原料热处理对玉米醇溶蛋白结构性质和酶解效率的影响

王晓杰，刘晓兰，丛万锁，袁平臣，杨瑞杰

（齐齐哈尔大学食品与生物工程学院,黑龙江省普通高校农产品加工重点实验室,黑龙江齐齐哈尔 161006）

摘要：以玉米黄粉为原料，在 100 ℃和 110 ℃温度下分别处理 10 min、20 min 和 30 min 后提取玉米醇溶蛋白，研究了原料热处理温度和处理时间对玉米醇溶蛋白提取率和部分结构性质的影响。同时，经加热处理的玉米醇溶蛋白用碱性蛋白酶 Alcalase 酶解，研究了热处理条件对醇溶蛋白酶解效率的影响。实验结果表明：随着加热温度的升高与处理时间的延长，玉米醇溶蛋白的提取率、游离巯基含量、表面疏水性和变性温度均升高。随着热处理时间的进一步延长，玉米醇溶蛋白聚集体的表面形貌发生改变，聚集体含量、游离巯基含量和变性温度持续升高，而玉米醇溶蛋白的提取率、表面疏水性和总变性焓降低。碱性蛋白酶 Alcalase 酶解经 110 ℃处理 30 min 的玉米醇溶蛋白时，水解度比未处理玉米醇溶蛋白提高了 9.80 %。

关键词：热处理；玉米醇溶蛋白；结构性质；酶解效率

文章篇号：1673-9078(2015)11-170-176 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.027

Effect of Heat Treatment on Structural Properties and Hydrolysis Efficiency of Zein

WANG Xiao-jie, LIU Xiao-lan, CONG Wan-suo,YUAN Ping-chen, YANG Rui-jie

(Heilongjiang Key Laboratory of Agricultural Products Processing, College of Food and Biological Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China)

Abstract: Zein was extracted from corn gluten meal (CGM) and treated at 100 ℃ and 110 ℃ for 10 min, 20 min and 30 min. The effects of heat treatment temperature and treatment time on extraction yield and some structural properties were investigated. Additionally, heat-treated zein was hydrolyzed by alkaline protease alcalase and the effect of heat treatment conditions on the hydrolysis efficiency was studied. The results showed that the extraction yield, amount of free sulfhydryl groups, surface hydrophobicity, and denaturation temperature of zein increased with prolonged treatment time and increasing heating temperature. As the heat treatment time further increased, the surface morphology of the zein aggregates changed, and the amount of zein aggregates and free sulfhydryl groups as well as the denaturation temperature increased continuously, while the surface hydrophobicity, extraction yield, and total denaturation enthalpy of zein decreased. When zein was subjected to alcalase hydrolysis after being processed at 110 ℃ for 30 min, the degree of hydrolysis increased by 8.29% compared with non-pretreated zein.

Key words: heat treatment; zein; structural properties; hydrolysis efficiency

玉米黄粉（Corn gluten meal，CGM）是湿磨玉米加工过程中的主要副产物，产量占玉米加工总量的3~3.5%。玉米黄粉中含有大约 60%的蛋白质，主要由玉米醇溶蛋白（68%）和谷蛋白（22%）组成。玉米蛋白就氨基酸组成而言，它的中性氨基酸和芳香族氨基酸含量较高，缺少人体必需的赖氨酸和色氨酸，限制了其在食品工业中的应用。目前，世界范围内，玉米黄粉主要用作饲料。

玉米蛋白独特的氨基酸组成为其制备生物活性肽提供了良好的原料优势。采用适当的蛋白酶对玉米蛋白进行酶法改性并结合现代生物分离技术可制备出具有促进乙醇代谢[1,2]、抗氧化[3,4]、抗高血压[5,6]等生物活性的功能短肽。这些高附加值功能短肽的开发可有效提高玉米黄粉的使用价值，增加玉米加工企业的经济效益。

天然玉米蛋白分子由于氢键、疏水键、二硫键等作用，使肽链卷曲于蛋白质分子内部近似于球状。另

收稿日期：2015-01-12

基金项目：黑龙江省自然科学基金（C201332）；齐齐哈尔市科学技术计划项目（GYGG-201306）

作者简介：王晓杰（1980-），女，副教授，研究方向为食品生物技术

通讯作者：刘晓兰（1962-），女，博士，教授，研究方向为生物工程

外，玉米黄粉中还存在约 15%的淀粉，这些淀粉与玉米蛋白紧密结合在一起，形成层层包裹的复合体很难剥离开，这两点因素严重影响了玉米蛋白的酶解速度及原料的利用率，导致玉米生物活性肽得率较低。因此在玉米蛋白酶法改性前必须对其进行预处理，以期破坏玉米蛋白的高级结构，使存在于玉米蛋白分子内部的某些基团暴露在蛋白质分子表面上，如 Cys 的-SH 基、Tyr 的-OH 基、His 的咪唑基，这样就增加了酶与蛋白的接触点，提高原料的利用率。但到目前为止，何种预处理方法和条件引起玉米蛋白变性程度大，从而更利于酶对蛋白的降解问题尚未阐明。

