

发芽处理对玉米醇溶蛋白结构、热特性及乳化特性的影响

刘立鹏, 方晓敏, 姜鑫, 修琳, 蔡丹*, 刘景圣

(吉林农业大学食品科学与工程学院 小麦和玉米深加工国家工程研究中心 长春 130118)

摘要 为明确不同发芽处理时间对玉米籽粒中醇溶蛋白结构及特性的影响,以发芽处理不同时间的玉米籽粒中的玉米醇溶蛋白为研究对象,采用傅里叶红外衍射技术、X-射线衍射、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳、差示热量扫描、游离巯基和二硫键分析发芽过程中玉米醇溶蛋白二级结构、结晶性、巯基、二硫键、热特性和乳化特性的变化。结果表明,发芽处理后的玉米醇溶蛋白的二级结构 α -螺旋和 β -转角结构分别降低了8.05%和9.08%,而 β -折叠含量提升了4%~23%,同时发芽后蛋白二硫键发生断裂,游离巯基含量显著升高($P<0.05$)。发芽后蛋白分子质量也发生变化,高分子质量蛋白条带向下偏移,低分子质量蛋白向上偏移且含量降低。X-射线衍射分析表明,发芽后玉米醇溶蛋白的结晶性发生改变,9°时的峰在发芽处理后趋于平缓。差示热量扫描结果显示,处理后的玉米醇溶蛋白的变性温度平均提高了6.43℃。发芽处理的玉米醇溶蛋白的乳化性和乳化稳定性均有所提高,乳化性指数在发芽72h时,提升了10.53 m²/g,且乳化稳定性指数在发芽时间60h时,与未发芽时相比提高了81.36 min。结论:适当的发芽处理可以修饰玉米醇溶蛋白结构,进而改善理化特性。

关键词 发芽;玉米醇溶蛋白;二级结构;热特性;乳化特性

文章编号 1009-7848(2024)07-0252-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.07.025

玉米(*Zea mays* L.)是世界三大粮食作物之一,同时是重要的蛋白饲料,其单产高,潜力大,在农业中占有十分重要的地位^[1]。玉米中的蛋白质主要为4类:清蛋白、球蛋白、谷蛋白和醇溶蛋白。其中醇溶蛋白含量占总蛋白含量的50%以上^[2]。玉米醇溶蛋白是一种独特的植物蛋白,其不溶于水,可以溶解在60%~90%的醇溶剂、强碱性溶液以及高浓度尿素中^[3]。由于玉米醇溶蛋白独特的结构以及氨基酸组成,使其营养和加工特性受到影响,限制了其应用。

研究发现,发芽可以显著提高玉米中粗蛋白、还原糖、 γ -氨基丁酸(GABA)、维生素和矿物质的含量,在一定程度上调节谷物的营养结构,提高碳水化合物和蛋白质等营养素的生物利用率^[4]。因此,发芽被认为是一种增强谷物营养价值和消化性的方法^[5]。葛云等^[6]研究了发芽糙米醇溶蛋白在发芽前、后的变化,糙米发芽后醇溶蛋白的二硫键含量随着发芽时间的延长明显降低。Medhe等^[7]发现豇豆种子经发芽处理后,蛋白的乳化性提高了

20%左右。张浩^[8]研究花生发芽后,蛋白的二硫键含量不断上升,并在84h达到最大值。徐磊^[9]研究了发芽对薏米营养的影响,其使薏米蛋白分解为一些多肽和氨基酸,同时一些可溶性蛋白被分解为低分子蛋白,蛋白的显著降解有助于提高薏米蛋白的消化性。也有研究指出,发芽可以提升豆类植物的总蛋白含量,并有效提高蛋白质质量^[10]。然而,对发芽过程中玉米醇溶蛋白结构以及乳化特性的报道相对较少。

本文以玉米(吉单66)为研究对象,探究玉米在不同发芽时间(0,12,24,36,48,60,72h)的玉米醇溶蛋白结构的变化。采用傅里叶红外、X-射线衍射、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳和差示量热扫描等技术研究发芽时间对玉米醇溶蛋白的二级结构、结晶性、分子质量分布、游离巯基含量、二硫键含量、乳化性能和热特性的影响,并探讨不同发芽时间的玉米醇溶蛋白结构对热特性的影响,为发芽处理应用于玉米食品加工提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

马齿型玉米吉单66(2021年10月份成熟采摘),取自小麦和玉米深加工国家工程试验中心;75%乙醇、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氢氧化钠、稀

收稿日期:2023-07-10

基金项目:吉林省中青年科技创新创业卓越人才(团队)项目(创新类)(20230508014RC)

第一作者:刘立鹏,男,硕士生

通信作者:蔡丹 E-mail: dan1980623@163.com

盐酸、Tris、Buffer、Marker、SDS、EDTA、尿素、5,5'-二硫代双、亚硫酸钠均为分析纯级。

1.2 仪器和设备

德国 Binder 生长箱, 瑞汇企业有限公司; D-IB-50 冷冻干燥机, 北京博医康仪器有限公司; Allegra X-30R Centrifuge 型离心机, BECKMAN COULTER; VERTEX 70 傅里叶红外光谱仪, 美国 Bruker 公司; D8 DISCOVER X-射线衍射分析仪, 无锡泰瑞达仪器科技有限公司; FLUO star Omega 全自动多功能酶标仪, 德国 BMGLabtech; FD-IB-50 冷冻干燥机, 北京博医康仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 玉米的发芽处理 参考徐建国^[14]的发芽方法, 选取玉米籽粒, 要求颗粒饱满, 无霉变, 破损和其它杂质, 取适量种子, 0.1% NaClO 溶液浸泡消毒 15 min; 用去离子水冲洗干净, 之后在蒸馏水中冲洗浸泡 6 h, 在 25 °C, 75% 空气湿度的培养箱中发芽。

