

玉米蛋白粉的预处理方法的比较及其酶解液的脱色工艺研究

赵谋明, 马梅, 苏国万, 郑淋, 刘洋

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 玉米酶水解物是通过用商业酶水解玉米蛋白粉而制备。玉米蛋白粉的蛋白酶切位点被包被, 酶解效率低, 且酶解液呈棕黄色, 以及不利于后续多肽的分离纯化影响感官效果。本研究对玉米蛋白粉预处理方法比较, 确定了用加热和 α -淀粉酶对玉米蛋白粉进行预处理, 提高酶解效率。用活性炭对玉米酶解液进行脱色处理, 以脱色率和蛋白损失率为指标, 确定最优脱色条件: 脱色 pH 为 5、脱色温度为 40 °C、活性炭用量为 2%。并通过对脱色玉米肽抗氧化活性的考察, 发现活性炭脱色后, 玉米肽对 DPPH 清除率、ABTS 清除率、ORAC 清除率均有不同程度的下降, 脱色前对 DPPH 的清除率为 93.11%, 对 ABTS 的清除率为 1318.97 $\mu\text{mol TE/g}$, 对 ORAC 的清除率为 1192.39 $\mu\text{mol TE/g}$, 脱色后对 DPPH 的清除率为 33.19%, 对 ABTS 的清除率为 858.36 $\mu\text{mol TE/g}$, 对 ORAC 的清除率为 582.62 $\mu\text{mol TE/g}$, 仍然保留较好的抗氧化活性。对脱色玉米肽进行 ADH 激活率和水解氨基酸测定发现, 其对 ADH 的激活率为 48.74%, 并仍含有高含量的亮氨酸和丙氨酸, 说明脱色玉米肽仍具有醒酒活性。

关键词: 脱色玉米肽; 活性炭; 预处理; 抗氧化活性; 醒酒活性

文章编号: 1673-9078(2019)010-131-138

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.10.019

Comparison of Pretreatment Methods for Corn Gluten Meal and the Study of Decolorization Process of Corn Enzymatic Hydrolysate

ZHAO Mou-ming, MA Mei, SU Guo-wan, ZHENG Lin, LIU Yang

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Corn enzymatic hydrolysate was prepared via enzymatic hydrolysis of corn gluten meal using commercial enzymes. The sites for cleavage by a protease are coated, causing low efficiency of enzymatic hydrolysis, and brownish yellow colour in the corn enzymatic hydrolysate, (which is not conducive to the separation and purification of peptides and affects product sensory effect). This research compared the pretreatment methods of corn gluten meal, and it was determined that the corn gluten meal was pretreated by heating and α -amylase to improve the efficiency of subsequent enzymatic hydrolysis. The corn enzymatic hydrolysate was decolorized by activated carbon, and the optimum decolorization conditions were determined based on the decolorization rate and protein loss rate: decolorization pH was 5, decolorization temperature was 40 °C, and activated carbon dosage was 2%. Through the investigation on the antioxidant activities of decolorized corn peptides, it was found that the DPPH, ABTS and ORAC radical scavenging rates decreased: they were 93.11%, 1318.97 $\mu\text{mol TE/g}$, and 1192.39 $\mu\text{mol TE/g}$, respectively, before decolorization, but were 33.19%, 858.36 $\mu\text{mol TE/g}$ and 582.62 $\mu\text{mol TE/g}$, respectively, after decolorization (i.e. the decolorized corn peptides still retained significant antioxidant activity). The determination of the ADH activation rate and hydrolyzed amino acids of the decolorized corn peptide showed that the ADH activation rate was 48.74%, and the decolorized corn peptide contained high levels of leucine and alanine, indicating its sobering activity.

Key words: decolorized corn peptides; activated carbon; pretreatment; antioxidative activities; sobering activity

玉米蛋白粉是湿法生产玉米淀粉的主要副产物, pH 值约为 4.0, 没有乳化活性, 难溶于水, 食品加工特性较差, 目前主要用作动物饲料, 附加值低。因此如果能有效利用玉米蛋白粉, 就可以极大提高玉米附

收稿日期: 2019-01-23

基金项目: 国家重点研发计划项目重点专项 (2017YFD0400200)

作者简介: 赵谋明 (1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术

加值^[1]。玉米蛋白粉约含有 62%~74%的蛋白质, 主要成分为醇溶蛋白(68%)、谷蛋白(22%)、球蛋白(1.2%)和白蛋白^[2,3]。研究发现用商业酶将玉米蛋白粉水解得到的玉米酶解液, 具有很多生理活性^[4-6], 日本学者 Yamaguchi 等^[7]在 1997 年率先报道玉米酶解液具有醒酒活性, 认为其醒酒作用源于可显著提高血清中丙氨酸、亮氨酸的浓度, 有助于产生稳定的辅酶 NAD⁺,

降低血液中乙醇的浓度。同时,进入人体的乙醇 90%以上是在乙醇脱氢酶(ADH)和乙醛脱氢酶(ALDH)的催化作用下完成代谢,肝脏中 ADH 活力水平是人体乙醇代谢的关键,提高其活性可加速乙醇在体内的代谢,促进醒酒。隋玉杰^[8]等发现玉米肽在体外时实验能激活 ADH。由于玉米蛋白粉中蛋白质与淀粉之间紧密相连,使蛋白质的酶切位点多被包被,影响了玉米蛋白粉的酶解效率^[9]。并且,玉米蛋白粉酶解液为棕黄色,作为功能性食品,这样的色泽不易被接受,对最终的产品感官品质产生影响;且色素的存在不利于活性多肽的分离纯化。因此为了提高玉米蛋白粉的利用率和感官品质以及利于后续分离纯化,对玉米蛋白粉进行前处理及玉米酶解液脱色处理至关重要。