本实验以玉米黄粉为原料，采用加热技术处理玉米黄粉，使玉米醇溶蛋白结构发生改变。通过对改构的玉米醇溶蛋白的部分结构性质和酶解效率进行分析，总结出加热处理引起玉米醇溶蛋白结构变化的规律，为确定适合玉米黄粉的预处理方法奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米黄粉由黑龙江省青冈县淀粉厂提供，蛋白质含量为 60.1%，外观呈金黄色颗粒状。玉米黄粉是玉米经湿磨法工艺制得麸质水，经真空转鼓浓缩后在管束式干燥机干燥制成。干燥条件为进风口温度为 180 ℃，出风口温度为 105 ℃；进料温度为 90 ℃，出料温度为 40 ℃。

1.2 试剂

5,5’-二硫代-2-硝基苯甲酸（DTNB）购自上海生工生物有限公司；1-苯基-8-萘磺酸（ANS）购自 Sigma 公司。

1.3 主要仪器

荧光分光光度计，日本岛津仪器系统有限公司；紫外凝胶成像系统，Alpha Innotech 公司；不锈钢手提式灭菌器，上海申安医疗器械厂；Q-20 差示扫描量热仪，美国 TA 仪器有限公司；S-4300 扫描电子显微镜，HITACHI 公司。

1.4 实验方法

1.4.1 玉米黄粉的热处理

称取 30 g 玉米黄粉放入锥形瓶中，加入 150 mL 蒸馏水，再用纱布和牛皮纸封口。分别在 100 ℃和 110 ℃条件下处理 10 min、20 min 和 30 min，热处理后 4000 r/min 离心 10 min，去掉上清液收集沉淀。将沉淀部分于 60 ℃干燥箱中烘干，备用。

1.4.2 玉米醇溶蛋白的提取

参照文献[7]，略有改动。玉米醇溶蛋白用 70%乙醇提取后的浸提液，先用旋转蒸发器浓缩至有微小颗粒析出，然后将浓缩液转置小盒内，于-84 ℃冰箱中冷冻过夜，最后放入冷冻干燥机中进行冷冻干燥，获得高收率且分散性好的玉米醇溶蛋白。

1.4.3 玉米醇溶蛋白游离巯基含量的测定

参照 Ellman’s 分光光度法[8]，略有改动。精确称取 0.03 g 玉米醇溶蛋白，加入到 8 mL 含有 8 mol/L 尿素的 pH 为 8.0 的 Tris-Gly 缓冲液中，搅拌溶解 1 h，10000 r/min 离心 10 min，收集上清液。取 2 mL 上清液加入 2 mL Tris-Gly 缓冲液和 40 μL Ellman’s 试剂，立即混匀，反应 1 h 后测定混合物在 412 nm 处的吸光度值，以不加样品，只加 Ellman’s 试剂为空白。用 Ellman’s 试剂–SH 的摩尔吸光系数为 1.36×10^4 计算游离巯基含量（S_0）。S_0 的计算公式如下：

$$S_0(\mu mol/g)=\frac{73.35\times A_{412}\times D}{C}$$

式中：A_{412}：412 nm 吸光度值；C：样品蛋白质含量（mg/mL）；D：稀释倍数。

1.4.4 玉米醇溶蛋白表面疏水性的测定

采用荧光探针法[9]，略有改动。称取约 0.1 g 玉米醇溶蛋白，溶于 5 mL 0.01 mol/L pH 7.0 磷酸盐缓冲液，4000 r/min 离心 10 min，收集上清液。测定上清液中可溶性蛋白含量，通过稀释使蛋白浓度在 0.01~0.2 mg/mL 范围内。取 4 mL 样液加入 20 μL 8 mmol/L 8-苯胺-1-萘磺酸（ANS）荧光探针试剂，在室温条件下避光反应 15 min。在激发波长 390 nm、发射波长 470 nm 以及狭缝 5 nm 的条件下，测定 ANS 结合物的相对荧光强度，最后以相对荧光强度为纵坐标，蛋白浓度为横坐标作图，以其斜率表示样品的表面疏水性。

1.4.5 玉米醇溶蛋白的热稳定性分析

利用 Q-20 型差示扫描量热仪（DSC，TA 仪器公司）测定。精确称取 2.5 mg 玉米醇溶蛋白放入铝盒中，密封，置于 DSC 仪器的样品支持器上，以密封空铝盒作为对照。氮气压力 0.05 MPa，升温速率 10 ℃/min，温度范围 20~180 ℃。

