

玉米肽抗氧化稳定性研究及其饮料的研制

刘萍*, 祁兴普, 姚芳, 张静, 刘靖

(江苏农牧科技职业学院食品科技学院, 泰州 225300)

摘要: 目的 探究加工条件和原辅料对玉米肽抗氧化活性的影响, 并优化玉米肽饮料的配方。**方法** 通过单因素、正交试验探究温度、蔗糖、柠檬酸、维生素 C(vitamin C, VC)和羧甲基纤维素对胃蛋白酶和嗜热菌蛋白酶水产物制得的分子量小于 1000 Da 的玉米肽活性的影响, 并优化玉米肽饮料的配方。**结果** 玉米肽具有较好的热稳定性, 在 100 °C 180 min 热处理条件下, 其 DPPH 自由基清除率可保持 88.79%; 蔗糖、柠檬酸和 VC 对玉米肽的 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼(1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基清除活性均有显著的增强作用, 羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose sodium, CMC)对玉米肽的 DPPH 自由基清除活性具有一定的抑制作用。玉米肽饮料的最佳配方为, 在玉米肽添加 2.5%的前提下, 蔗糖、柠檬酸、VC、CMC、添加量分别为 11%、0.4%、0.03%和 0.3%。**结论** 制得的玉米肽饮料具有良好的口感和抗氧化活性, 其 DPPH 自由基清除率为 84.7%($\sigma=1.31\%$)。

关键词: 玉米肽; 饮料; 抗氧化肽; 稳定性

Study on the antioxidant stability of corn peptide and the preparation of its beverage

LIU Ping*, QI Xing-Pu, YAO Fang, ZHANG Jing, LIU Jing

(School of Food Science and Technology, Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China)

ABSTRACT: Objective To explore the effects of processing conditions and raw materials on the activity of corn peptides, and optimize the formulation of corn peptide drinks. **Methods** The effects of temperature, sucrose, citric acid, vitamin C and carboxymethyl cellulose on the activity of corn peptide with a molecular weight less than 1000 Da were investigated by single factor and orthogonal experiment, and the formula of zeaxin beverage was optimized. **Results** The results showed that peptide exhibited strong thermal stability, it still showed 88.79% radical scavenging activities when it was heated to 100 °C for 180 min. The DPPH radical scavenging activity significantly increased when sucrose, citric acid, vitamin C were added and significantly inhibited when carboxymethyl cellulose was added. The optimal formulation of the corn peptide beverage has been found to be sucrose, citric acid, VC, CMC, and the addition amounts of 11%, 0.4%, 0.03%, and 0.3%, respectively, under the condition of 2.5% corn peptide addition. **Conclusion** The corn peptide drink has good taste and anti-oxidation activity. The DPPH free radical clearance rate is 84.7% ($\sigma=1.31\%$).

基金项目: 泰州市科技支撑计划项目(TN201606)、江苏省高职院校青年教师企业实践培训项目(2019QYSJ075)、院级课题(NSF201608、NSFPT201725)

Fund: Supported by Taizhou Science and Technology Support Plan (TN201606), Practical Training Project for Young Teachers in Higher Vocational Colleges of Jiangsu Province (2019QYSJ075), and College project (NSF201608, NSFPT201725)

***通讯作者:** 刘萍, 博士, 副教授, 主要研究方向为功能性食品。E-mail: 12404989@qq.com

***Corresponding author:** LIU Ping, Ph.D, Associate Professor, School of Food Science and Technology, Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China. Email: 12404989@qq.com