粉末活性炭具有比表面积大(800~2000 m²/g)、非极性、脱色效率高的特点,因此被广泛应用于脱色工艺^[10]。然而,由于活性炭是一种非特异性吸附剂,不仅可以吸附颜色成分,还可与其他营养成分结合,如蛋白质,肽和氨基酸,从而造成营养成分的损失^[11,12]。活性炭的吸附能力受很多因素的影响,如吸附剂的性质(孔结构、官能团等)、吸附物的性质(pKa 值、官能团、极性)及溶液状态(pH、离子强度、温度、浓度等)^[13]。在给定吸附物及吸附剂的情况下,溶液状态影响脱色效果。本实验以玉米蛋白粉为原料,以脱色率和蛋白质损失率为指标,考察脱色效果、脱色玉米肽的抗氧化活性及醒酒活性,以期寻找到最佳的脱色条件。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玉米蛋白粉,肇庆焕发生物科技有限公司,粗蛋白含量为 61.36%。

木瓜蛋白酶,南宁庞博生物工程有限公司;胰酶,广州华琪生物科技有限公司; α -中温淀粉酶,诺维信投资有限公司;复合纤维素酶,诺维信投资有限公司;粉末状活性炭,南京佳力炭业有限公司;DPPH,美国 Sigma 公司;ABTS,美国 Sigma 公司;ADH 测定试剂盒,南京建成生物科技有限公司;乙醇脱氢酶(ADH, 375 U/mg),美国 Sigma 公司;盐酸、氢氧化钠等试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

摇摆式高速中药粉碎机:DFY-500 型,温岭市林大机械有限公司;冷冻干燥机:SCIENTZ-12N 型,宁

波新芝生物科技股份有限公司;高速冷冻离心机:H2050 型,湖南湘仪集团;定氮仪:KDH-2C 型,上海纤检仪器有限公司;消化炉:KDN-40 型,上海新嘉电子有限公司;水浴摇床:SHA-C 型,常州澳华仪器有限公司;pH 计:PHS-3C 型,上海雷磁精密仪器厂;高效液相色谱仪:Waters600 型,美国 Waters 公司。A300 自动氨基酸分析仪,曼默博尔(德国)有限公司;紫外可见分光光度计,尤尼科(上海)仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 玉米蛋白粉的前处理及其酶解液脱色工艺流程

玉米蛋白粉→粉碎(过 80 目筛)→前处理→冻干→调 pH 值→酶解(木瓜蛋白酶和胰酶)→灭酶活→迅速冷却→离心弃沉淀→活性炭脱色→冻干→脱色玉米肽

1.3.2 玉米蛋白粉的前处理工艺

称取 20 g 粉碎过 80 目筛的玉米蛋白粉,按 1:10 加入去离子水,100 °C 加热 30 min,冷却至室温,调节 pH 值到 5.5,加入原料质量 1%的 α -淀粉酶,于 60 °C 下水解 1 h,100 °C 加热 15 min,冷却至室温,离心弃上清,沉淀冷冻干燥,测定蛋白含量与蛋白损失率。

称取 20 g 粉碎过 80 目筛的玉米蛋白粉,按 1:10 加入去离子水,100 °C 加热 30 min,冷却至室温,调节 pH 值到 6.5,加入原料质量 1%的复合纤维素酶,于 50 °C 下水解 1 h,100 °C 加热 15 min,冷却至室温,离心弃上清,沉淀冷冻干燥,测定蛋白含量与蛋白损失率。

参考郭辉等^[1]的方法并做部分修改。称取 20 g 粉碎过 80 目筛的玉米蛋白粉,按 1:15 加入体积比为 45:55 的醇碱溶液 0.1 mol/L NaOH:95%乙醇(V/V)中,50 °C 水浴中浸提 2 h 后,3000 r/min 离心 10 min,然后取上清按 1:1(V/V)加水,调 pH 值至 6.3(pI)左右,按 5:1(V/V)加入 2% NaCl 溶液盐析,3000 r/min 离心 10 min,取沉淀部分冷冻干燥,测定蛋白含量与蛋白损失率。

参考王晓杰等^[14]的方法并做部分修改。称取 20 g 粉碎过 80 目筛的玉米蛋白粉,按 1:16 加入浓度为 5%的 Na₂CO₃ 溶液,在 40 °C 条件下水浴振荡 10 min 后于 5000 r/min 条件下离心 10 min 弃上清液,向沉淀中加入等体积水进行 1 次水洗,条件同上。取沉淀部分冷冻干燥,测定蛋白含量与蛋白损失率。

以上前处理后的冻干粉,按 1:10 加入去离子水,调节 pH 到 8.0,各加入冻干粉蛋白含量 1%的木瓜蛋白酶和胰酶,于 55 °C 水解 12 h,100 °C 加热 15 min,

