丙氨酸 Phe *	3.72	2.67	3.65	4.01
赖氨酸 Lys *	0.85	1.01	1.13	1.02
组氨酸 His	1.09	1.59	1.49	1.28
精氨酸 Arg	1.82	1.38	1.53	1.53
脯氨酸 Pro	4.93	4.97	5.31	5.50
总氨基酸	63.30	52.59	69.94	71.83
必需氨基酸	23.87	18.80	26.42	27.73
非必需氨基酸	39.43	33.79	43.52	44.10

注: * 表示必需氨基酸

Note: * . Essential amino acid

从表 2 可以看出,CPT、CPT1、CPT2、CPT3 的总氨基酸含量分别为 63.30、52.59、69.94、71.83 g/100 g,除 CPT1 外,其他组分的总氨基酸含量相比 CPT 的总氨基酸含量均有不同程度的提高,其中 CPT3 提高了 13.48%,是 3 个超滤组分中提高最多的。这是由于酶解过程中蛋白质的肽键被酶水解断裂,一些原本被包裹在蛋白质内部的氨基酸(如谷氨酰胺和亮氨酸)被暴露出来,这些化合物的分子量通常比较小,在超滤后可以进入到小分子量组分中,因此 CPT3 的总氨基酸含量较高。而且与 CPT 相比,CPT2 和 CPT3 中大部分氨基酸的含量都有所提升,其中谷氨酸含量明显增加,且谷氨酸含量也最高。在氨基酸检测分析过程中,谷氨酰胺需要先被水解成谷氨酸才能进行测定,因此可以通过谷氨酸的含量来估算样品中谷氨酰胺的含量,表明 CPT2 和 CPT3 中谷氨酰胺含量较高。与 CPT 相比,

CPT2 和 CPT3 的必需氨基酸含量增加,其中 CPT3 的必需氨基酸含量最高,为 27.73%,表明超滤分级后 CPT2 和 CPT3 的营养价值有所提高。此外,各组分中疏水性氨基酸含量较高,Nakamura 等^[18]研究发现,疏水性氨基酸含量与多肽的生物活性有很大关系,综合本实验结果,表明 CPT2 和 CPT3 组分可能有更好的生物活性。

2.3 pH 对玉米蛋白水解物组分功能特性的影响

2.3.1 溶解性

溶解性是加工特性中最重要的指标,蛋白质的高溶解性是其其他功能特性得以发挥的先决条件,良好的溶解性可以明显增加蛋白质的潜在功能。玉米蛋白水解物组分的溶解性如图 1 所示。

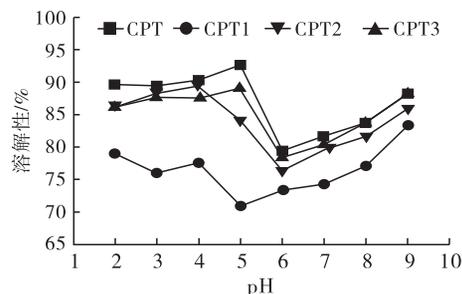


图 1 玉米蛋白水解物组分的溶解性

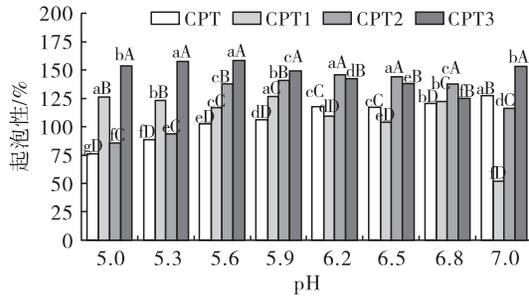
Fig. 1 Solubility of corn protein hydrolysates