KEY WORDS: corn peptide; beverage; antioxidant peptide; stability

1 引言

玉米蛋白粉是在加工淀粉类产品的过程中等主要产品,其蛋白质含量为 65%左右,具有口感粗糙、难溶于水和氨基酸组成不平衡的特点。生物活性多肽是利用天然蛋白质经酶解或微生物发酵制得的一种能够对生物机体的生命活动产生有益作用或者生理作用的一类肽类化合物^[1]。利用玉米加工副产物生产玉米活性肽是当前一个研究热点,玉米肽在水液中溶解度大、安全可靠、无毒副作用、易消化吸收。玉米肽由于制作工艺不同,其分子量、氨基酸序列不同,呈现出了不同的功能活性,如:抗疲劳^[2]、促进乙醇代谢^[3]、有促进免疫^[4]、抗氧化^[5]、抗癌^[6]、降血压和降血脂^[7]等功能活性,因其广泛的来源和丰富的生物活性,是一种较理想的功能性食品原料和食品辅料,在食品工业中有广阔的应用前景。研究者对玉米肽的开发利用已有较多的探索,如利用玉米肽开发酸奶酪风味的低热量早餐饮料^[8]、蛹虫草玉米肽功能性饮料^[9]、玉米肽香肠^[10]和玉米肽蜂蜜饮料^[11]等产品。

已有的玉米肽饮料报道主要集中在饮料配方的研究,对产品中主要原辅料和工艺对其功能特性影响的研究较少。本文研究了热处理、蔗糖、柠檬酸、维生素 C(vitamin C, VC)和羧甲基纤维素对一种利用胃蛋白酶和嗜热菌蛋白酶水解制得玉米肽的抗氧化活性影响,并在此基础上开发一种具有抗氧化活性的玉米肽饮料,旨在为玉米肽的开发利用提供一种参考。

2 材料与方法

2.1 材料与设备

玉米肽(胃蛋白酶和嗜热菌蛋白酶水产物,分子量小于 1000 Da),实验室自制;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)(BR 级,美国 Sigma 公司);乙醇(上海国药集团化学试剂有限公司);柠檬酸、维生素 C 和羧甲基纤维素(carboxymethocel, CMC)(均为食品级,上海国药集团化学试剂有限公司)。

T6 型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 温度对玉米肽抗氧化活性的影响

配制浓度为 2.5%的玉米肽溶液,分别在 20、60、80、100 °C 水浴锅中保温 30、60、90、120、150、180 min,冷却至室温,测定其 DPPH 自由基清除率。

2.2.2 蔗糖添加量对玉米肽抗氧化活性的影响

配制浓度为 2.5%的玉米肽溶液,分别添加 0%、3%、

6%、9%、12%和 15%的蔗糖,在 100 °C 水浴锅中保温 60 min,冷却至室温,测定其 DPPH 自由基清除率。

2.2.3 柠檬酸和维生素 C 添加量对玉米肽抗氧化活性的影响

配制浓度为 2.5%的玉米肽溶液分为 2 组,1 组分别添加 0%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%和 0.5%的柠檬酸,另 1 组分别添加 0%、0.015%、0.03%、0.045%、0.06%和 0.075%的 VC,各组溶液均在 100 °C 水浴锅中保温 60 min,冷却至室温,测定其 DPPH 自由基清除率。

2.2.4 羧甲基纤维素对玉米肽抗氧化活性的影响

配制浓度为 2.5%的玉米肽溶液,分别添加 0%、0.3%、0.6%、0.9%、1.2%和 1.5%的羧甲基纤维素,在 100 °C 水浴锅中保温 60 min,冷却至室温,测定其 DPPH 自由基清除率。

2.3 正交试验设计

根据预试验结果,玉米肽添加量固定为 2.5%,100 °C 杀菌 60 min 条件下,采用 SPSS 数据处理软件设计 $L_9(3^4)$ 正交表,考察蔗糖、柠檬酸、VC 和 CMC 添加量对饮料口感和 DPPH 自由基清除能力的影响,筛选最佳产品配方。正交试验的因素水平如表 1 所示。

表 1 正交试验因素表
Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素			
	A 蔗糖/%	B 柠檬酸/%	C 维生素 C/%	D CMC/%
1	7	0.2	0.03	0.3
2	9	0.3	0.045	0.4
3	11	0.4	0.06	0.5

2.4 感官评分标准

选取 10 名接受过食品感官评价培训的学生,在室温条件下,以色泽、口感和风味为指标对玉米肽饮料进行感官评分,总分为 100 分,取平均值为饮料最终评分,评分标准如表 2 所示。