冷却至室温,离心弃沉淀,上清调 pH 到 7.0,冷冻干燥,测定蛋白回收率。

1.3.3 玉米蛋白粉的预处理及其酶解液脱色工艺流程

称取一定量的玉米蛋白粉酶解液,加入活性炭,研究 pH、脱色温度,活性炭添加量三个单因素对脱色效果的影响。脱色后,离心弃沉淀,上清液 pH 值调至 7.0,测定脱色率、蛋白回收率。

1.3.4 蛋白质含量测定

参考 GB 5009.5-2016,采用凯氏定氮法测定,测定蛋白质含量,计算蛋白回收率。

蛋白回收率=(样品总粗蛋白质量/原料玉米蛋白中粗蛋白质量)×100%

1.3.5 脱色率的测定

称取 0.5 g 的冻干粉,加入 5 mL 90%的乙醇溶液,摇匀后测定在 448 nm 处的吸光值^[15]。玉米肽脱色率通过使用以下公式计算:

$$\text{脱色率}(\%) = (A_0 - A) / A_0 \times 100$$

式中: A_0 是玉米肽在 448 nm 处的吸光值; A 是脱色后玉米肽在 448 nm 处的吸光值。

1.3.6 体外抗氧化活性测定

1.3.6.1 DPPH 自由基清除能力测定

参考游丽君等^[16]方法并做部分修改。取适合浓度样品 2 mL,加入 2 mL DPPH 无水乙醇溶液(0.2 mmol/L),摇匀,室温暗处静置 30 min,于 517 nm 处测定吸光值。以无水乙醇代替 DPPH 做对照,去离子水代替样品做空白。DPPH 自由基清除率通过使用以下公式计算:

$$\text{DPPH 自由基清除率} = [1 - (C - C_1) / C_0] \times 100$$

式中: C_0 是空白组在 517 nm 处的吸光值; C_1 是对照组在 517 nm 处的吸光值; C 是样品组在 517 nm 处的吸光值。

1.3.6.2 ABTS 自由基清除能力测定

参考王曙光等^[17]方法。

1.3.6.3 ORAC 自由基清除能力测定

参考郑淋^[18]方法

1.3.7 乙醇脱氢酶激活率测定

ADH 在有 NAD^+ 存在的弱碱性范围内,催化乙醇的脱氢反应生成乙醛:



同时 NAD^+ 被还原成 NADH (氧化型辅酶 I)。NADH 在波长 340nm 处有一强吸收峰,通过测定 340 nm 波长处 NADH 的吸光度每分钟的变化值,来衡量 ADH 的活力。

参考肖楚乔等^[19]方法并稍作修改。将 50 μL 浓度

为 0.5 mg/mL 的玉米肽溶液与 150 μL 的工作液(乙醇脱氢酶测定试剂盒)混合,在 37 $^\circ\text{C}$ 平衡 5min 后,通过添加 50 μL 的 ADH (2 U/mL) 引发反应。使用多功能酶标仪于 340 nm 下测定吸光度,每 10 s 测定吸光度,连续测定 10 min。使用试剂一(缓冲液)做阴性对照。拟合反应曲线,并计算 0 min 拟合曲线的一阶导数,表明 NADH 的增加速率,即初始反应速率。所有测定一式三份进行。ADH 激活率通过使用以下公式计算:

$$\text{ADH 激活率}(\%) = (V_s - V_0) / V_0 \times 100$$

式中: V_0 是阴性对照的初始反应速率; V_s 是测试样品的反应速率。

1.3.8 水解氨基酸测定

使用 A300 氨基酸自动分析仪测定,具体方法参考李露芳等^[20]。

2 结果与分析

2.1 玉米蛋白粉的不同前处理方法的比较

由表 1 可知,经过前处理后,玉米蛋白粉蛋白含量由 61.36% 增加到 66.26%~78.11%,蛋白质损失率为 10.22%~30.68%,其中加热和 α -淀粉酶共同作用玉米蛋白粉后的蛋白含量最高,蛋白质损失率最低,显著性 ($p < 0.05$) 高于其他组别。由图 1 可知,经过前处理后,玉米蛋白粉酶解液的蛋白质回收率为 58.69%~66.26%,与未前处理的蛋白质回收率(54.97%)之间存在显著性差异 ($p < 0.05$)。加热和 α -淀粉酶处理后蛋白回收率提高,可能是因为加热作用使淀粉糊化,有利于 α -淀粉酶进一步水解淀粉,从而使蛋白质的酶切位点暴露,有利于蛋白质与蛋白酶的接触,进而提高蛋白质回收率^[21]。复合纤维素酶的作用效果并没有 α -淀粉酶的效果好,可能是因为玉米蛋白粉中与蛋白质紧密结合的是淀粉^[22],即使复合纤维素酶能水解掉纤维素,但部分淀粉仍与蛋白质结合在一起,所以蛋白回收率并不如 α -淀粉的高。醇碱溶液处理后的蛋白回收率最高,但与加热和 α -淀粉酶处理后的蛋白质回收率之间的差异并不显著 ($p > 0.05$),且其处理后的玉米蛋白粉的蛋白质含量只提高了约 5.67%,可能是因为玉米蛋白粉中的醇溶蛋白(zein)主要包括 α -醇溶蛋白(α -zein)和 β -醇溶蛋白(β -zein)两种成分,其中 α -zein 溶于 95%的乙醇, β -zein 溶于 60%的乙醇而不溶于 95%的乙醇^[23],实验中用的是 95%的乙醇,造成了部分醇溶蛋白的损失,从而醇碱溶液处理后的玉米蛋白粉的蛋白含量并不高。碳酸钠溶液处理,一方面 Na^+ 能够与淀粉分子羟基基团相互