由图 1 可以看出,相比 CPT1、CPT2、CPT3,在 pH 2~9 的范围内,CPT 的溶解性最好,这是因为在酶解过程中玉米蛋白被水解为小分子的多肽,其中 $-\text{NH}_3^+$ 、 $-\text{COO}^-$ 等一些离子化的基团增多,分子表面的电荷增多,因此 CPT 在水中具有较好的溶解性。超滤分级后各组分的分子量分布发生了变化,在 pH 2~9 范围内,CPT1、CPT2 和 CPT3 的溶解性均大于 70%,表明不同分子量分布的各组分同样具有较好的溶解性。当 pH 为 6 时,CPT、CPT2、CPT3 的溶解性均最低,当 pH 为 5 时,CPT1 的溶解性最低,原因是多肽分子在其等电点时所带的净电荷为零,此时分子极性降低,分子间的静电排斥作用减弱,疏水性增强,容易引起多肽聚合沉淀,产生溶解性降低的现象。马雪等^[19]研究了 pH 对提纯后玉米蛋白溶解性的影响,其研究结果与本实验研究结果一致。高溶解性的产品在食品工业中的应用较广,例如谷物类饮料的 pH 通常在 6.5~8.0 之间,具有良好溶解性的玉米活性肽可以作为食品添加剂添加到谷物类饮料中。

考虑大多数食品的 pH 范围,后续研究 pH 在 5~7 时玉米蛋白水解物组分的加工特性,以期将其更好地应用到食品加工中。

2.3.2 起泡性和泡沫稳定性

不同 pH 条件下玉米蛋白水解物组分的起泡性如图 2 所示。



注:不同大写字母表示组内差异显著($p < 0.05$);不同小写字母表示组间差异显著($p < 0.05$)。下同

Note: Different capital letters indicate significant differences within groups ($p < 0.05$). Different lowercase letters indicate significant differences between groups ($p < 0.05$). The same below

图 2 pH 对玉米蛋白水解物组分起泡性的影响

Fig. 2 Effect of pH on foaming property of corn protein hydrolysates

由图 2 可以看出,在 pH 5.0~7.0 的范围内,各组分起泡性呈现不同的变化趋势。当 pH 为 5.9~6.8 时,CPT3 的起泡性呈现下降趋势,当 pH 为 6.2~7.0 时,CPT2 的起泡性呈现下降趋势,在 pH 小于 5.9 时 CPT3 的起泡性较好,其中 pH 为 5.6 时,CPT3 的起泡性最大,为 158.03%。与 CPT1 相比,CPT2 和 CPT3 的起泡性总体升高,孙英^[12]对茶籽饼粕多肽组分的起泡性进行研究,发现分子量较小的组分具有较好的起泡能力,与本实验研究结果相似。

泡沫稳定性是指通过形成气-液界面的保护膜促使泡沫能够稳定存在的能力,不同 pH 条件下玉米蛋白水解物组分的泡沫稳定性如图 3 所示。

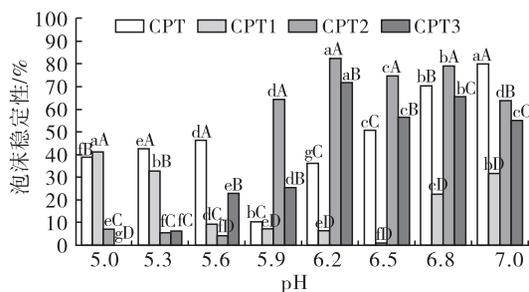


图 3 pH 对玉米蛋白水解物组分泡沫稳定性的影响

Fig. 3 Effect of pH on foam stability of corn protein hydrolysates

由图 3 可以看出:当 pH 在 6.2~7.0 时,CPT、CPT2、CPT3 的泡沫稳定性均较高,在 pH 为 6.2 时,CPT2 和 CPT3 的泡沫稳定性达到最大值,分别为