1.4.6 玉米醇溶蛋白相对分子质量和亚基组成的测定

采用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法[10]。选择分离胶浓度为 12%，浓缩胶浓度为 5%，交联度为 2.6%。蛋白质 Marker 由兔磷酸化酶 B（97.4 ku），牛血清白蛋白（66.2 ku），鸡卵白蛋白（42.7 ku），牛碳酸酐酶（31 ku），胰蛋白酶抑制剂（20.1 ku），鸡蛋清溶菌酶（14.4

ku）组成。将 2 mg 经不同条件处理后的玉米醇溶蛋白溶于 0.5 mL 2×样品缓冲液中，沸水浴处理 3~5 min。上样量为 10 μL。

1.4.7 玉米醇溶蛋白表观结构的测定

应用扫描电子显微镜（SEM）观察玉米醇溶蛋白的表观结构。将少量蛋白样品固定在样品台上，喷金镀膜处理，喷金厚度大于 5 nm。离子溅射仪工作距离为 50 mm，溅射时间 40~60 s。真空度 0.05 mbar，电流控制为 30 mA。

1.4.8 热处理对玉米醇溶蛋白酶解效率的影响

取不同温度和时间处理的玉米醇溶蛋白 5 g，悬浮于 100 mL 蒸馏水中，使玉米醇溶蛋白底物浓度为 5%，加入碱性蛋白酶 Alcalase，在反应温度 60 ℃，初始 pH 8.5，酶与底物之比 3%条件下水解 2 h，以未处理的玉米醇溶蛋白为对照。在水解过程中不断用 1 mol/L NaOH 调解 pH 值，使反应体系的 pH 保持在酶的最适 pH。记录加入氢氧化钠溶液的体积，换算成水解度（DH），用 DH 作为衡量玉米醇溶蛋白酶解效率的指标。

1.4.9 数据分析

实验中所有数据都是三次测定的平均值，采用 IBM SPSS Statistics 软件进行数据的统计分析，用平均值±标准差表示。利用 Duncan 新复极差检验（Duncan's multiple-range test）评价平均值间的显著性差异（P<0.05）。

2 结果与讨论

2.1 热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白提取率的影响

玉米黄粉在 100 ℃和 110 ℃温度下分别处理 10 min、20 min 和 30 min 后，取 10 g 按 1.4.2 流程提取玉米醇溶蛋白。玉米醇溶蛋白经冷冻干燥后计算提取率，实验结果如图 1 所示。

由图 1 可以看出，当玉米黄粉在 100 ℃条件下处理 10 min 后，玉米醇溶蛋白提取率最高，达 31.4%，但是随着加热时间的延长提取率逐渐降低。110 ℃条件下，玉米醇溶蛋白提取率的变化规律同 100 ℃且均低于未处理样品。在适当的热处理条件下（100 ℃），高温处理使得残留在玉米黄粉内的淀粉糊化，使其与玉米蛋白的复合体解离，玉米醇溶蛋白与提取溶剂充分接触使其提取率提高。随着处理时间的延长，提取率逐渐降低。在改进的玉米醇溶蛋白提取方法中，玉米醇溶蛋白用 70%乙醇提取后进行真空浓缩和冷冻干燥，可以将浸提液中的玉米醇溶蛋白全部回收，所以提取率的变化主要发生在玉米醇溶蛋白与 70%乙醇溶液之间的相互作用上。另外，在用 70%乙醇提取玉米醇溶蛋白前，丙酮脱色过程也会损失一部分蛋白，这也与玉米醇溶蛋白的结构性质相关[11]。因此导致提取率降低的可能的原因是高温处理使玉米醇溶蛋白空间结构遭到破坏，使包埋于分子内部的疏水性区域暴露在蛋白质分子表面，疏水性增强，再用极性相同的 70%乙醇提取时玉米醇溶蛋白的提取率降低。在 110 ℃条件下，玉米醇溶蛋白的提取率大幅度降低，可能的原因是经过加热处理后，用乙醇提取时，松散的玉米醇溶蛋白分子又通过 SH/SS 间的作用或者疏水相互作用发生聚集，开始凝沉，减少蛋白质与溶剂之间的相互作用，所以提取率降低。说明在本实验所采用的条件下，热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白的结构有不同程度的破坏作用。