作用,加速其剥落;另一方面,碱性环境使得玉米蛋白粉的蛋白质解离,并发生部分变性而伸展促进酶解^[24]。然而碳酸钠处理后玉米蛋白粉的蛋白含量、蛋白回收率并不是很高,可能是因为玉米蛋白粉中的谷蛋白溶于稀碱溶液,离心时,造成了部分谷蛋白的损失。综合以上考虑,选择加热和 α -淀粉酶对玉米蛋白粉进行前处理。

表1 前处理对玉米蛋白粉蛋白质含量及利用率的影响

Table 1 The effects of different pretreatments on the protein content and recovery rate of CGM

预处理方式	蛋白质含量/%	蛋白质损失率/%
加热+ α -淀粉酶	78.11±1.21 ^a	10.22±1.02 ^d
加热+复合纤维素酶	72.49±1.66 ^b	19.68±1.37 ^c
醇碱处理	67.03±0.85 ^c	30.68±0.64 ^a
碳酸钠溶液处理	66.26±1.06 ^c	22.97±0.81 ^b

注:同列不同角标者表示具有显著性差异($p < 0.05$),下同。

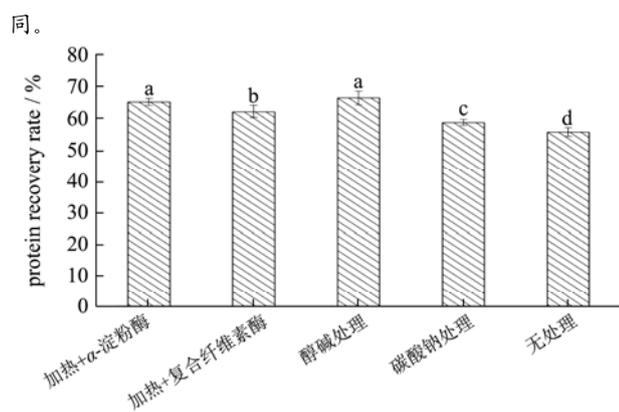


图1 前处理对玉米蛋白粉酶解液蛋白质回收率的影响

Fig.1 The effects of different pretreatments on the protein recovery rate of enzymatic hydrolysate

注:字母不同者表示差异显著($p < 0.05$),下同。

综合以上考虑,选择加热和 α -淀粉酶对玉米蛋白粉进行前处理。

2.2 玉米蛋白粉酶解液脱色条件的优化

2.2.1 pH对玉米蛋白粉酶解液的脱色率和蛋白质损失率的影响

取6份一定质量的玉米蛋白粉酶解液,分别调pH为3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0,加入酶解液质量1%的活性炭,于50℃下震荡2h,见图2。

由图2a可知,随着pH值的增加,脱色率呈下降趋势。当pH值从3变化到8时,脱色率从82.63%降低到3.79%,玉米蛋白粉酶解液在酸性条件下,脱色较明显,脱色率较高。在偏中性和碱性条件下,脱色率低于50%,尤其是在碱性条件下,脱色率低于5%,基本上没有达到脱色的效果。从而可知,在偏酸性的

环境下,活性炭对玉米黄色素有很好的吸收。溶液pH值对吸附过程有很大影响,因为它影响吸附物和吸附剂的性质^[25],肖楚乔^[12]等也得出类似的结论。由图2b可知,在pH值为3~5时,随着pH值的增加,蛋白质损失率呈下降趋势,从56.95%下降到38.05%,可能在越酸的环境下,活性炭对蛋白质的吸附率越大。在pH值为6时,蛋白质的损失率又增加到50.72%,可能是因为此时酶解液的pH接近玉米醇溶蛋白的等电点($pI=6.2$),使部分蛋白质发生沉淀从而导致蛋白质损失率在pH值为6时增加。综合脱色率、蛋白质损失率,选择pH值为5时,加入活性炭进行脱色。

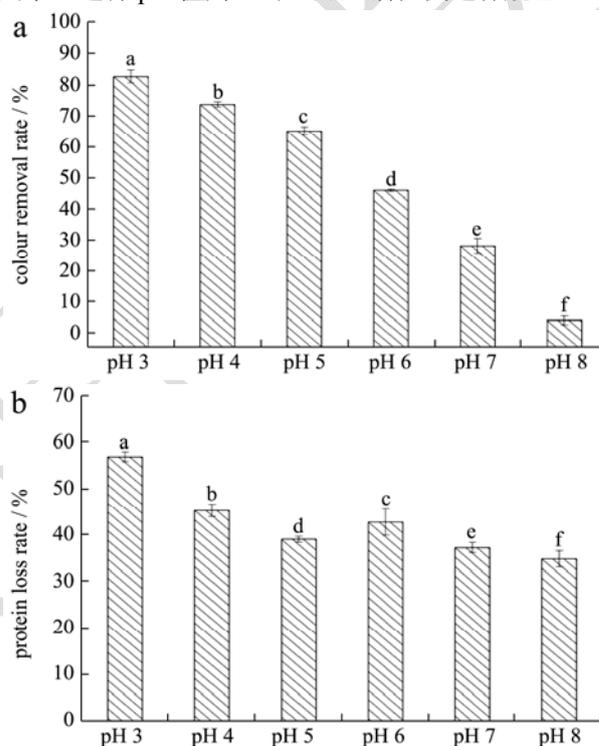


图2 pH值对玉米蛋白粉酶解液脱色率(a)、蛋白质回收率(b)的影响

Fig.2 The effects of pH on decolorization rate (a), protein loss rate (b) of enzymatic hydrolysate