发芽后 12, 24, 36, 48, 60, 72 h 分别取样, 样品用蒸馏水冲洗干净, 45 °C 下烘至含水量 (14±2)%。密封于塑料袋内, 置于 4 °C 保存待用。

1.3.2 玉米醇溶蛋白的提取 称取 100 g 发芽玉米粉按 1:5 的比例与石油醚混合, 在室温条件下搅拌、浸泡 4 h 后, 抽滤, 通风晾干后, 放入 40 °C 烘箱中烘干至恒重, 得到脱脂玉米粉。

采用 Osborne 分级提取的方法提取玉米醇溶蛋白^[12]。取脱脂后的玉米粉按 1:8 的比例与蒸馏水混合 2 h 后除去上清液中的清蛋白, 向沉淀中按同样的比例加入 0.5 mol/L 的 NaCl 溶液混合 2 h 除去上清液中的球蛋白, 再向沉淀中加入 70% 的乙醇溶液与沉淀混合搅拌 2 h, 得到醇溶蛋白, 后旋转蒸发上清液中的乙醇, 剩下的固体冻干, 得到玉米醇溶蛋白。

1.3.3 蛋白质二级结构的测定 参考 Sofi 等^[13]的方法。对提取出的蛋白通过傅里叶红外色谱仪进行分析, 称取 0.2 g 干燥的溴化钾与 0.002 g 干燥样品, 以 100:1 的质量比在红外灯照射下均匀混合, 放入傅里叶红外色谱仪进行检测, 得到玉米醇溶蛋白的红外图谱。之后用软件 Peakfit V4.12 进行拟合分析。

1.3.4 蛋白质巯基和二硫键的测定

1.3.4.1 游离巯基的测定 参考罗明江等^[14]和黄莲燕等^[15]的方法。将 75 mg 的玉米醇溶蛋白与 1 mL 的 Tris-Gly 溶液混合, 并定容至 10 mL。取 1 mL 上清液与加入 4 mL 物质的量比为 8:5 的脲-盐酸胍溶液和 0.05 mL 的 4 mg/mL 的 Ellman 试剂, 在波长 412 nm 的吸光度下比色。游离巯基含量按式(1)计算。

$$-\text{SH}(\mu\text{mol/g}) = \frac{73.53 \times A_{412} \times D}{C} \quad (1)$$

式中: A_{412} 为在波长 412 nm 处的吸光度; D 为稀释倍数; C 为固形物含量, mg/mL。

1.3.4.2 二硫键的测定 取 1 mL 蛋白上清液与 0.05 mL β -巯基乙醇和 4 mL 物质的量比为 8:5 的脲-盐酸胍溶液进行混合。混合后在 25 °C 条件下保温 1 h, 随后加入 10 mL 12% 的三氯乙酸, 在 25 °C 条件下, 保温 1 h, 之后在 5 000 r/min 的条件下离心 10 min。离心后的沉淀用 12% 的三氯乙酸洗涤 2 次, 加入 10 mL 8 mol/L 的脲溶液进行溶解。溶解后加入 0.05 mL 4 mg/mL 的 Ellman 试剂在波长 412 nm 下比色, 测定总巯基含量。

$$-\text{S}-\text{S}- (\mu\text{mol/g}) = \frac{\text{SH}_T - \text{SH}_F}{2} \quad (2)$$

式中: SH_T 为总巯基含量, $\mu\text{mol/g}$; SH_F 为游离巯基含量, $\mu\text{mol/g}$ 。

1.3.5 X-射线衍射(XRD)分析 参考 Ahammed 等^[16]和 Liu 等^[17]的方法。干燥的玉米醇溶蛋白由 X-射线衍射仪测定发芽对玉米醇溶蛋白结构的影响。X-射线衍射分析仪以铜为靶材。管电压 40 kV, 管电流 40 mA, 样品扫描范围为 5°~80°, 扫描速率 10 s/step, 步长为 0.0167°。

1.3.6 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-gelelectrophoresis, SDS-PAGE) 参考 Sahni 等^[18]的方法。称取不同发芽时间的玉米醇溶蛋白 5 mg, 加入 1 mL 的 2×buffer, 配成质量浓度为 5 mg/mL 的蛋白液。沸水浴 5 min 使蛋白变性。取 10 μL 溶液加入凝胶上样孔中, 配制分离胶浓度为 12%, 浓缩胶浓度为 4%。先调整电压为 80 V, 待蛋白跑完浓缩胶后, 调整电压为 120 V, 直至蛋白样品跑完后停止。跑完后用考马斯亮蓝 R-250 染色 50~60 min, 后用甲醇和冰乙酸的混合液脱色过夜(冰乙酸:甲醇:水=1:4:5)。脱完色的凝胶用一体式凝胶成像仪