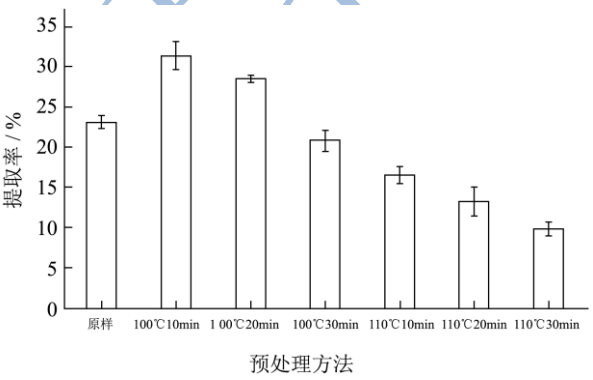


图 1 不同热处理条件下玉米醇溶蛋白的提取率

Fig.1 Extraction yields of zein from CGM for different heat treatment conditions

2.2 热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白结构性质的影响

2.2.1 热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白游离巯基含量的影响

游离巯基是一个影响蛋白质界面和乳化行为的重要参数。热处理会引起蛋白质巯基和二硫键的变化，通过测定蛋白质巯基含量的变化情况可预测蛋白质的改性程度。玉米黄粉经不同温度和时间处理后，提取玉米醇溶蛋白测定其游离巯基含量，实验结果如图 2 所示。

由图 2 可以看出，没有经过加热处理样品的游离巯基含量最低，仅为 1.72±0.15 μmol/L，说明玉米醇溶蛋白分子中的巯基主要以二硫键的形式存在，这与玉米醇溶蛋白结构稳定的报道相一致[12]。在 100 ℃和 110 ℃条件下，玉米醇溶蛋白的游离巯基含量均随着

处理时间的延长而逐渐增大，且在 110 ℃条件下处理 30 min 时样品的游离巯基含量最高，为 10.44±0.38 μmol/L。原因是在热处理过程中，玉米醇溶蛋白分子内的二硫键受热分解，形成游离的巯基暴露到分子的表面，因此玉米醇溶蛋白中游离巯基的含量增加。李迎秋等人研究高压脉冲电场对大豆分离蛋白巯基含量影响时也得出相同的结论[13]，也说明 110 ℃处理 30 min 的条件对玉米醇溶蛋白高级结构的破坏程度较大。

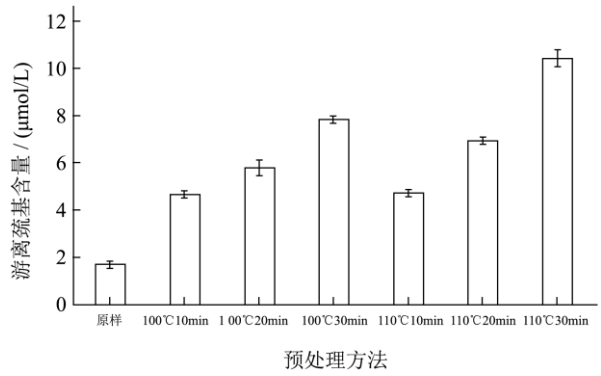


图 2 热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白游离巯基含量的影响

Fig.2 Effect of heat treatment temperature and time on the amount of free sulfhydryl groups in zein from CGM

2.2.2 热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白表面疏水性的影响

玉米黄粉经不同温度和时间处理后，提取玉米醇溶蛋白测定其表面疏水性指数，实验结果如图 3 所示。

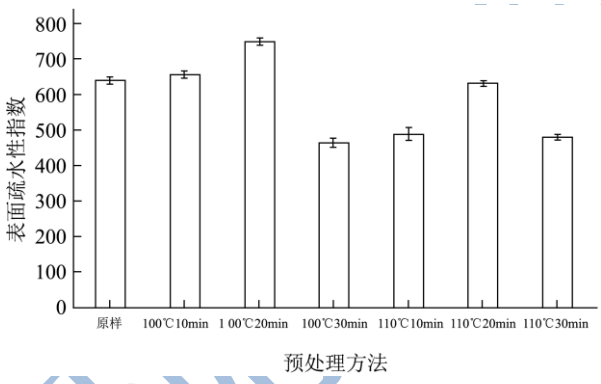


图 3 热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白表面疏水性的影响

Fig.3 Effect of heat treatment temperature and time on the surface hydrophobicity of zein from CGM