2.2.2 温度对玉米蛋白粉酶解液的脱色率和蛋白质损失率的影响

取4份一定质量的玉米蛋白粉酶解液,调节pH到5.0,加入1%的活性炭,分别于30℃、40℃、50℃、60℃震荡2h,见图3。

活性炭吸附大多是可逆的物理吸附,在一定的温度和压力下能达到平衡体系,在高温、低压下吸附作用又会降低,所以在吸附过程中,温度对活性炭的脱色有显著影响^[26]。由图3a可以看出,30℃~60℃时,活性炭的脱色率为57.50%~67.43%,呈现先升高后下降的趋势,40℃时活性炭的脱色率最大,之后随着温度的升高,脱色率下降,可能是温度过高时被活性炭

吸附的色素发生解吸。由3b可以看出, 30℃~50℃, 活性炭对蛋白质损失率没有显著性差异, 60℃时, 蛋白质损失率下降, 可能是随着温度的升高, 蛋白质的解吸作用增强, 损失率随之降低^[27]。综合考虑, 选择温度40℃时进行活性炭脱色。

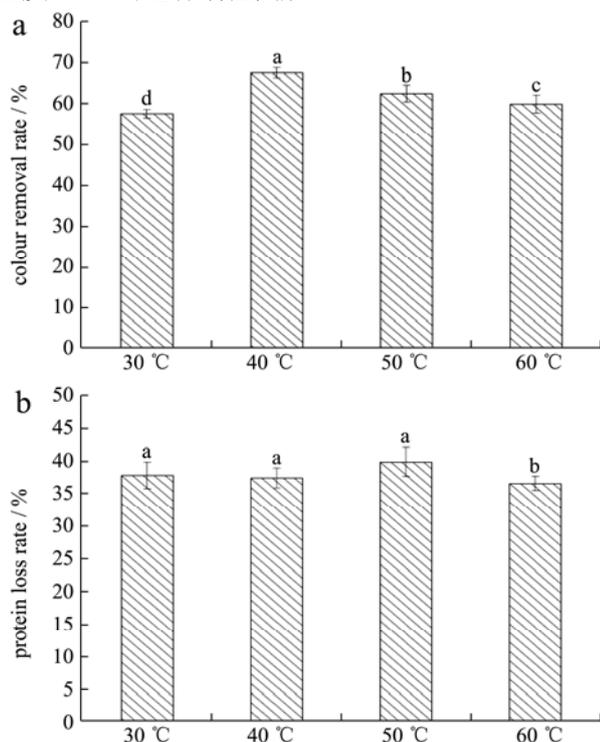


图3 温度对玉米蛋白粉酶解液脱色率 (a)、蛋白回收率 (b) 的影响

Fig.3 The effects of temperature on decolorization rate (a), protein loss rate (b) of corn peptides

2.2.3 活性炭用量对玉米蛋白粉酶解液的脱色率和蛋白质损失率的影响

由图4a可以看出, 随着活性炭用量的增加, 其对玉米蛋白粉酶解液的脱色效果越来越好, 可能是因为

随着活性炭的数量增加, 其比表面积也就相应增加, 从而对色素的吸附增加。但使用2%和2.5%的活性炭脱色时, 脱色率基本相同, 表明此时活性炭对玉米黄素的吸附率已经达到饱和。由图4b看出, 蛋白质的损失随着活性炭用量的增加而增大。综合考虑选择2%的活性炭进行脱色。

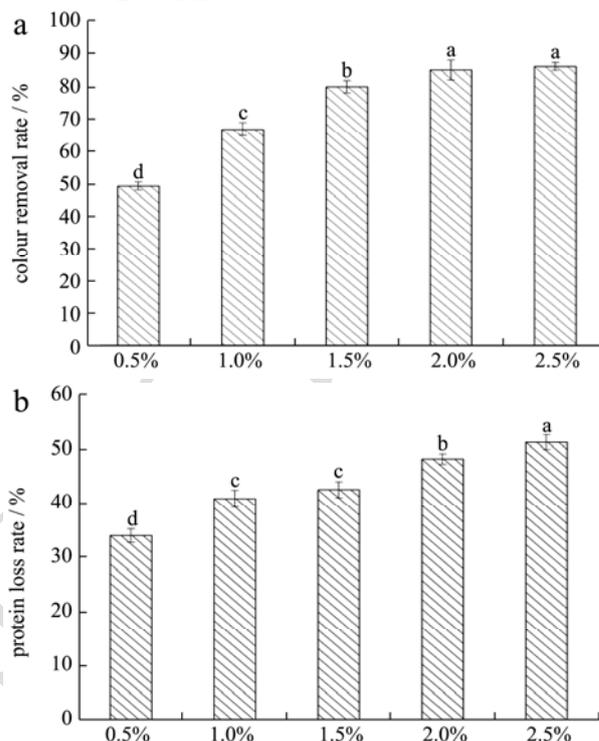


图4 活性炭用量对玉米蛋白粉酶解液脱色率 (a)、蛋白回收率 (b) 的影响

Fig.4 The effects of quantity of activated carbon on decolorization rate (a), protein loss rate (b) of enzymatic hydrolysate