2.5 DPPH 自由基清除率的测定^[12]

向 10 mL 具塞比色管中加入样液 0.5 mL 和 95%的乙醇溶液 0.5 mL,混合后再加入含有 0.02% DPPH 的 95%的乙醇溶液 125 μ L,用蒸馏水定容至刻度线。同时做空白、对照组。将制备好的溶液放于阴暗处常温下 60 min。结束后用可见分光光度计在 517 nm 的波长下检测吸光值。自由基清除能力按下式计算:

$$X = \frac{A_1 + A_2 - A_3}{A_1} \times 100\%$$

式中:

X —DPPH 自由基清除率, %;

A_1 —不加入样品, 加入 DPPH 的乙醇溶液的吸光值;

A_2 —加入样品, 不加 DPPH 的乙醇溶液的吸光值;

A_3 —加入样品和 DPPH 后的乙醇溶液的吸光值。

表 2 感官评分表
Table 2 Sensory Score Table

项目	评分标准	感官评分
色泽(25分)	色泽呈淡乳白色, 在烧杯中对光观察呈透明状态	16~25
	色泽呈淡乳白色, 在烧杯中对光观察呈浑浊状态	8~16
	色泽呈乳白色, 在烧杯中对光观察有絮状物	0~8
口感(30分)	口感润滑, 饮料吞咽后口中感觉有一定的粘稠度	20~30
	口感润滑, 饮料吞咽后口中感觉无粘稠度	10~20
	口感无润滑度, 饮料吞咽后口中感觉有一定的湿度	0~10
风味(45分)	甜度适中, 酸甜可口, 无苦涩后味味	30~15
	略酸或略甜, 或有较淡的苦涩后味味	15~30
	过酸或过甜, 或有明显的苦涩后味味	0~15

3 结果与分析

3.1 温度对玉米肽抗氧化活性的影响

将玉米肽热处理 30~180 min, 其 DPPH 自由基清除率变化情况如图 1 所示, 随着处理时间的增加, 40 °C 和 60 °C 处理条件下, 其 DPPH 自由基清除率无显著性变化 ($P>0.05$), 在 80 °C 和 100 °C 分别热处理 180 min 条件下, 其 DPPH 自由基清除率均显著下降 ($P<0.05$), 分别为原来的 91.39% 和 88.79%。肽在高温条件下长时间热处理, 其抗氧化活性均有不同程度的降低, 这可能是由于小分子量的肽主要具有肽链一级结构及少量的二级结构, 不具有对热敏感的高级结构, 这决定了其对热处理敏感性较低, 对抗氧化活性影响较小, 因此, 用玉米肽制作功能性饮料时, 可耐受一定时间的高温处理。

3.2 蔗糖添加量对玉米肽抗氧化活性的影响

蔗糖添加量对玉米肽 DPPH 自由基清除率的影响如图 2 所示, 随着蔗糖添加量的增加, 其 DPPH 自由基清除率显著增加 ($P<0.05$), 与空白对照组相比, 当蔗糖添加量为 15% 时, 其 DPPH 自由基清除率显著增加 22.21%。这可

能是由于糖类和肽、氨基酸在加热过程中发生美拉德反应生成了的还原性产物, 在一定程度上增加了多肽的抗氧化性, 因此, 在玉米饮料加工过程中, 添加蔗糖作为甜味剂, 可协同增加其抗氧化活性。

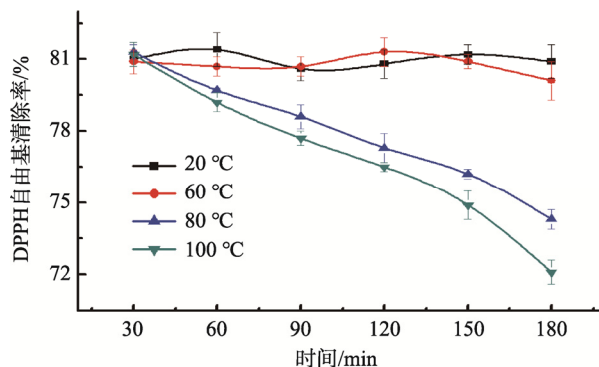


图 1 不同温度处理对玉米肽清除 DPPH 自由基清除率的影响 ($n=3$)