由图 3 可以看出，原样玉米醇溶蛋白的表面疏水性指数为 638.62±2.27，这与玉米醇溶蛋白含有较多疏水性氨基酸的特点相对应。在 100 ℃条件下，随着处理时间的延长玉米醇溶蛋白的表面疏水性呈先升高后降低的变化趋势，在处理 20 min 时，玉米醇溶蛋白的表面疏水性最大，达 748.19±8.58。这表明适当热处理破坏了玉米醇溶蛋白分子内部疏水相互作用，暴露出更多的疏水性区域，因此增加了玉米醇溶蛋白的表面疏水性。随着加热时间的延长，疏水性基团逐渐暴露，表面疏水性也逐渐增强。当疏水性基团暴露到一定程度时，高温下形成的松散肽链在冷却过程中发生疏水相互作用，从而引起蛋白-蛋白的相互作用，发生蛋白质的疏水聚集，表面疏水性降低[14]。在 110 ℃条件下，玉米醇溶蛋白表面疏水性的变化规律同 100 ℃，但数值均小于 100 ℃。一种可能的原因是玉米醇溶蛋白在此温度下聚集效果高于 100 ℃，遮蔽了表面疏水基团，这与电泳分析的结果相一致，表现为聚合物含量增加。另一种可能的原因是在更高温度和更长时间作用下，暴露在蛋白质表面的 Asn 和 Gln 残基发生脱氨作用，也会导致表面疏水性降低[15]。

2.2.3 热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白热学性质的影响

蛋白质的变性通常表现为分子由天然态变成变性态，由有序态变成无序态，由折叠态变成展开态，在这些过程中都伴随着热量的变化。玉米黄粉经不同热处理温度和时间处理后，提取玉米醇溶蛋白，将玉米醇溶蛋白做 DSC 测定。图 4 和表 1 分别表示玉米醇溶蛋白的 DSC 拟合曲线、变性温度和总变性焓。

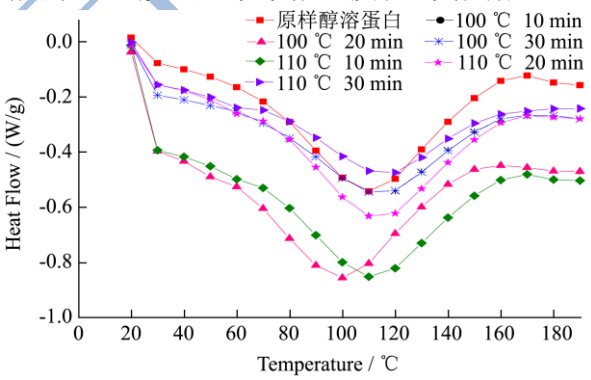


图 4 不同温度和时间处理后玉米醇溶蛋白的 DSC 拟合曲线

Fig.4 DSC profile of zein extracted from CGM treated at different temperatures and times

表 1 热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白变性温度和变性焓的影响

Table1 Effect of heat treatment temperature and time on the denaturation temperature and denaturation enthalpy of zein

预处理方式	变性温度/℃	总变性焓/(J/g)
原样	106.6±6.47^{b}	162.7±12.02^{a}
100 ℃ 10 min	105.16±0.38^{b}	125.75±7.57^{bc}
100 ℃ 20 min	106.96±9.29^{b}	130.6±26.16^{bc}
100 ℃ 30 min	113.32±0.76^{ab}	107.75±10.11^{cd}
110 ℃ 10 min	110.79±2.40^{ab}	142.9±4.53^{ab}
110 ℃ 20 min	112.84±1.22^{ab}	146.7±8.34^{ab}
110 ℃ 30 min	116.57±9.91^{a}	82.06±18.29^{d}

由图 4 和表 1 可知，玉米醇溶蛋白的 DSC 热分

析曲线只出现一个比较宽的吸热峰，峰高温度即变性温度为 106.6±6.47 ℃，总变性焓为 162.7±12.02 J/g。Sobral 等人通过 DSC 方法测得大豆蛋白热变性温度为 98.9 ℃，玉米醇溶蛋白的变性温度高于大豆蛋白，表明与大豆蛋白相比，玉米醇溶蛋白具有更好的热稳定性[16]。

经不同温度和时间处理后，玉米醇溶蛋白的 DSC 热分析曲线仍是一个比较宽的单峰，变性温度随热处理时间的延长缓慢升高，但除 110 ℃处理 30 min 的条件外，其他处理条件下变性温度的变化均不显著（P<0.05）。表明在本实验的热处理条件下，仅部分稳定玉米醇溶蛋白高级结构的价键如氢键、二硫键等被打开，多肽链部分展开，蛋白质热稳定性提高。

在所有的热处理条件下，变性焓值均低于原样玉米醇溶蛋白，说明本实验所采用的热处理条件能够使玉米醇溶蛋白的结构发生变化。在 100 ℃条件下处理 10 min 时，变性焓值显著降低，处理 20 min 时焓值没有明显变化，而时间达到 30 min 时，总变性焓显著下降。在 110 ℃条件下处理 10 min 和 20 min 时，变性焓值没有显著变化，而在处理 30 min 时，玉米醇溶蛋白的总变性焓最低，仅为 82.06±18.29 J/g。结合电镜的结果，加热处理导致玉米醇溶蛋白聚集成大颗粒，为了帮助内部聚集体形成熔融状态，需要从表面吸收更多的热量，因此处理 10 min 和 20 min 时焓值较大。处理 30 min 时，玉米醇溶蛋白的球状体结构已经彻底被破坏，玉米醇溶蛋白的变性程度最大，使得展开蛋白质结构的作用力最小，蛋白质的吸热焓值最低。表明长时间的热处理可以增大玉米醇溶蛋白的变性程度。