82.66% 和 71.87%,在 pH 为 7.0 时,CPT 的泡沫稳定性达到最大值,为 79.90%;当 pH 为 5.0 时,CPT1 的泡沫稳定性最大,为 41.29%,这与液膜的强度有关,当 pH 在等电点附近时,蛋白质分子间缺少了净电荷和静电排斥作用,沉积在气-液界面形成高黏性的蛋白膜,增加泡沫稳定性。相比 CPT 和 CPT2,当 pH 在 5.9~7.0 时 CPT1 和 CPT3 的泡沫稳定性较低,这是因为 CPT1 的溶解性低,溶液黏度小,液膜强度小,所以泡沫不能处在稳定状态;而 CPT3 分子质量较小,短肽含量较高,导致液膜非常脆弱,无法包裹气泡,不利于泡沫的稳定。祝婧等^[20]对不同分子质量海鲈鱼胶原蛋白肽的泡沫稳定性进行研究,其结果与本研究结果一致。

2.3.3 乳化性和乳化稳定性

乳化性是指蛋白质和油、水作用形成乳浊液的能力。不同 pH 条件下玉米蛋白水解物组分的乳化性如图 4 所示。

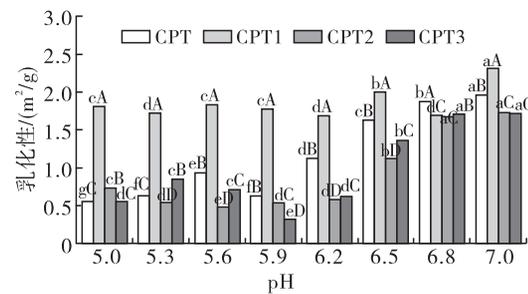


图 4 pH 对玉米蛋白水解物组分乳化性的影响

Fig. 4 Effect of pH on emulsification of corn protein hydrolysates

由图 4 可以看出,当 pH 在 5.0~7.0 的范围内,各玉米蛋白水解物组分在酸性条件下的乳化性总体较小,当 pH 为 5.9 时,CPT、CPT2、CPT3 的乳化性较低。这是因为在 pH 为 6 时,CPT、CPT2、CPT3 组分的溶解性最小,此时乳液分子之间的排斥作用减弱,蛋白质分子容易聚集沉淀,抑制了蛋白质解折叠或在界面吸附的能力,阻碍乳浊液的形成,因此乳化性较低。当 pH 大于 5.9 时,各组分乳化性较高,这是因为当溶液 pH 大于等电点时,玉米蛋白水解物组分呈现负电荷状态,分子间静电斥力增加,蛋白液膜增厚,更有利于形成“水包油”的状态,增加组分的乳化能力。各组分中 CPT1 的乳化性较高,其在 pH 为 7.0 时达到最大,为 2.31 m²/g,原因是 CPT1 的肽链较长,多肽分子在水中会进一步伸展折叠,原先包含在分子内部的疏水基因也暴露出来,增强了亲油性,乳化性提高;CPT2 和 CPT3 乳化性较低,原因是其分子质量小,虽然能够快速在溶液中扩

散和吸附到界面上,但是小分子肽在界面不能折叠,不利于降低界面张力,因此乳化能力较低。朱浩嘉^[13]酶解花生蛋白制备高抗氧化肽,采用超滤技术将水解物分成3个组分,其中分子质量最大的组分乳化性最好,与本研究结果一致。

乳化稳定性是保持乳浊液状态的能力,不同pH条件下玉米蛋白水解物组分的乳化稳定性如图5所示。

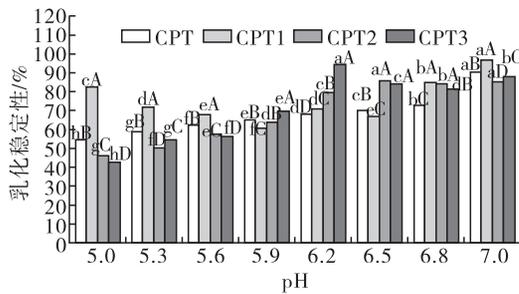


图5 pH对玉米蛋白水解物组分乳化稳定性的影响

Fig. 5 Effect of pH on emulsification stability of corn protein hydrolysates

由图5可以看出,在pH 5.0~7.0的条件下,CPT、CPT2和CPT3乳化稳定性总体呈现上升趋势,CPT1乳化稳定性呈现先下降后上升的趋势。在pH接近7.0时,各组分的乳化稳定性提高,其中在pH为7.0时CPT1乳化稳定性最大,为96.76%,这是因为随着pH的增加,CPT1表面的负电荷增多,多肽间的排斥作用增大,蛋白质分子的水化层厚度增加,形成较稳定的乳状液,使得其乳化稳定性增加。高盼等^[21]通过酶解制备核桃多肽,测定核桃多肽在不同pH条件下的乳化稳定性,其研究结果与本研究一致。