Fig.1 Scavenging effect of temperature on DPPH radical ($n=3$)

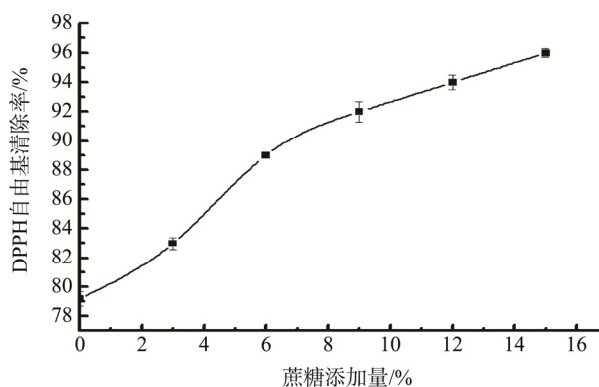


图 2 不同蔗糖添加量对玉米肽清除 DPPH 自由基清除率的影响 ($n=3$)

Fig.2 Scavenging effect of sucrose on DPPH radical ($n=3$)

3.3 柠檬酸和 VC 添加量对玉米肽抗氧化活性的影响

柠檬酸与 VC 2 种成分的水溶液均为酸性, 在酸性环境下, 可增加活性肽的抗氧化活性稳定性^[13]。柠檬酸对玉米肽抗氧化活性的影响如图 3 所示, 随着柠檬酸添加量的增加, 玉米肽溶液 DPPH 自由基清除活性显著增加 ($P<0.05$), 当柠檬酸添加量为 0.5% 时, 其 DPPH 自由基清除率增加 3.28%。柠檬酸对玉米肽的 DPPH 自由基清除活性的增效作用, 可能由于有机酸分子中的羟基结构有利于抗氧化剂的稳定, 多羟基结构可以螯合助氧化作用的金属离子, 因此表现出抗氧化的增效作用^[14]。VC 添加量对玉米肽 DPPH 自由基清除率的影响如图 4 所示, 随着 VC 添加量的增加, 玉米肽溶液 DPPH 自由基清除活性显著增加 ($P<0.05$), 当 VC 添加量为 0.08% 时, 其 DPPH 自由基清除率增加 18.31%。玉米肽 DPPH 自由基清除率活性增加的原

因,一方面是由于 VC 本身具有较强的抗氧化活性,另一方面,可能是由于玉米肽与 VC 具有协同抗氧化作用^[15]。

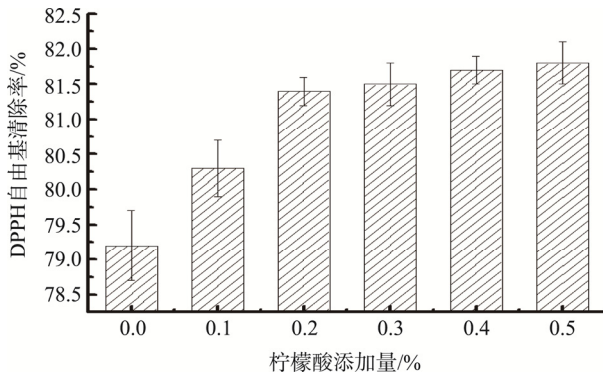


图3 柠檬酸添加量对玉米肽 DPPH 自由基清除率的影响($n=3$)

Fig.3 Scavenging effect of citric acid on DPPH radical ($n=3$)

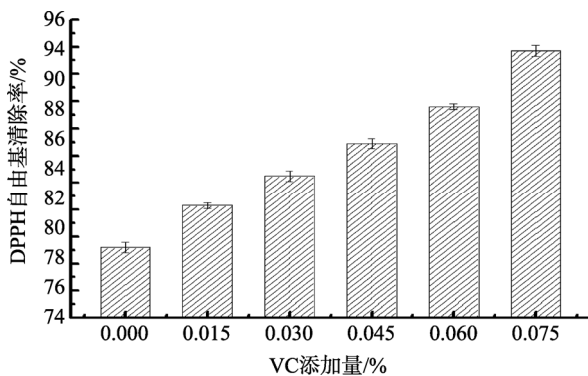


图4 VC 添加量对玉米肽 DPPH 自由基清除率的影响($n=3$)