2.2.4 热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白相对分子质量和亚基组成的影响

不同温度和时间处理后的玉米醇溶蛋白，采用 SDS-PAGE 法测定其相对分子质量及亚基组成，实验结果如图 5 所示。

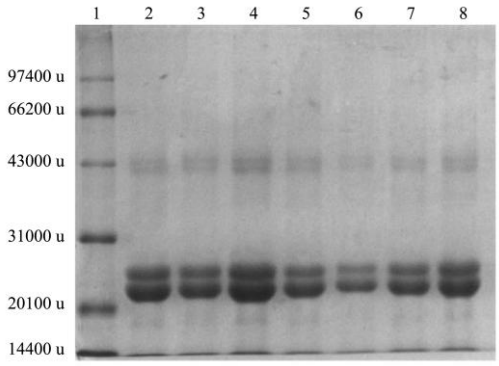


图 5 热处理玉米醇溶蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Fig.5 SDS-PAGE image of zein after heat treatment

注：1 为标准蛋白；2 为原样玉米醇溶蛋白；3 为 100 ℃处理 10 min 的玉米醇溶蛋白；4 为 100 ℃处理 20 min 的玉米醇溶蛋白；5 为 100 ℃处理 30 min 的玉米醇溶蛋白；6 为 110 ℃处理 10 min 的玉米醇溶蛋白；7 为 110 ℃处理 20 min 的玉米醇溶蛋白；8 为 110 ℃处理 30 min 的玉米醇溶蛋白。

由图 5 可以看出，原样玉米醇溶蛋白包含 4 条谱带，谱带上蛋白质亚基的相对分子量分别为 48651.96 u、24247.99 u、21671.93 u 和 17905.01 u，分别对应于玉米醇溶蛋白中的 γ-醇溶蛋白，α_1-醇溶蛋白，α_2-醇溶蛋白和 β-醇溶蛋白组分。这与 Pomes 和 Vanessa 对玉米醇溶蛋白的研究结论相似[17]。在上样量相同的情况下，经过加热处理的玉米醇溶蛋白所包含的谱带数量及位置与原样醇溶蛋白一致，均未出现新谱带。在 100 ℃处理 20 min 和 110 ℃处理 30 min 条件下，γ-醇溶蛋白、α_1-醇溶蛋白和 α_2-醇溶蛋白条带色泽加深加宽，可能是在此处理条件下，玉米醇溶蛋白高级结构被适当破坏，使醇溶蛋白在样品缓冲液中的溶解性增加而导致的。同时也说明热处理诱导了玉米醇溶蛋白聚集体的形成，导致分子量为 48651.96 u 的聚集体组分含量增加，这与玉米醇溶蛋白表面疏水性的测定结果相一致。

2.2.5 热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白表观结构的影响

扫描电子显微镜利用入射电子和试样表面物质相互作用所产生的二次电子与被散射电子成像，获得试样表面微观组织结构和形貌信息。不同处理条件下玉米醇溶蛋白的扫描电镜图如图 6 所示。

由图6可以观察到：在天然状态下，玉米醇溶蛋白聚集成球状结构，球的大小不等，直径主要集中在 5~20 μm范围内，表面光滑，聚集体之间有明显的界限。Yamada等人用扫描电镜观察玉米醇溶蛋白时也发现，玉米醇溶蛋白在乙醇溶液中聚集形成小球状[18]。在100 ℃处理10 min和20 min时，玉米醇溶蛋白球状体发生进一步聚集，导致聚集体之间的界限消失；处理 30 min时，球状体的直径变大，这些大球状体可能是玉米醇溶蛋白通过疏水相互作用形成的较大聚集体，而且这些大球状体的表面不光滑，说明一些稳定蛋白质高级结构的价键被削弱，但还没有达到彻底破坏的程度。在110 ℃处理10 min时，玉米醇溶蛋白球状体聚集在一起，球被压扁；处理20 min时，玉米醇溶蛋白球状体表面发生“脱皮”现象，露出里面孔洞状结构；处理30 min时，玉米醇溶蛋白的球状体结构被完全破坏，只留有一些不规则的孔洞状结构，说明此条件下维持玉米醇溶蛋白空间结构的价键完全遭到破坏，肽链伸展。