成像。

1.3.7 玉米醇溶蛋白热特性测定 参考 Hosseini 等^[19]的方法略作修改。取干燥的玉米醇溶蛋白 3~5 mg 置于固体铝坩埚中。质量精确至 0.01 g, 升温速率为 10 °C/min, 扫描温度范围为 30~200 °C。测量 3 次, 特征值取平均值。

1.3.8 乳化性和乳化稳定性 参考 Guan 等^[20]的方法, 并略作调整。称取 50 mg 玉米醇溶蛋白冻干粉溶解在 15 mL 70% 的乙醇溶液中, 向溶液中加入 5 mL 大豆油, 用高速均质机在 12 000 r/min 的条件下均质 2 min。之后迅速从乳液底部吸取 100 μL 的液体注入到 5 mL 0.1% 的十二烷基硫酸钠溶液(SDS)中, 用酶标仪在波长 500 nm 下测定吸光度。乳液在室温条件下放置 10 min 后, 再从底部吸取 100 μL 的液体加入到 5 mL 0.1% 的 SDS 中, 测其吸光度 A_{10} , 用酶标仪在波长 500 nm 下测定吸光度。乳化性(EAI)和乳化稳定性(ESI)按式(3)和式(4)计算:

$$EAI(m^2/g) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{\varphi \times C \times L \times 10000} \quad (3)$$

$$ESI(\text{min}) = \frac{A_0 \times \Delta t}{A_0 - A_{10}} \quad (4)$$

式中: N 为稀释倍数; φ 为乳液中油的体积分数, %; C 为蛋白质的质量浓度, g/mL; L 为光程, 1 cm; Δt 为 10 min。

1.4 数据分析

使用 Origin 2019b 软件绘图, 采用 IBM 公司的 SPSS 23.0 软件对结果用单因素法进行显著性分析。 $P < 0.05$, 认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 发芽玉米醇溶蛋白二级结构的变化

图 1 为发芽的玉米中提取醇溶蛋白的红外光谱图。蛋白质的特征吸收谱带分为 1 600~1 700 cm^{-1} 的酰胺 I 带, 1 530~1 550 cm^{-1} 的酰胺 II 带和 1 260~1 300 cm^{-1} 的酰胺 III 带。其中酰胺 I 带的应用最广, 对于研究蛋白的二级结构来说最有价值^[21], 其中主要为 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角以及无规则卷曲。

由图 3 可知, 玉米醇溶蛋白二级结构主要是由 β -折叠和 α -螺旋组成, 二者的含量占到了二级

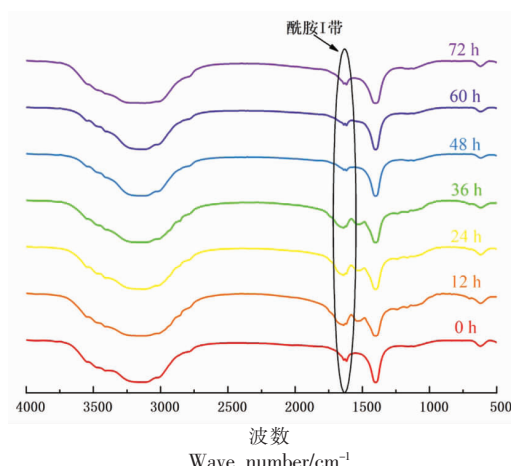


图 1 发芽玉米醇溶蛋白的傅里叶红外光谱图

Fig.1 Fourier transform infrared spectroscopy of germinated zein

结构相对含量的 50% 以上。之前有研究报道, α -螺旋和 β -折叠被认为是相对稳定的结构, 具有较强的有序性; 而无规则卷曲和 β -转角则相对无序^[22]。由图 2 可知, 随着发芽时间的延长, α -螺旋的含量随着发芽时间的延长有所降低, 发芽处理 72 h 时, α -螺旋含量比未发芽的玉米降低了 8%, β -转角在发芽过程中, 含量随发芽时间的延长而不断降低; 这说明玉米经过发芽处理后, 蛋白中 α -螺旋中的氨基酸残基的旋转结构被破坏, 使 α -螺旋的比例降低, 导致 β -折叠的比例增加。随着发芽时间的延长, β -折叠的相对含量主要呈升高的趋势, 经过发芽处理后的玉米与未发芽处理的原粮相比, β -折叠的含量有所提高, 发芽处理使 β -折叠的相对含量平均提高了 4%~23%, 这可能是因为在发芽过程中蛋白质分子内部的弱键被破坏, 导致蛋白的结构变得更加伸展, 从而引起蛋白质的二级结构发生变化^[23]。

这些结果说明, 玉米发芽过程是一个动态的变化过程, 玉米的发芽过程确实会引起玉米醇溶蛋白二级结构发生改变, 蛋白中 C-N 键的振动减弱, 导致蛋白酰胺 I 带的变化, 进而影响蛋白的结构和功能特性^[23]。