Fig.4 Scavenging effect of VC on DPPH radical ($n=3$)

3.4 CMC 对玉米肽抗氧化活性的影响

CMC 是一类大分子多糖,常用在饮料中作为增稠剂使用,具有改善口感和风味的作用^[16]。CMC 添加量对玉米肽 DPPH 自由基清除率的影响如图 5 所示,随着羧甲基纤

维素钠的浓度增加,玉米肽对 DPPH 自由基的清除率显著下降($P<0.05$),当 CMC 添加量小于 0.9%时, DPPH 自由基的清除率缓慢下降,当添加量大于 0.9%时, DPPH 自由基的清除率快速下降,添加量为 1.5%时,其 DPPH 自由基清除率仅为 33.72%,与空白对照组相比,降低了 57.45%。这可能是由于 CMC 将玉米肽的活性部位覆盖或包裹,阻碍了其 DPPH 自由基的清除能力。

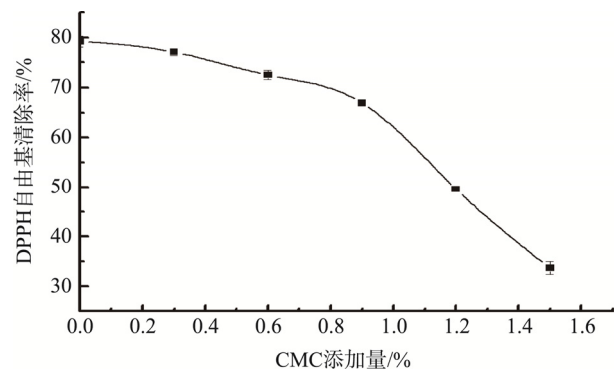


图5 CMC 添加量对玉米肽 DPPH 自由基清除率的影响($n=3$)

Fig.5 Scavenging effect of carboxymethyl cellulose on DPPH radical ($n=3$)

3.5 正交实验

玉米肽饮料配方正交试验结果如表 3 所示,各因素对饮料 DPPH 自由基清除能力大小为 $R_A > R_C > R_B > R_D$, DPPH 自由基清除能力最大配方为: $A_3B_1C_3D_1$ 。各因素对饮料的感官评分影响大小为 $R_B > R_A > R_C > R_D$,感官评分最高配方为: $A_2B_3C_1D_1$ 。正交试验方差分析如表 4 所示,由表可知:因素 A 和 C 对饮料清除 DPPH 自由基能力影响显著($P<0.05$),因素 B 和 D 影响不显著($P>0.05$)。因素 A、B 和 D 对饮料感官评分影响显著($P<0.05$),因素 C 影响不显著($P>0.05$)。综合考虑,选择 $A_3B_3C_1D_1$ 为玉米肽饮料最佳配方,即在玉米肽添加 2.5%的前提下,蔗糖、柠檬酸、VC、CMC、添加量分别为 11%、0.4%、0.03%和 0.3%。

表3 正交试验表 $L_9(3^4)$
Table 3 Orthogonal test table of $L_9(3^4)$

试验序号	A 蔗糖/%	B 柠檬酸/%	C VC/%	D CMC/%	E (DPPH 自由基清除率/%)	感官评分
1	3(11)	2(0.3)	1(0.03)	2(0.4)	77.3	82
2	2(9)	1(0.2)	2(0.045)	2	79.2	76
3	1(7)	2	2	3(0.5)	76.5	72
4	1	3(0.4)	3(0.06)	2	80.1	81
5	2	2	3	1(0.3)	83.6	85
6	3	3	2	1	87.9	89
7	1	1	1	1	78.4	81
8	2	3	1	3	77.2	91
9	3	1	3	3	89.1	78