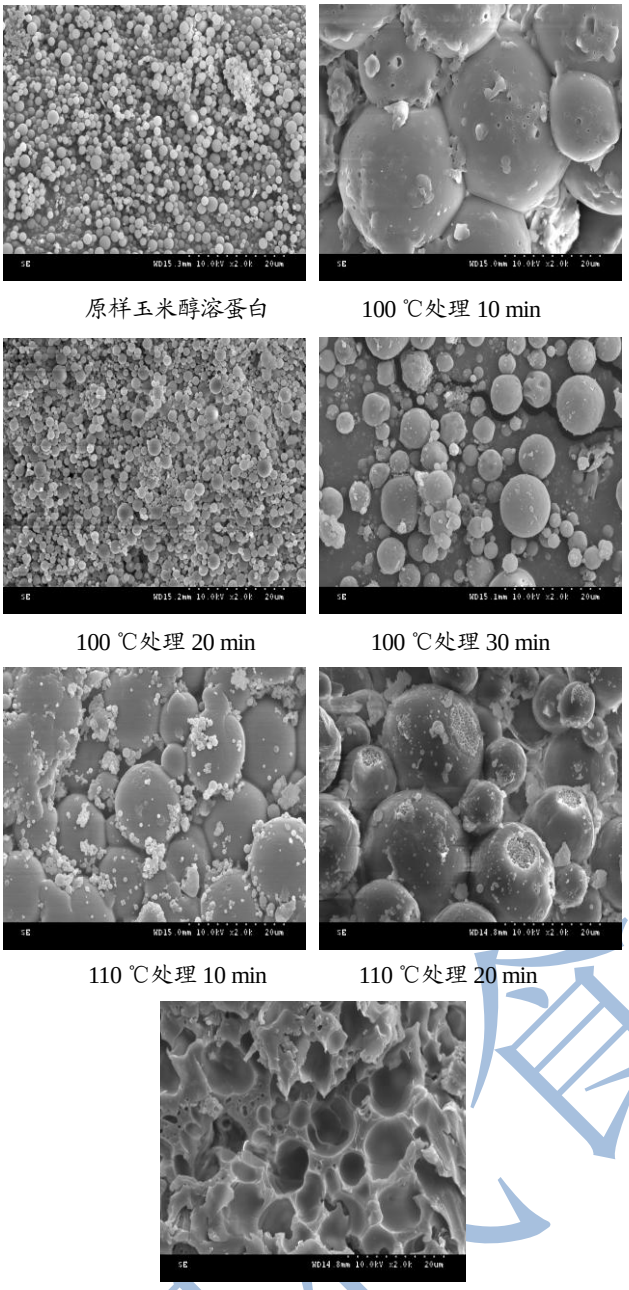


图 6 不同加热温度和时间下玉米醇溶蛋白的扫描电镜图

Fig.6 SEM micrographs of zein for different heat treatment temperatures and times

2.3 热处理时间和温度对玉米醇溶蛋白酶解效率的影响

以未经热处理的玉米醇溶蛋白为对照，研究不同热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白酶解效率的影响，实验结果如图 7 所示。

由图 7 可以看出，随着加热温度的升高和处理时间的延长，玉米醇溶蛋白水解度总体不断上升，在 110 ℃条件下处理 30 min 时，玉米醇溶蛋白水解度比原样提高 9.80%。说明在此条件下，玉米醇溶蛋白结构改变利于蛋白酶的作用，使得玉米醇溶蛋白的酶解效率提高。

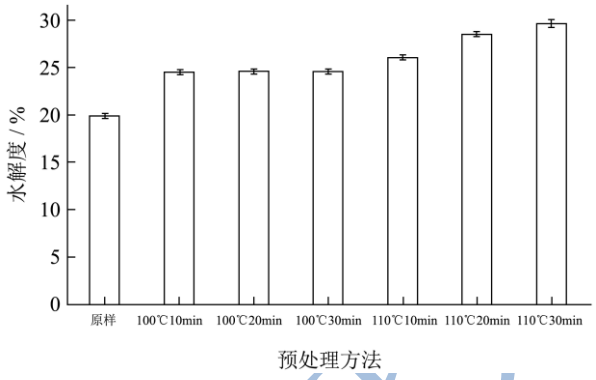


图 7 不同热处理温度和时间对玉米醇溶蛋白水解度的影响

Fig.7 DH of zein for different heat treatment temperatures and times

3 结论

随着热处理温度的升高和处理时间的延长，玉米醇溶蛋白分子的三级结构被破坏，蛋白质结构部分伸展，导致玉米醇溶蛋白的提取率和变性焓值逐渐下降，游离巯基含量和变性温度持续升高，而表面疏水性呈先升高后降低的变化趋势。同时，高温长时间处理还会使玉米醇溶蛋白表观形貌发生改变，诱导蛋白-蛋白发生聚集。碱性蛋白酶 Alcalase 酶解经 110 ℃条件处理 30 min 的玉米醇溶蛋白时，水解度比未处理样品提高 9.80%，说明热处理后玉米醇溶蛋白紧密的结构变得松散，有利于蛋白酶的酶切作用。因此，确定对玉米醇溶蛋白结构破坏程度最大的预处理条件为 110 ℃处理 30 min。在此基础上，可以进一步研究热处理温度和时间对玉米肽生理活性和加工特性的影响，以获得更全面的评价结果。