2.2 发芽玉米醇溶蛋白巯基和二硫键的变化

巯基和二硫键是蛋白中的重要基团, 二者均参与蛋白网状结构的组成。醇溶蛋白中的二硫键与面团的面筋网络结构和面团的内聚性和抗延展

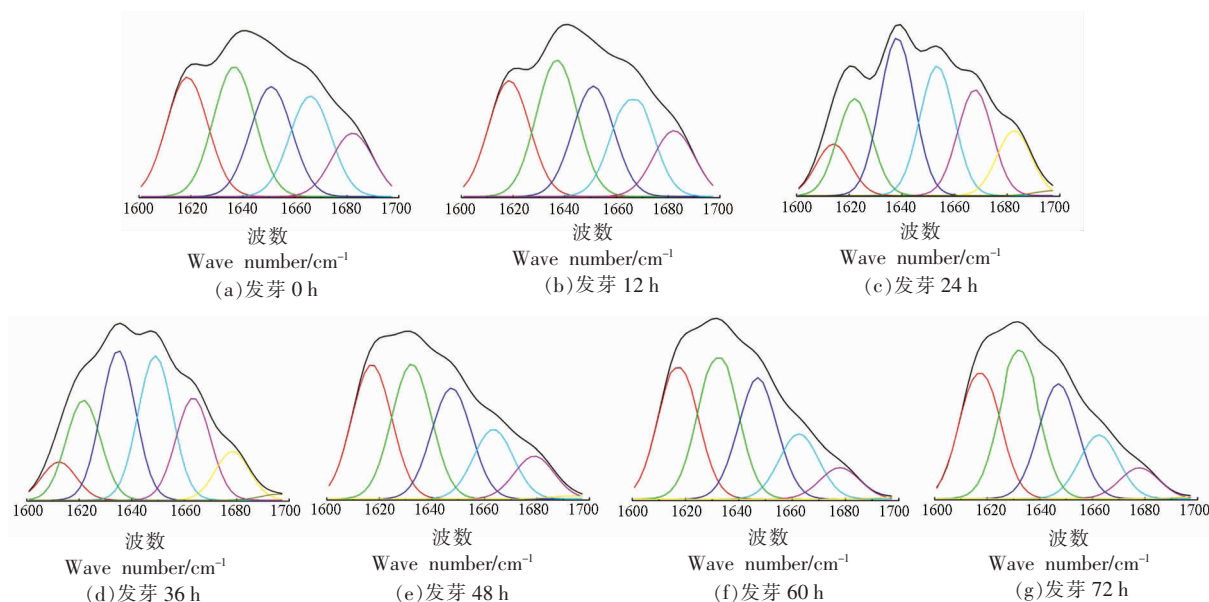


图 2 不同发芽时间的玉米醇溶蛋白在酰胺 I 带的分峰拟合图

Fig.2 Peak fitting diagram of zein in amide I band with different germination time

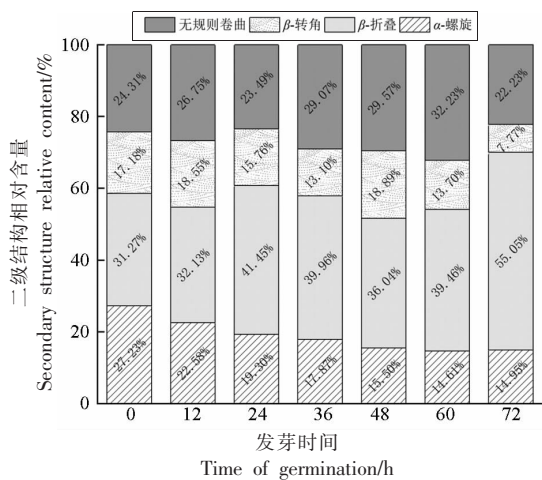


图 3 不同发芽时间的玉米醇溶蛋白二级结构相对含量

Fig.3 Relative contents of zein secondary structures at different germination times

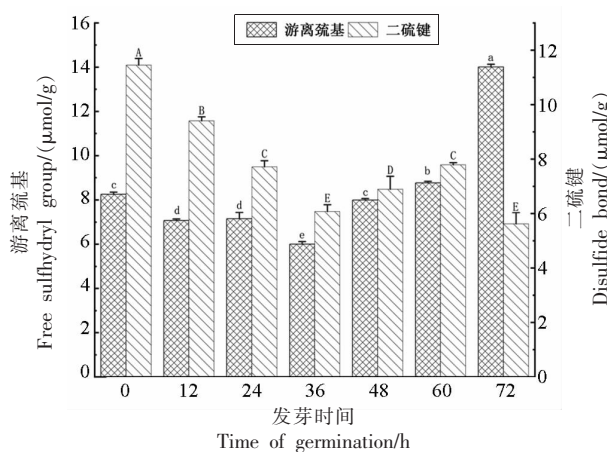


图 4 不同发芽时间处理下的游离巯基和二硫键的含量

Fig.4 Contents of free sulfhydryl groups and disulfide bonds under different germination times

性有关^[24],同时二硫键和游离巯基的相对丰度也常用来表征蛋白质的氧化程度^[25],因此二硫键对稳定醇溶蛋白的构象具有至关重要的作用。Singh等^[26]的研究表明,萌发可以通过增强植物中的储存蛋白动员来改变蛋白分子结构。玉米经发芽处理后,蛋白质不断地降解和合成,进而影响了蛋白质二硫键和巯基的含量,图4显示了玉米经发芽处理后总巯基和二硫键含量的变化,从图中数据