2.4 玉米蛋白水解物组分的抗氧化活性

2.4.1 羟自由基清除能力

不同质量浓度玉米蛋白水解物组分的羟自由基清除能力如图6所示。

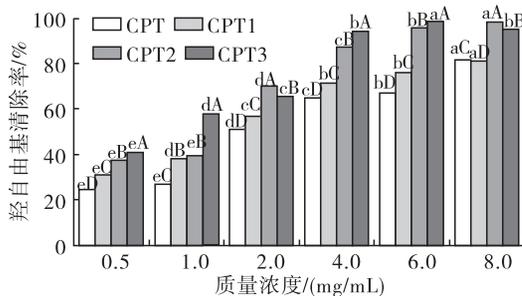


图6 玉米蛋白水解物组分的羟自由基清除率

Fig. 6 Hydroxyl radical scavenging rate of corn protein hydrolysates

由图6可以看出,当样品质量浓度在0.5~8.0 mg/mL(以蛋白质计)范围内,随着质量浓度的升

高,各组分抗氧化活性总体呈现逐渐上升的趋势。在各组分中,CPT3表现出较好的抗氧化活性,在样品质量浓度为1.0 mg/mL时,CPT3的羟自由基清除率超过50%,当样品质量浓度为6.0 mg/mL时,CPT3的羟自由基清除率达到最大值。随着样品质量浓度的增加,酶解物中提供质子的供体增加,反应中更多的羟自由基从高度氧化状态还原成更稳定的羟基化衍生物,更有利于抑制自由基的链式反应,表现出抗氧化能力。在本实验中,各组分均对羟自由基起到清除作用,结合2.2实验结果,各组分中含有丰富的Ala、Pro和Glu,这些氨基酸均可以对羟自由基产生清除作用,其中CPT3中这3种氨基酸含量最高,这可能是CPT3表现出最好的羟自由基清除能力的原因。

计算玉米蛋白水解物组分羟自由基清除率的 IC_{50} ,结果如表3所示。

表3 玉米蛋白水解物组分羟自由基清除率的 IC_{50}

Table 3 IC_{50} of hydroxyl radical scavenging rate of corn protein hydrolysates

组分	$IC_{50}/(mg/mL)$
CPT	2.14
CPT1	1.47
CPT2	0.98
CPT3	0.77

由表3可以看出,分级后各组分 IC_{50} 均小于CPT,表明分级处理有助于提高玉米蛋白水解物的羟自由基清除能力。Yu等^[22]通过碱性蛋白酶水解制备玉米蛋白水解物,通过超滤分级获得不同组分的样品,对所得组分进行羟基自由基清除能力的测定,发现其分子质量在3~5 kDa范围的水解物组分有较强的羟自由基清除能力,与本实验结果不同,原因可能是实验所用的蛋白酶不同,水解物中氨基酸组成与肽段数量有所差别,导致对羟自由基的清除能力有所不同。

2.4.2 亚铁离子螯合能力

测定玉米蛋白水解物组分的亚铁离子螯合能力可以评估其对氧化应激的保护作用^[23]。不同质量浓度玉米蛋白水解物组分的亚铁离子螯合能力如图7所示。

由图7可以看出,当样品质量浓度在0.5~8.0 mg/mL范围内(以蛋白质计),各组分的亚铁离子(Fe^{2+})螯合能力随样品质量浓度的升高总体呈上升趋势。在样品质量浓度为1.0 mg/mL时,除CPT外,其他组分的 Fe^{2+} 螯合能力均大于50%,表现出较好的抗氧化活性,在样品质量浓度为4.0 mg/mL