续表 3

试验序号	A 蔗糖/%	B 柠檬酸/%	CV _c /%	D CMC/%	E(DPPH 自由基清除率/%)	感官评分
K ₁	78.3	82.2	77.6	83.3	DPPH 自由基清除率	
K ₂	80.0	79.1	81.2	78.9		
K ₃	84.8	81.7	84.3	80.3		
R	7.1	3.1	6.6	1.5		
K ₁	78.0	78.3	84.7	85.0	感官评分	
K ₂	84.0	79.7	79.0	79.7		
K ₃	83.0	87.0	81.3	80.3		
R	5.0	8.7	3.3	0.7		

表 4 正交试验方差分析
Table 4 Orthogonal test analysis of variance

	因素	III 型平方和	df	均方	F	Sig.
DPPH 自由基清除率	A	76.842	2	38.421	307.369	0.04
	B	18.121	2	9.06	72.482	0.083
	C	73.842	2	36.921	295.367	0.041
	D	29.492	2	14.746	117.967	0.065
	误差	0.125	1	0.125		
	感官评分	A	63.766	2	31.883	255.062
B		135.057	2	67.529	540.229	0.03
C		48.557	2	24.279	194.229	0.051
D		50.932	2	25.466	203.729	0.049
误差		0.125	1	0.125		

由于 $A_3B_3C_1D_1$ 不属于正交试验中任何一组, 因此采用该最佳条件制作玉米肽饮料进行验证, 结果表明, 采用该配方制得的制得的玉米肽饮料感官平均评分为 90 分, DPPH 自由基清除率为 84.7% ($\sigma=1.31\%$), 具有良好的口感和抗氧化活性。

4 结 论

以胃蛋白酶和嗜热菌蛋白酶水产物制得的分子量小于 1000 Da 的玉米肽抗氧化活性肽为研究对象, 考察了饮料加工中热处理和基本配料蔗糖、柠檬酸、维生素 C 以及羧甲基纤维素对其抗氧化活性影响规律。结果表明, 玉米肽具有较好的热稳定性, 在 60 °C 以下温度下, 热处理对其 DPPH 自有其清除率无显著影响, 100 °C 热处理 180 min 条件下, 其 DPPH 自由基清除率仍可保持原来的 88.79%; 蔗糖、柠檬酸和 VC 对玉米肽的 DPPH 自由基清除活性均有显著的增强作用。CMC 对玉米肽的 DPPH 自由基清除活性具有一定的抑制作用, 当添加量大于 0.9% 时, DPPH 自由

基的清除率快速下降, 添加量为 1.5% 时, 其 DPPH 自由基清除率仅为空白对照组的 57.45%。在此基础上, 通过正交试验确定了一种玉米肽饮料的最佳配方, 即玉米肽添加 2.5% 的前提下, 蔗糖、柠檬酸、VC、CMC、添加量分别为 11%、0.4%、0.03% 和 0.3%, 制得的玉米肽饮料具有良好的口感和抗氧化活性, 其 DPPH 自由基清除率为 84.7% ($\sigma=1.31\%$)。

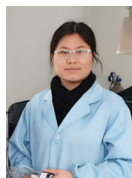
参考文献

- [1] Hainline KM, Fries CN, Collier JH. Progress toward the clinical translation of bioinspired peptide and protein assemblies [J]. *Adv Health Mater*, 2017, 7(5): 1700930.
- [2] 陈红漫, 杜国丰, 田秀艳, 等. 脱色素玉米活性肽对小鼠抗运动性疲劳的影响[J]. *江苏农业学报*, 2009, 25(3): 592-595.
Chen HM, Du GF, Tian XY, *et al.* Effect of depigmented corn active peptide on mice anti-exercise fatigue [J]. *Jiangsu J Agric Sci*, 2009: 592-595.
- [3] 何音华, 蔡丹, 盛悦, 等. 玉米活性肽的制备分析及其功能活性研究进展[J]. *食品工业*, 2018, 39(1): 234-236.