可以看出,在发芽过程中,玉米醇溶蛋白的巯基和二硫键是相互转化的。随着发芽时间的延长,玉米籽粒的呼吸作用增强,玉米籽粒内部发生复杂的化学变化,会破坏二硫键构建的结构,其含量总体呈下降趋势。同时,游离巯基的含量随发芽时间的延长,呈先减少后不断上升的趋势,在发芽时间到达60h之后,游离巯基含量显著增加,这可能与玉米发芽期间内部的呼吸作用以及氧化还原反应

有关。这表明在玉米发芽期间,玉米进行着巯基-二硫键的交换反应^[27],整体的二硫键含量下降,蛋白内部巯基暴露。Žilić等^[28]认为,游离巯基的含量与蛋白抗氧化能力存在一定关系。

2.3 发芽玉米醇溶蛋白的X-射线衍射分析

X-射线衍射法是测定生物大分子结构常用方法之一,它一般用来研究结构和功能之间的关系,也是蛋白构象分析中的经典方法之一^[29],X-射线衍射对玉米醇溶蛋白的固体形态分析如图5所示。玉米醇溶蛋白有2个尖峰,分别在 9° 和 21° 附近,这与 Hosseini 等^[19]的发现基本一致,且发芽前、后位置并没有发生变化,这表明玉米醇溶蛋白具有结晶性。在发芽后的12~48 h内,峰强度明显升高,并且在发芽时间达到48 h时,峰值达到最大值,此时峰宽最窄且峰值最高,这意味着此时的玉米醇溶蛋白有着最大的结晶度以及最完整的结晶区域,同时在该时间段内, 9° 左右时的峰比较明显。而当在48~72 h时,峰强度出现明显降低,在 9° 左右时的峰变得相对平缓,直至发芽72 h的玉米醇溶蛋白在 9° 左右时已趋于水平,衍射强度较弱,衍射峰呈现弥散特征,说明发芽72 h后的玉米醇溶蛋白的结构发生了明显变化,在 21° 时,峰强度在发芽48 h时有明显升高,而在发芽到72 h时,峰强度有所下降。

2.4 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)

由图6可知,玉米醇溶蛋白一共产生了3个亚基,分别是分子质量在40.0 ku附近的 γ -亚基,28.8 ku附近的 α -亚基和分子质量最小的 β -亚基。这说明对玉米进行的发芽处理并不会使玉米中玉米醇溶蛋白的亚基种类发生改变,然而条带位置发生了变化。玉米醇溶蛋白中含量最多的是 α -玉米醇溶蛋白亚基,占总醇溶蛋白含量的70%~75%以上^[2]。 γ -玉米醇溶蛋白的条带在经过发芽处理后,有向下迁移的趋势;而 β -醇溶蛋白亚基则在发芽后期有向上迁移的趋势,而且其条带颜色变浅,这说明玉米经发芽处理后,不同蛋白亚基的相对分子质量发生了变化,不同发芽时间的玉米的生长状况不尽相同,导致蛋白的表达有所差异。玉米醇溶蛋白是玉米中重要的储存蛋白之一,不同分子质量的蛋白质亚基分别参与到种子萌发过程中的代谢。推测是因为植物在发芽过程中,醇溶

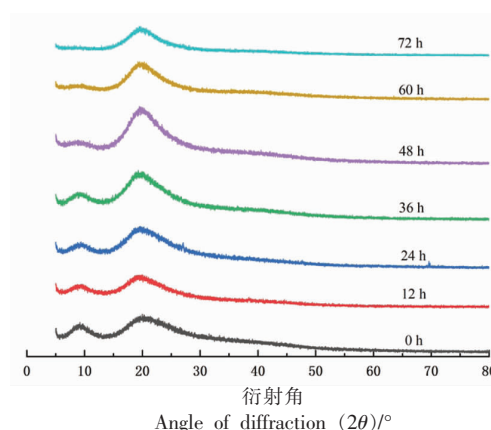
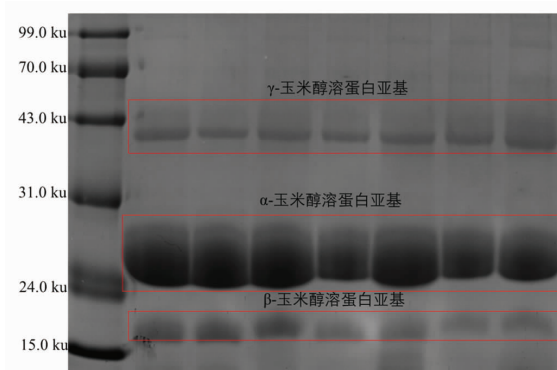


图5 发芽处理前、后的X-射线衍射图谱

Fig.5 X-ray diffraction pattern before and after germination treatment



注:泳道1:Marker;泳道2:未发芽;泳道3:发芽12 h;泳道4:发芽24 h;泳道5:发芽36 h;泳道6:发芽48 h;泳道7:发芽60 h;泳道8:发芽72 h。