时各组分的 Fe^{2+} 螯合能力接近 90%。玉米蛋白水解物的 Fe^{2+} 螯合能力与其氨基酸组成密切相关,其中酸性氨基酸 Glu 和 Asp 因其侧链羧基具有螯合金属离子(Fe^{2+} 或 Cu^{2+})的能力,能够减少自由基链式反应,影响其抗氧化活性^[24]。结合 2.2 实验结果,各组分中 Glu 和 Asp 的含量较高,其多肽容易形成类似聚脯氨酸的螺旋结构,为各组分对金属离子的螯合能力提供了良好的基础。

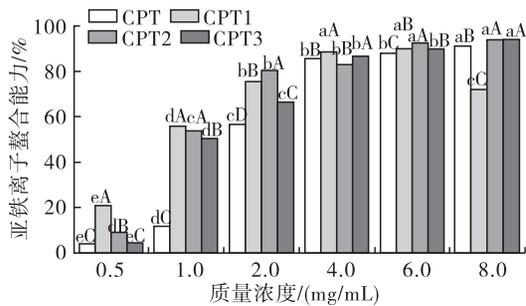


图 7 玉米蛋白水解物组分的亚铁离子螯合能力

Fig.7 Fe^{2+} chelating ability of corn protein hydrolysates

计算玉米蛋白水解物组分亚铁离子螯合能力的 IC_{50} , 结果如表 4 所示。

表 4 玉米蛋白水解物组分亚铁离子螯合能力的 IC_{50}

Table 4 IC_{50} of Fe^{2+} chelating ability of corn protein hydrolysates

组分	$\text{IC}_{50}/(\text{mg/mL})$
CPT	2.05
CPT1	1.01
CPT2	1.33
CPT3	1.16

由表 4 可以发现, CPT1 表现出较好的 Fe^{2+} 螯合能力。有研究发现, 螯合能力的差异可能是由于各组分的组成差异所致, Hofmann^[25] 发现金属离子螯合能力主要与组分中的大分子物质相关, Eiserich 等^[26] 认为杂环化合物具有很强的铁离子螯合能力。在本实验中, 超滤分级后各组分的分子质量分布不同, CPT1 分子质量大, 其含有更多大分子物质和杂环化合物, 可以更好地螯合金属离子。

3 结论

本文将玉米蛋白水解物超滤分级后获得 3 种多肽组分, 对水解物及各超滤组分的粗蛋白质含量、谷氨酰胺含量和氨基酸组成进行测定, 并对不同 pH 条件下各组分的功能特性和抗氧化活性进行研究。结果表明: 各组分粗蛋白质含量范围为 73.46% ~ 88.51%; 超滤分级后大部分含有谷氨酰胺的肽段存在于较小分子质量的组分中, CPT3 中总氨基酸含量最高, 为 71.83 g/100 g; 各组分中 CPT 有最好的溶

解性, 当 pH 在 5.0 ~ 7.0 范围内, CPT2 和 CPT3 在 pH 为 6.2 时有最大的泡沫稳定性, CPT1 在 pH 为 7.0 时有最大的乳化性和乳化稳定性, CPT3 在 pH 为 5.6 时有最大的起泡性; 各组分具有不同的抗氧化活性, 其中 CPT3 的羟自由基清除能力最好, 其 IC_{50} 为 0.77 mg/mL, CPT1 的亚铁离子螯合能力最好, 其 IC_{50} 为 1.01 mg/mL。综上, 超滤分级后各组分的功能特性有所改变, 并且抗氧化活性有所提高, 可以根据实际需求选择适合的组分应用于食品加工中。

参考文献:

- [1] LIANG Q, REN X, CHALAMAIH M, et al. Simulated gastrointestinal digests of corn protein hydrolysate alleviate inflammation in caco-2 cells and a mouse model of colitis[J]. J Food Sci Technol, 2020, 57(6): 2079-2088.
- [2] 徐艳艳. 玉米黄粉中蛋白质的提取和性质研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2012.
- [3] 邱建磊. 谷氨酰胺对机械通气肺损伤的保护作用及机制[D]. 济南: 山东大学, 2018.
- [4] 任国谱, 谷文英. 谷氨酰胺活性肽营养液对大鼠小肠营养作用的研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2003, 25(4): 40-42.
- [5] 孟丹阳, 赵伟, 杨瑞金, 等. 小麦面筋蛋白酶解过程中功能性质的变化规律研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(5): 115-119.
- [6] 许瑞雪, 刘晓兰, 王俊彤, 等. 体外消化对玉米谷蛋白酶解物抗氧化活性的影响[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(16): 1-5.
- [7] 任娇艳, 林晓玲, 岑月妍, 等. 富含谷氨酰胺多肽的制备及其体外模拟消化[J]. 中国食品学报, 2020, 20(8): 107-117.
- [8] 郑喜群, 刘晓兰, 王晓杰, 等. 挤压膨化玉米黄粉酶解制备生物活性肽[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(8): 1-3.
- [9] 崔宁, 刘晓兰, 李冠龙, 等. 玉米谷蛋白水解物对乙醇诱导损伤 LO2 细胞的保护作用[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(6): 52-57.
- [10] 霍丽娜. 杜马斯燃烧法和凯氏定氮法测定奶粉和粮食中氮及蛋白质含量研究分析[J]. 福建分析测试, 2021, 30(6): 38-42.
- [11] 陈思思. 谷氨酰胺肽的制备及其性质的研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2014.
- [12] 孙英. 茶籽饼粕多肽的制备、纯化及抗氧化活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- [13] 朱浩嘉. 花生蛋白高抗氧化肽制备及其理化性质分析[D]. 长春: 吉林农业大学, 2020.

(下转第 33 页)