2.2.4 脱色玉米肽的抗氧化活性

表2 pH值对玉米肽抗氧化活性的影响

Table 2 The effects of pH on antioxidant activity of corn peptides

pH 值	DPPH 清除率/%	ABTS 清除率/(μmol TE/g)	ORAC 清除率/(μmol TE/g)
pH 3	47.00±0.75 ^e	527.93±26.72 ^f	488.02±35.42 ^f
pH 4	43.73±0.21 ^f	790.34±19.72 ^e	648.00±28.13 ^c
pH 5	44.98±0.57 ^g	858.57±51.08 ^d	802.34±34.58 ^c
pH 6	52.58±0.05 ^d	965.04±29.07 ^c	754.28±70.38 ^d
pH 7	62.41±0.54 ^b	1079.91±63.24 ^b	981.04±11.39 ^b
pH 8	55.28±0.11 ^c	847.60±10.35 ^d	701.87±28.14 ^d
未脱色玉米肽	93.11±0.08 ^a	1318.97±7.21 ^a	1192.39±49.19 ^a

由表2、表3和表4可知, 经活性炭脱色后, 玉米肽对DPPH的清除率、ABTS的清除率、ORAC的清除率均有不同程度的下降。由表2可以看出, 随着pH值的升高, 脱色玉米肽对DPPH的清除率、ABTS

的清除率、ORAC的清除率也有不同程度的升高, 可能是因为酸性条件下, 活性炭更容易吸附酶解液中的抗氧化物质。由表3可知, 脱色玉米肽的抗氧化活性随着温度的升高而降低, 可能因为升温有利于分子

的移动,从而加速吸附作用的进行。同时,升温至一定程度也会造成部分活性肽的失活,从而使抗氧化活性降低^[28]。由表4可知,随着活性炭用量的增加,脱色玉米肽对DPPH的清除率、ABTS的清除率、ORAC

的清除率呈下降趋势,与前人的报道一致^[29]。增加活性炭用量能够增加比表面积,使蛋白质损失增大,从而水解的蛋白肽减少,引起抗氧化性能的降低,所以活性炭用量对抗氧化性能的影响比较明显。

表3 温度对玉米肽抗氧化活性的影响

Table 3 The effects of temperature on antioxidant activity of corn peptides

温度	DPPH 清除率/%	ABTS 清除率/($\mu\text{mol TE/g}$)	ORAC 清除率/($\mu\text{mol TE/g}$)
30 °C	45.04±0.69 ^b	939.65±30.87 ^c	903.88±69.15 ^b
40 °C	44.16±0.19 ^c	1017.85±19.56 ^b	880.39±54.78 ^b
50 °C	44.60±0.20 ^c	941.13±27.32 ^c	824.38±18.09 ^c
60 °C	43.44±0.28 ^e	670.33±19.21 ^d	805.43±49.19 ^c
未脱色玉米肽	93.11±0.08 ^a	1318.97±7.21 ^a	1192.39±49.19 ^a

表4 活性炭用量对玉米肽抗氧化活性的影响

Table 4 The effects of quantity of activated carbon on antioxidant activity of corn peptides

活性炭	DPPH 清除率/%	ABTS 清除率/($\mu\text{mol TE/g}$)	ORAC 清除率/($\mu\text{mol TE/g}$)
0.5%活性炭	61.09±0.38 ^b	1108.74±46.43 ^b	937.35±38.92 ^b
1%活性炭	46.48±0.38 ^c	1011.99±22.16 ^c	883.97±12.12 ^c
1.5%活性炭	38.49±1.02 ^d	919.63±44.12 ^d	805.61±61.45 ^c
2%活性炭	33.19±0.38 ^e	858.36±17.89 ^e	582.62±34.78 ^d
2.5%活性炭	28.38±2.06 ^f	911.16±34.98 ^d	433.74±22.12 ^e
未脱色玉米肽	93.11±0.08 ^a	1318.97±7.21 ^a	1192.39±49.19 ^a

表6 玉米肽的水解氨基酸组成

Table 6 The composition of total amino acids in corn peptides

氨基酸	未脱色玉米肽/mol %	脱色玉米肽/mol %
Asp	3.35	4.85
Thr	3.47	2.98
Ser	6.12	5.09
Glu	15.02	16.05
Gly	2.39	3.17
Ala	13.44	12.63
Cys	1.21	0.46
Val	4.03	3.10
Met	1.07	1.62
Ile	5.49	3.18
Leu	13.29	15.94
Tyr	2.11	1.42
Phe	5.39	3.77
His	0.99	1.83
Lys	1.17	0.89
Arg	2.33	3.93
Pro	19.13	18.09
综合	100.00	100.00