图6 玉米发芽期间玉米醇溶蛋白的SDS-PAGE图

Fig.6 SDS-PAGE of zein during corn germination

蛋白的分解和合成是同时进行的。高分子质量蛋白和低分子质量蛋白之间的相互转化可能会使蛋白的结构以及功能性质发生变化。

2.5 发芽对玉米醇溶蛋白热特性的影响

T_p 以及 ΔH 是表示蛋白质对热稳定性的重要指标^[30],与蛋白的变性温度以及变性过程中的能量有着密切关系。从一定程度上反映了蛋白结构变化的过程^[31]。表1表示发芽处理不同时间,玉米醇溶蛋白的 ΔH 和 T_p 的变化。结果表明,玉米醇溶蛋白在发芽前、后的变性温度以及焓值都有显著差异,发芽处理提高了玉米醇溶蛋白的变性温度。 T_p 的提高说明玉米经发芽处理后醇溶蛋白的

热稳定性提高。 ΔH 表示双螺旋结构的无序, ΔH 增加表示蛋白中的螺旋结构的解离程度^[22]。随着发芽时间的延长, 玉米醇溶蛋白的 ΔH 不断降低, 并在发芽 72 h 后达到最低, 这说明发芽会使蛋白

结构变得无序松散, 这与先前傅里叶红外的结果一致, 这可能是由于发芽后期蛋白的网络结构被破坏, 导致玉米醇溶蛋白的高级结构解旋, 蛋白质分子结构展开。

表 1 发芽处理的玉米醇溶蛋白的热行为参数

Table 1 Thermal behavior parameters of germinated zein

发芽时间/h	$\Delta H/(J/g)$	熔融温度 $T_m/^\circ C$	峰宽/ $^\circ C$
0	67.01 \pm 4.53 ^d	152.16 \pm 0.90 ^c	69.91 \pm 1.19 ^a
12	62.21 \pm 7.87 ^d	155.40 \pm 0.68 ^c	56.62 \pm 2.06 ^{bc}
24	57.28 \pm 9.95 ^{cd}	171.48 \pm 0.73 ^a	73.83 \pm 6.16 ^a
36	52.27 \pm 6.02 ^{bcd}	137.50 \pm 0.22 ^d	51.51 \pm 2.27 ^c
48	48.15 \pm 3.86 ^{abc}	161.74 \pm 2.19 ^b	67.17 \pm 3.90 ^{ab}
60	42.34 \pm 7.21 ^{ab}	170.32 \pm 4.38 ^a	69.18 \pm 9.08 ^a
72	40.88 \pm 6.81 ^a	155.99 \pm 3.34 ^c	51.68 \pm 5.07 ^c

注: 同一列不同字母表示具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.6 乳化性及乳化稳定性的测定

蛋白质在油/水的混合物中充当乳化剂的作用, 吸附在油水界面中形成密集的乳化层。蛋白的乳化程度由乳化性 (EAI) 和乳化稳定性 (ESI) 决定。乳化性决定每克蛋白质可乳化的油量, 而乳化稳定性决定乳剂形成后可持续维持稳定状态的程度。二者在很大程度上受到蛋白质疏水残基和亲水残基的分布、构象稳定性以及蛋白分子在油/水混合物的展开容易程度的影响^[32]。如图 7 所示, 玉米醇溶蛋白的乳化性以及乳化稳定性均随着发芽时间的延长而增加, 这与张俊等^[33]的结果相似, 其

中乳化性在发芽时间达到 36 h 之后变化显著, 在发芽 36, 48, 60, 72 h 时, 蛋白乳化性分别提高了 7.83, 8.75, 6.98, 10.53 m^2/g 。在均质乳化过程中, 发芽时间更长的玉米醇溶蛋白发生了更高层次的去折叠变化, α -螺旋和 β -转角含量的降低以及 β -折叠含量的升高增大了蛋白与油/水界面接触的面积, 进而获得了更大的乳化性能^[34]; 发芽过程中导致的多肽链的解离和展开, 使氨基酸暴露出更多的疏水位点, 也可能是乳化性增强的原因^[35]。乳化稳定性的差异变化虽然在发芽处理后有所提高, 并且在发芽时间达到 36 h 后才显示出显著性差异 ($P < 0.05$), 在发芽时间到达 36, 48, 60, 72 h 时, 乳化稳定性分别提高了 32.64, 58.49, 81.36, 67.91 min。

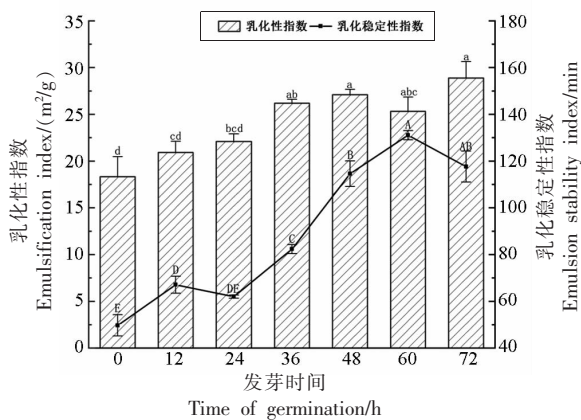


图 7 不同发芽时间下的玉米醇溶蛋白的乳化性和乳化稳定性

Fig.7 Emulsification and emulsification stability of zein at different germination times