- He YH, Cai D, Sheng Y, *et al.* Research progress on preparation and functional activity of active peptides from maize [J]. *Food Ind*, 2018, 39(1): 234–236.
- [4] Zhu BY, He H, Hou TA. Comprehensive review of corn protein - derived bioactive peptides: Production, characterization, bioactivities, and transport pathways [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2019, 18(1): 329–345.
- [5] Jin DX, Liu XL, Zheng XQ, *et al.* Preparation of antioxidative corn protein hydrolysates, purification and evaluation of three novel corn antioxidant peptides [J]. *Food Chem*, 2016, 204(7): 427–436.
- [6] Li JT, Zhang JL, He H, *et al.* Apoptosis in human hepatoma HepG2 cells induced by corn peptides and its anti-tumor efficacy in H22 tumor bearing mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 51: 297–305.
- [7] Cavazos A, Elvira GDM. Identification of bioactive peptides from cereal storage proteins and their potential role in prevention of chronic diseases [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2013, 12(4): 364–380.
- [8] 金英姿. 玉米蛋白生物活性肽的开发[J]. *新疆师范大学学报(自然科学版)*, 2004, 23(2): 40–42.
Jin YZ. Development of bioactive peptides in corn gluten meal [J]. *J Xinjiang Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2004, 23(2): 40–42.
- [9] 朱振元, 刘雪蕊, 孙会轻, 等. 蛹虫草功能饮料稳定性的研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(7): 2914–2919.
Zhu ZY, Liu XR, Sun HQ, *et al.* Stability of cordyceps militaris functional beverage [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(7): 2914–2919.
- [10] 石丽梅, 唐学燕, 何志勇, 等. 玉米抗氧化肽对于中式香肠的氧化稳定性的影响[J]. *食品科技*, 2008, (10): 135–139.
Shi LM, Tang XY, He ZY, *et al.* The application of the antioxidative zein hydrolysate in Chinese sausages [J]. *Food Sci Technol*, 2008, (10): 135–139.
- [11] 方丽, 浦春, 曹威威, 等. 玉米肽饮料的研制[J]. *粮油加工*, 2010, (11): 128–142.
Fang L, Pu C, Cao WW, *et al.* Development of corn peptide beverage [J]. *Cereals Oils Process*, 2010, (11): 128–142.
- [12] 刘萍, 祁兴普, 战旭梅, 等. 休闲鱼肉粒的体外消化模拟及其产物抗氧化效果评价[J]. *食品与机械*, 2014, 30(6): 135–138.
Liu P, Qi XP, Zhan XM, *et al.* Simulation on in vitro digestion and evaluation on antioxidant evaluation to snack silver carp grain [J]. *Food Mach*, 2014, 30(6): 135–138.
- [13] 游丽君, 赵谋明, Regenstein J, 等. 加工和贮藏条件对泥鳅多肽抗氧化活性的影响[J]. *江苏大学学报(自然科学版)*, 2009, 30(6): 549–553.
You LJ, Zhao MM, Regenstein J, *et al.* Influence of processing and storage conditionson antioxidant activity of loach peptide [J]. *J Jiangsu Univ (Nat Sci Ed)*, 2009, 30(6): 549–553.
- [14] 王莹. 茶多酚的抗氧化和抑菌活性及其增效剂[J]. *生物学杂志*, 2007, 24(5): 54–56.
Wang Y. The anti-oxidation and anti-microbial activities of tea polyphenols and its increased reagents [J]. *J Biol*, 2007, 24(5): 54–56.
- [15] 张慧. 原花青素与维生素 C 的协同抗氧化作用的研究[J]. *山东化工*, 2016, 45(9): 24–25.
Zhang H. Study on synergistic effect of the original anthocyanin and vitamin C combination on antioxidant activity [J]. *Shandong Chem Ind*, 2016, 45(9): 24–25.
- [16] 徐姣. 草莓风味大豆蛋白饮料中配料对风味释放的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2017, 2–16
Xv J. Factors influencing the release of strawberry flavor in formulated soy beverage [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017, 2–16.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



刘萍, 博士, 副教授, 主要研究方向为功能性食品。

E-mail: 12404989@qq.com