2.3 脱色玉米肽的乙醇脱氢酶 (ADH) 激活率

由表5看出,玉米蛋白粉酶解液经活性炭脱色后,ADH 激活率降低,脱色前玉米肽对ADH的激活率为60.12%,脱色后玉米肽对ADH的激活率为48.74%。活性炭用于玉米酶解液的脱色,不仅吸附色素,而且会吸附一部分蛋白质、肽类等物质,可能因此造成了激活ADH酶的肽的损失,使得脱色玉米肽的ADH 激活率下降。

表5 玉米肽的乙醇脱氢酶激活率

Table 5 ADH activation rate of corn peptides

项目	未脱色玉米肽	脱色玉米肽
ADH 激活率/%	60.12±1.34	48.74±0.92

2.4 水解氨基酸组成

玉米肽由其独特的氨基酸组成,服用后快速吸收进入人体,提高血液中丙氨酸、亮氨酸的浓度,稳定乙醇代谢所需NAD⁺供应而实现促进乙醇代谢,从而达到解酒效果^[7]。马芝丽等^[30]人用高效液相色谱联用二级质谱鉴定玉米蛋白粉初级酶解物的结构,得到序列为Q-L-L-P-F的肽段,并进行反向合成,通过动物实验验证了该肽段具有显著的醒酒作用。

由表6可知,脱色玉米肽中亮氨酸的摩尔百分比

含量为 15.94%、丙氨酸摩尔百分比含量为 12.63%，与未脱色相比，亮氨酸含量升高，丙氨酸含量下降。丙氨酸、亮氨酸含量较高，尤其是亮氨酸含量高，有利于醒酒^[31]。此外脯氨酸对酒精代谢亦有正面作用^[32]。活性炭脱色后虽然丙氨酸含量下降了，但亮氨酸的含量升高了，说明脱色后的玉米肽仍具有一定的醒酒效果。

3 结论

本文以蛋白质回收率为指标，确定了加热和 α -淀粉酶作为玉米蛋白粉的前处理，提高玉米蛋白粉的酶解效率。以脱色率和蛋白质损失率为指标，通过单因素实验确定活性炭最优脱色条件。并通过对脱色后玉米肽抗氧化活性的考察，发现活性炭脱色后，玉米肽对 DPPH 的清除率、ABTS 的清除率、ORAC 的清除率均有不同程度的下降，但仍然保留较好的抗氧化活性。对脱色玉米肽进行 ADH 激活率和水解氨基酸测定发现，其 ADH 激活率有一定程度的下降，但其仍含高含量的亮氨酸和丙氨酸，说明脱色后的玉米肽仍具有醒酒活性。本文研究为提高玉米蛋白粉的附加值提供了新的理论依据。

参考文献

- [1] 郭辉. 双酶法制备玉米肽及其醒酒保肝机理研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009
GUO Hui. Study on preparation, antialcoholism and hepatoprotection mechanisms of corn peptides by two kinds of enzymes [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009
- [2] 马艳秋, 郑喜群, 刘晓兰, 等. 玉米蛋白酶解物的解酒作用[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 191-195
MA Yan-qiu, ZHENG Xi-qun, LIU Xiao-lan, et al. Anti-alcoholism effects of corn protein hydrolysate [J]. Food Science, 2015, 36(1): 191-195
- [3] Zhuang Hong, Tang Ning, Dong Shuting, et al. Optimisation of antioxidant peptide preparation from corn gluten meal [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2013, 93(13): 3264-3270
- [4] 王永辉. 玉米蛋白肽基食品胶体输送体系的构建及应用[D]. 广州: 华南理工大学, 2016
WANG Yong-hui. Construction and application of corn protein peptides based food colloidal delivery system [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016
- [5] 王晓杰, 曲悦, 丛万锁. 玉米肽的抗氧化活性及其对熟猪肉糜脂质氧化抑制作用的研究[J]. 食品科技, 2018, 43(4): 251-256
WANG Xiao-jie, QU Yue, CONG Wan-suo. Antioxidant activity of maize peptides and its inhibition effect on lipid oxidation of cooked pork chop [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(4): 251-256
- [6] Yu Guo-cai, Li Jiang-tao, He Hei, et al. Ultrafiltration preparation of potent bioactive corn peptide as alcohol metabolism stimulator *in vivo* and study on its mechanism of action [J]. Journal of Food Biochemistry, 2013, 37(2): 161-167
- [7] Yamaguchi M, Nishikiori F, Ito M, et al. The effects of corn peptide ingestion on facilitating alcohol metabolism in healthy men [J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 1997, 61(9): 1474-1481
- [8] 隋玉杰. 玉米肽的制备条件及其醒酒护肝机理研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006
SUI Yu-jie. Study on preparation, antialcoholism and hepatic-protection mechanism of corn peptides [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2006
- [9] 郑明洋. 玉米高 F 值寡肽的制备及生理功能研究[D]. 济南: 济南大学, 2013
ZHENG Ming-yang. Preparation and physiological function of high F-value oligopeptides in maize [D]. Jinan: Jinan University, 2013
- [10] Miyagi A, Nabetani H, Nakajima M. Decolourization of Japanese soy sauce using adsorption [J]. Journal of Food Engineering, 2013, 116: 749-757
- [11] Hélia M. Clark, Alves C C C, Franca A S, et al. Evaluation of the performance of an agricultural residue-based activated carbon aiming at removal of phenylalanine from aqueous solutions [J]. Food Science and Technology, 2012, 49(1): 155-161
- [12] Xiao C, Zheng L, Su G, et al. Effect of solution pH and activated carbon dosage on the decolourization ability, nitrogen components and antioxidant activity of peanut meal hydrolysate [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2014, 49(12): 2571-2577
- [13] Sirous N, Fouad H, Max L. Adsorption of aromatic compounds by activated carbon: effects of functional groups and molecular size [J]. Adsorption Science & Technology, 2002, 20(1): 1-15
- [14] 王晓杰, 郑喜群, 刘晓兰. 预处理方法对玉米醒酒肽有效成分的影响[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(6): 8-11
WANG Xiao-jie, ZHENG Xi-qun, LIU Xiao-lan. The effect of the pretreatment methods on the effective components in