3 结论

不同发芽时间确实会对玉米醇溶蛋白的结构、热特性以及乳化特性的影响存在差异。发芽可以使玉米醇溶蛋白的二级结构变得更加松散, 乳化性和乳化稳定性在发芽后期分别增强了 57.4% 和 1.63 倍。在发芽过程中, 二硫键发生断裂, 含量与未发芽时相比降低了 69.81%, 游离巯基含量相对升高, 与未发芽对照组相比, 提高到了未发芽时的 1.7 倍。玉米经萌发处理后, 玉米醇溶蛋白的热特性有升高的趋势, 大部分经处理后的玉米醇溶

蛋白变性温度有所提高。由此可见,发芽通过改变玉米醇溶蛋白的结构、热特性和乳化特性,为今后发芽处理应用于改善玉米食品加工特性,开发新型玉米食品奠定必要的理论基础。

参 考 文 献

- [1] 吴磊燕. 玉米醇溶蛋白改性、界面特性及成膜性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
WU L Y. Study on modification, interface properties and film formation of zein[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010.
- [2] 李琦, 葛思彤, 张士禹, 等. 玉米后熟期间醇溶蛋白结构和理化特征[J]. 食品科学, 2022, 43(18): 16-23.
LI Q, GE S T, ZHANG S Y, et al. Structure and physicochemical characteristics of glycine in maize during post-ripening[J]. Food Science, 2022, 43(18): 16-23.
- [3] SHUKLA R, CHERYAN M. Zein: The industrial protein from corn[J]. Industrial Crops and Products, 2001, 13(3): 171-192.
- [4] SAITHALAVI K M, BHASIN A, YAQOOB M. Impact of sprouting on physicochemical and nutritional properties of sorghum: A review[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2021(15): 4190-4204.
- [5] 徐广海, 姜常松, 张成冉. 发芽对普通玉米和糯玉米淀粉理化特性的影响[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(9): 40-46.
XU G H, JIANG C S, ZHANG C R. Effects of germination on physicochemical properties of common maize and waxy maize starch[J]. Journal of China Grain and Oil Sciences, 2020, 35(9): 40-46
- [6] 葛云, 吴凤凤, 李静, 等. 发芽糙米粉对米糕老化抑制作用的研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(11): 170-176.
GE Y, WU F F, LI J, et al. Study on inhibiting effect of germinated brown rice flour on aging of rice cake[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(11): 170-176.
- [7] MEDHE S, JAIN S ANAL A K. Effects of sprouting and cooking processes on physicochemical and functional properties of moth bean (*Vigna aconitifolia*) seed and flour[J]. Journal of Food Science and Technology, 2019(56): 2115-2125.
- [8] 张浩. 花生发芽过程中蛋白质结构和功能特性变化及其乳饮料开发的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
ZHANG H. Study on protein structure and functional characteristics of peanut during germination and development of milk beverage[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.
- [9] 徐磊. 发芽对薏米营养组成、理化特性及生物活性的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
XU L. Effects of germination on nutrient composition, physicochemical properties and biological activity of Job's Tears[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [10] OHANENYE I C, TSOPMO A, EJIKE C E C C. Germination as a bioprocess for enhancing the quality and nutritional prospects of Legume proteins[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 6(101): 213-222.
- [11] 徐建国. 燕麦发芽过程中主要营养、活性成分的动态变化及特性研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2011.
XU J G. Study on the dynamic changes and characteristics of main nutrients and active ingredients in oats during germination[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2011.
- [12] 张迎阳, 郑文武, 邹平, 等. Osborne法分级提取橄榄仁蛋白的结构及理化性质研究[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(5): 129-133.
ZHANG Y Y, ZHENG W W, ZOU P, et al. Study on structure and physicochemical properties of protein from olive kernel by Osborne method[J]. Grains and Oils, 2022, 35(5): 129-133.
- [13] SOFI S A, SINGH J, MUZAFAR K, et al. Effect of germination time on physicochemical, electrophoretic, rheological, and functional performance of chickpea protein isolates[J]. ACS Food Science & Technology, 2021(1): 802-812.
- [14] 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.
LUO M J, LUO C X, WU G X. Determination of sulfhydryl and disulfide bonds in protein by Ellman's reagent colorimetry[J]. Journal of Zhengzhou Grain University, 1986(1): 92-95
- [15] 黄连燕, 张小爽, 张慧娟, 等. 不同谷物麸皮对面团流变学特性及面筋蛋白结构的影响[J]. 食品科学,