- [14] ZHANG M J, XING L J, WANG Y, et al. Anti - fatigue activities of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murry [J/OL]. Food Sci Technol, 2022, 42: E242703[2024 - 04 - 15]. <https://doi.org/10.1590/fst.242703>.
- [15] WANG X J, LIU X L, ZHENG X Q, et al. Antagonistic effect of the glycopeptide from zein on acute alcohol - induced liver injury in mice [J/OL]. J Funct Foods, 2022, 92: 105062[2024 - 04 - 15]. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105062>.
- [16] XU X, DING Y, YANG Y, et al. β - Glucan salectin improves exercise performance and displays anti - fatigue effects through regulating energy metabolism and oxidative stress in mice[J/OL]. Nutrients, 2018, 10(7): E858[2024 - 04 - 15]. <https://doi.org/10.3390/nu10070858>.
- [17] KAN N W, HO C S, CHIU Y S, et al. Effects of resveratrol supplementation and exercise training on exercise performance in middle - aged mice [J/OL]. Molecules, 2016, 21 (5) : E661 [2024 - 04 - 15]. <https://doi.org/10.3390/molecules21050661>.
- [18] FENG Z, WEI Y, XU Y, et al. The anti - fatigue activity of corn peptides and their effect on gut bacteria[J]. J Sci Food Agric, 2022, 102(8): 3456 - 3466.
- [19] 王晓杰, 姜宇航, 曲悦, 等. 壳寡糖糖基化修饰玉米肽的抗疲劳效应[J]. 中国油脂, 2021, 46(8): 39 - 44.
- [20] 夏春荣, 王晓杰, 姜宇航, 等. D - 氨基半乳糖糖基化修饰玉米肽抗疲劳效应的研究[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(5): 62 - 67.
- [21] ZHANG W W, DUAN J C, JI C Y, et al. Preparation and anti - fatigue effects of *Vicatia thibetica* polysaccharide[J]. Pharmacogn Mag, 2022, 18 (77) : 133 - 142.
- [22] XU T C, SUN N X, LIU Y H, et al. Preparation of oligopeptides from corn gluten meal by two enzymes at one step using response surface methodology and investigation of their anti - fatigue activities[J]. Biomed Res, 2017, 28(9): 2948 - 2956.
- [23] LIU Y, ZHOU Y, NIRASAWA S, et al. *In vivo* anti - fatigue activity of sufu with fortification of isoflavones[J]. Pharmacogn Mag, 2014, 10(39): 367 - 373.
- [24] ZHAO Y Q, ZENG L, YANG Z S, et al. Anti - fatigue effect by peptide fraction from protein hydrolysate of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*) swim bladder through inhibiting the oxidative reactions including DNA damage[J/OL]. Mar Drugs, 2016, 14(12): E221[2024 - 04 - 15]. <https://doi.org/10.3390/md14120221>.
- [25] WEBER M G, DIAS S S, DE ANGELIS T R, et al. The use of BCAA to decrease delayed - onset muscle soreness after a single bout of exercise: A systematic review and meta - analysis[J]. Amino Acids, 2021, 53(11): 1663 - 1678.
- [26] LIU X C, LIU M. Anti - fatigue effect of ferulic acid in exercise trained mice [J]. Acta Pol Pharm, 2023, 80 (3) : 473 - 481.
-
- (上接第 26 页)
- [14] PAN Y, XIE Q T, ZHU J, et al. Study on the fabrication and *in vitro* digestion behavior of curcumin - loaded emulsions stabilized by succinylated whey protein hydrolysates[J]. Food Chem, 2019, 287: 76 - 84.
- [15] 胡碧君. 黄芪多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究 [J]. 中国药业, 2018, 27(24): 11 - 14.
- [16] WANG T, JÓNSDÓTTIR R, KRISTINSSON H G, et al. Enzyme - enhanced extraction of antioxidant ingredients from red algae *Palmaria palmata* [J]. LWT - Food Sci Technol, 2010, 43: 1387 - 1393.
- [17] 景言, 刘晓兰, 王今雨, 等. 玉米蛋白水解物的酶法制备及其对结肠炎的缓解作用 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(8): 270 - 278.
- [18] NAKAMURA H, KAWAMATA Y, KUWAHARA T, et al. The nitrogen moieties of dietary nonessential amino acids are distinctively metabolized in the gut and distributed to the circulation in rats [J]. J Nutr, 2017, 147(8): 1537 - 1545.
- [19] 马雪, 郭丽, 马松艳, 等. 玉米黄粉蛋白的功能特性及应用研究[J]. 粮食与油脂, 2019, 32(2): 28 - 32.
- [20] 祝婧, 刘磊, 张名位, 等. 不同分子量海鲈鱼胶原蛋白肽组分的功能特性比较[J]. 现代食品科技, 2014, 30 (12) : 113 - 118.
- [21] 高盼, 韩玉博, 杨永, 等. 原料压榨制油的预处理方式对核桃多肽功能特性和 ACE 抑制活性的影响 [J]. 中国油脂, 2023, 48(9): 83 - 88.
- [22] YU G C, LI J T, HE H, et al. Ultrafiltration preparation of potent bioactive corn peptide as alcohol metabolism stimulator *in vivo* and study on its mechanism of action [J]. J Food Biochem, 2013, 37(2): 161 - 167.
- [23] 李柏航, 沈和定, 朱敏, 等. 瘤背石磺活性多肽制备工艺优化及其抗氧化性探究 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(17): 168 - 173.
- [24] WANG C Y, TIAN J Q, WANG Q. Research progress in structure - activity relationship of food - derived bioactive peptides with functions to improve cardiovascular health [J]. Food Sci, 2010, 31(13): 307 - 311.
- [25] HOFMANN T. Determination of the chemical structure of novel coloured compounds generated during maillard - type reactions[M]// O'BRIEN J, NURSTEN H E, CRABBE M J C, et al. The Maillard reaction in foods and medicine. Amsterdam: Elsevier, 2005: 82 - 88.
- [26] EISERICH J P, SHIBAMOTO T. Antioxidative activity of volatile heterocyclic compounds [J]. J Agric Food Chem, 1994, 42(5): 1060 - 1063.