参考文献

[1] 隋玉杰,何慧,石燕玲,等.玉米肽的醒酒活性体外试验及其醒酒机理研究[J].中国粮油学报,2008,23(5):54-58
SUI Yu-jie, HE Hui, SHI Yan-ling, et al. A studyon mechanism and tests in vitro for corn peptides facilitating alcohol metabolism [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2008, 23(5): 54-58

[2] Ma ZL, Zhang WJ, Yu GC, et al. The primary structure identification of a corn peptide facilitating alcohol metabolism by HPLC-MS/MS [J]. Peptides, 2012, 37: 138-143

[3] Zhuang H, Tang N, Yuan Y. Purification and identification of antioxidant peptides from corn gluten meal [J]. J Funct Foods,

2013, 5: 1810-1821

[4] Wang XJ, Zheng XQ, Kopparapu NK, et al. Purification and evaluation of a novel antioxidant peptide from corn protein hydrolysate [J]. Process Biochemistry, 2014, 49(9): 1562-1569

[5] Suh HJ, Wang JH, Suh DB, et al. Preparation of angiotensin i converting enzyme inhibitor from corn gluten [J]. Process Biochemistry, 2003, 38: 1239-1244

[6] Kim JM, Whang JH, Suh HJ. Enhancement of angiotension i converting enzyme inhibitory activity and improvement of the emulsifying and foaming properties of corn gluten hydrolysate using ultrafiltration membranes [J]. Eur Food Res Technol, 2004, 218: 133-138

[7] 郑喜群.玉米黄粉的酶解工艺与抗氧化活性肽的制备[D].北京:中国农业大学,2006
ZHENG Xi-qun. Enzymatic hydrolysis process of corn gluten meal and preparation of peptide with antioxidative activity [D]. Beijing: China Agricultural University, 2006

[8] Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1959, 82(1): 70-77

[9] 曾茂茂,王霄,陈洁.蛋白质疏水性测定方法的相关性及适用性[J].食品科学,2011,32(15):117-120
ZENG Mao-mao, WANG Xiao, CHEN Jie. Correlation and applicability of different methods for determining protein hydrophobicity [J]. Food Science, 2011, 32(15): 117-120

[10] 郭尧君.蛋白质电泳实验技术[M].北京:科学出版社,1999
GUO Rao-jun. The experimental technique of protein electrophoresis [M]. Beijing: Science Press, 1999

[11] Zheng XQ, Liu XL, Yu SF, et al. Effeces of extrusion and starch removal pretreatment on zein proteins extracted from corn gluten meal [J]. Cereal chem, 2014, 91(5): 496-501

[12] Liu XM, Sun QS, Wang HJ, et al. Microspheres of corn protein, zein, for an ivermectin drug delivery system [J]. Biomaterials, 2005, 26: 109-115

[13] 李迎秋,陈正行.高压脉冲电场对大豆分离蛋白疏水性和巯基含量的影响[J],食品科学,2006,27(5):40-43
LI Ying-qiu, CHEN Zheng-hang. Power pulsed electric field on hydrophobicity and sulfhydry groups content of soybean protein isolated [J]. Food Science, 2006, 27(5): 40-43

[14] 王金梅.大豆蛋白热聚集行为及界面、乳化性质研究[D].广东:华南理工大学博士论文,2012
WANG Jin-mei. Thermally aggregation behaviors, interfacial and emulsifying properties of soy protein [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012

[15] Das R, Gerstein M. The stability of thermophilic proteins: a study based on comprehensive genome comparison [J]. Funct Integr Genomics, 2000, 1(1): 76-88

[16] Sobral PA, Palazolo GG, Wanger JR. Thermal behavior of soy protein fractions depending on their preparation methods, individual interactions, and storage conditions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58, 10092-10100

[17] Vanessa C, Roberto A, Amanda G, et al. Characterization of a 19 kDa α-zein of high purity [J]. Agric Food Chem, 2005, 53: 725-729

[18] Yamada K, Takahashi H, Noguchi A. Improved water resistance inedible zein films and composites for biodegradable food packaging [J]. Int J Food Sci Technol, 1995, 30: 599-608