- 2017, 38(23): 1-7.
- HUANG L Y, ZHANG X S, ZHANG H J, et al. Effects of different cereal bran on rheological properties and gluten protein structure of dough[J]. Food Science, 2017, 38(23): 1-7.
- [16] AHAMMED S, LIU F, KHIN M N, et al. Improvement of water resistance and ductility of gelatin film by zein[J]. Food Hydrocolloids, 2020 (105): 105804.
- [17] LIU C Z, LV N, REN G R, et al. Explore the interaction mechanism between zein and EGCC using multi-spectroscopy and molecular dynamics simulation methods[J]. Food Hydrocolloids, 2021 (120): 105804.
- [18] SAHNI P, SHARMA S, SURASANI K V R. Influence of processing and pH on amino acid profile, morphology, electrophoretic pattern, bioactive potential and functional characteristics of alfalfa protein isolates[J]. Food Chemistry, 2020(333): 127503.
- [19] HOSSEINI F, MIRI M A, NAJAFI M, et al. Encapsulation of rosemary essential oil in zein by electrospinning technique[J]. Journal of Food Science, 2021(86): 4070-4086.
- [20] GUAN X, YAO H Y, CHEN Z X, et al. Some functional properties of oat bran protein concentrate modified by trypsin[J]. Food Chemistry, 2007(101): 163-170.
- [21] MARTI A, BOCK J E, PAGANI M A, et al. Structural characterization of proteins in wheat flour doughs enriched with intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*) flour[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 994-1002.
- [22] GAO C X, WANG F Z, YUAN L, et al. Physicochemical property, antioxidant, and cytoprotective effect of the germinated soybean proteins[J]. Food Science & Nutrition, 2018, 7(1): 120-131.
- [23] YAN D, LI X, CHANG X W, et al. Impact of germination on structural, functional properties and in vitro protein digestibility of sesame (*Sesamum indicum* L.) protein[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 154: 112651.
- [24] XING B, ZHANG Z, ZHU M L, et al. The gluten structure, starch digestibility and quality properties of pasta supplemented with native or germinated quinoa flour[J]. Food Chemistry, 2022(399): 133976
- [25] ZHAO Q Y, LIN J H, WANG C, et al. Protein structural properties and proteomic analysis of rice during storage at different temperatures [J]. Food Chemistry, 2021(361): 130028.
- [26] SINGH A, SHARMA S, SINGH B. Effect of germination time and temperature on the functionality and protein solubility of sorghum flour[J]. Journal of Cereal Science, 2017(76): 131-139.
- [27] HIROYUKI Y, SHIGERU K, BUCHANAN B B. Disulfide proteome in the analysis of protein function and structure[J]. Proteomics, 2002, 2: 1090-1096.
- [28] ŽILIĆ S, JANKOVIĆ M, BARAĆ M, et al. Effect of enzyme activities during steeping and sprouting on the solubility and composition of proteins, their bioactivity and relationship with the bread making quality of wheat flour[J]. Food & Function, 2016 (7): 4323-4331.
- [29] 刘裕. 发芽绿豆和青稞宏量组分结构、理化性质及对面条品质的分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- LIU Y. Macrocomponent structure, physicochemical properties of germinated mung bean and highland barley and analysis of noodle quality[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019.
- [30] KAUSHIK P, DOWLING K, MCKNIGHT S, et al. Preparation, characterization and functional properties of flax seed protein isolate[J]. Food Chemistry, 2016(197): 212-220.
- [31] MA M T, REN Y J, XIE W, et al. Physicochemical and functional properties of protein isolate obtained from cottonseed meal[J]. Food Chemistry, 2018 (240): 856-862.
- [32] BRISHTI H F, CHAY Y S, MUHAMMAD K, et al. Effects of drying techniques on the physicochemical, functional, thermal structural and rheological properties of mung bean (*Vigna radiata*) protein isolate powder[J]. Food Research International, 2020 (138): 109783.
- [33] 张俊, 胡玲, 张三杉, 等. 不同发芽阶段高粱粉理化及功能特性的变化[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(6): 68-74.
- ZHANG J, HU L, ZHANG S S, et al. Changes of physicochemical and functional properties of sorghum flour at different germination stages [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(6): 68-74.
- [34] SHEVKANI K, SINGH N, KAUR A, et al. Struc-

- tual and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: A comparative study [J]. *Food Hydrocolloids*, 2015(43): 679–689.
- [35] MOHAMED M F. 发芽高粱及其与小麦混合粉面包的功能特性[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.

MOHAMED M F. The functional characteristics of germi-nated sorghum and its mixed wheat flour bread[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013.

Effect of Germinating Treatment on Structure, Thermal and Emulsifying Properties of Zein

Liu Lipeng, Fang Xiaomin, Jiang Xin, Xiu Lin, Cai Dan*, Liu Jingsheng

(College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, National Engineering Research Centre for Deep Processing of Wheat and Corn, Changchun 130118)

Abstract In order to clarify the effects of different germination treatment time on the structure and characteristics of zein in corn grains, this paper took zein in corn grains with different germination treatment time as the research object. Fourier infrared diffraction, X-ray diffraction, SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, differential thermal scanning, free sulfhydryl group and disulfide bond were used to analyze the secondary structure, crystallinity, sulfhydryl group, disulfide bond, thermal properties and emulsification properties of zein during germination. The results showed that the secondary structure α -helix and β -corner structure of zein after germination were decreased by 8.05% and 9.08%, respectively, while the β -fold content was increased by 4%–23%. Meanwhile, the disulfide bond was broken after germination, and the content of free sulfides was significantly increased ($P<0.05$). The molecular weight of proteins also changed after germination. The bands of high molecular weight proteins migrated downward, while the content of low molecular weight proteins migrated upward and decreased. X-ray diffraction analysis showed that the crystallinity of zein changed after germination, and the peak at 9° tended to be gentle at the later stage of germination. The DSC results showed that the denaturation temperature of zein was increased by 6.43°C on average. The emulsification and emulsification stability of the germinated zein were improved, and the emulsification index was increased by $10.53\text{ m}^2/\text{g}$ at 72 h of germination, and the emulsification stability index was increased by 81.36 min at 60 h of germination compared with that at no germination. The results showed that proper germination treatment could modify the structure of zein and improve its physicochemical properties.

Keywords germination; zein; secondary structure; thermal properties; emulsifying properties