- corn sober peptide [J]. Food Research and Development, 2012, 33(6): 8-11
- [15] 韩及华.玉米醇溶蛋白的脱色技术研究[D].镇江:江苏大学,2016
HAN Ji-hua. Study on decolorization technology of zein [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2016
- [16] You L, Zhao M, Joem R, et al. Changes in the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion [J]. Food Chemistry, 2010, 120(3): 810-816
- [17] Wang S, Su G, Zhang Q, et al. Walnut (*Juglans regia*) peptides reverse sleep deprivation-induced memory impairment in rat *via* alleviating oxidative stress [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(40): 10617-10627
- [18] 郑淋.抗氧化肽的构效关系及定向制备的研究[D].广州:华南理工大学,2015
ZHENG Lin. Structure-activity relationship and directional preparation of antioxidant peptide [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015
- [19] Xiao C, Zhou F, Zhao M, et al. Chicken breast muscle hydrolysates ameliorate acute alcohol-induced liver injury in mice through alcohol dehydrogenase (ADH) activation and oxidative stress reduction [J]. Food & Function, 2018, 9(2): 774-784
- [20] 李露芳,赵谋明,张佳男,等.不同底物浓度花生粕酶解产物特性的研究[J].现代食品科技,2017,33(11):83-88
LI Lu-fang, ZHAO Mou-ming, ZHANG Jia-nan, et al. Characteristics of enzymatic hydrolysis of defatted peanut meal with different substrate concentrations [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(11): 83-88
- [21] 权文吉.酸性蛋白酶水解玉米蛋白粉的研究[D].大连:大连理工大学,2007
QUAN Wen-ji. Study on hydrolysis of corn protein powder by acid protease [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2007
- [22] 张明振,蒋竹青,李博,等.玉米黄粉蛋白酶解预处理研究进展[J].济南大学学报(自然科学版),2014,28(3),53-58
ZHANG Ming-zhen, JIANG Zhu-qing, LI Bo, et al. Recent advances in pretreatment of enzymatic hydrolysis of corn gluten meal [J]. Journal of University of Jinan (Sci. & Tech.), 2014, 28(3): 53-58
- [23] 任晓锋.扫频超声预处理对玉米醇溶蛋白特性及其酶法制备 ACE 抑制肽的影响[D].镇江:江苏大学,2014
REN Xiao-feng. Effects of swept ultrasonic pretreatment on the characteristics of zein and its enzymatic preparation of ace inhibitory peptides [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2014
- [24] 刘鹏.低分子量促乙醇代谢玉米肽制备与蛋白成分对活性贡献关系研究[D].广州:华南理工大学,2015
LIU Peng. Preparation of corn originated low-molecular-weight peptides with anti-alcoholism activity and contribution of different protein components to activity [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015
- [25] Nouri S, Haghseresht F, Lu M. Adsorption of aromatic compounds by activated carbon: Effects of functional groups and molecular size [J]. Adsorption Science & Technology, 2002, 20(1): 1-15
- [26] 马广亮,董英,徐斌.玉米胚的活性炭脱色工艺研究[J].食品科技,2007,32(2):261-264
MA Guang-liang, DENG Ying, XU Bing. Study on decolorization process of activated carbon from corn borer [J]. Food Science and Technology, 2007, 32(2): 261-264
- [27] 章绍兵,甘晓露,龚琴.花生蛋白酶解液的活性炭脱色工艺研究[J].河南工业大学学报(自然科学版),2011,32(2):10-14
ZHANG Shao-bin, GAN Xiao-lu, GONG Qin. Study on decolorization process of activated carbon from peanut protease [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2011, 32(2): 10-14
- [28] Sessa D J, Palmquist D E. Effect of heat on the adsorption capacity of an activated carbon for decolorizing/deodorizing yellow zein [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(14): 6360-6364
- [29] 邓丹雯,周武,张彬.变色基酒的脱色实验研究[J].江西食品工业,2002,3:11-12
DENG Dan-wen, ZHOU Wu, ZHANG Bin. Experimental study on decolorization of color-changing wine [J]. Jiangxi Food Industry, 2002, 3: 11-12
- [30] Ma Z L, Zhang W J, Yu G C, et al. The primary structure identification of a corn peptide facilitating alcohol metabolism by HPLC-MS/MS [J]. Peptides, 2012, 37(1): 138-143
- [31] 李丹,李晓磊,李荣和.玉米和大豆短肽的自由基清除活性与还原力的对比研究[J].食品工业科技,2008,29(8):71-73
LI Dan, LI Xiao-lei, LI Rong-he. Comparative study on free radical scavenging activity and reducing power of corn and soybean short peptides [J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 29(8): 71-73