

玉米糖肽的纳滤脱盐工艺

夏春荣, 王晓杰*, 曲悦

(齐齐哈尔大学 食品与生物工程学院/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)

摘要: 为了去除玉米糖肽溶液中过多的盐分, 采用相对分子质量 200 纳滤膜对具有抗氧化活性的玉米糖肽溶液进行脱盐处理, 通过对膜通量以及玉米糖肽溶液的 Na^+ 质量分数、脱盐率、电导率、短肽回收率和纳滤后产物自由基清除率和 Fe^{2+} -整合率等参数的研究, 确定玉米糖肽溶液的纳滤脱盐工艺。结果表明, 利用相对分子质量 200 纳滤膜对玉米糖肽溶液脱盐的工艺条件为: 在压力 2.0 MPa、温度 20 °C 条件下连续纳滤 5 次, 每次体积浓缩倍数为 2。经 5 次纳滤后, 玉米糖肽截留液的电导率降低 60.87%, 脱盐率和短肽回收率分别为 81.60% 和 96.97%, 羟自由基清除率从 11.25% 提高到 15.85%, 而 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基清除率和 Fe^{2+} -整合率分别降低 11.83% 和 46.07%。同时, 相对分子质量 200 纳滤膜还可以除去糖基化反应体系中 55.54% 未反应的 D-氨基葡萄糖, 起到脱盐、脱糖和浓缩的三重作用。

关键词: 纳滤; 玉米糖肽; 脱盐; 短肽回收率; 抗氧化活性

中图分类号: TS 239 文章编号: 1673-1689(2022)04-0012-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2022.04.002

Desalination of Zein Glycopeptides via Nanofiltration Membrane

XIA Chunrong, WANG Xiaojie*, QU Yue

(College of Food and Biological Engineering/Heilongjiang Key Laboratory of Corn Deep Processing Theory and Technology, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China)

Abstract: In order to remove the excessive salt from zein glycopeptide solution, the nanofiltration membrane with a molecular weight cut-off of 200 was applied for the desalination of antioxidant zein glycopeptide solution. The membrane flux, Na^+ mass fraction, desalination rate, electrical conductivity, recovery rate of short peptide of zein glycopeptide solution, and the free radical scavenging rate and Fe^{2+} -chelating activity of products after nanofiltration were studied to determine the nanofiltration desalination process of zein glycopeptides. The results showed that zein glycopeptides was desalted by a 200 nanofiltration membrane was carried out continuously for 5 times nanofiltration under 2.0 MPa at 20 °C with each nanofiltration volumetric concentration factor of 2. After 5 times of nanofiltrations, the electrical conductivity of retentate was decreased by 60.87%. The desalting rate and the recovery rate of short zein glycopeptide were 81.60% and 96.97%, respectively. The hydroxyl radical scavenging rate of desalted zein glycopeptide was increased from 11.25% to 15.85%, and the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging rate and

收稿日期: 2020-07-15

基金项目: 黑龙江省自然科学基金联合引导项目(LH2020C111); 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费青年创新人才科研项目(135509225)。

* 通信作者: 王晓杰(1980—), 女, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事粮食、油脂与植物蛋白工程研究。E-mail: wangxiaojie80@163.com

Fe²⁺-chelating activity were decreased by 11.83% and 46.07%, respectively. Moreover, the 200 nanofiltration membrane could remove 55.54% of unreacted *D*-glucosamine in the glycosylation reaction product, playing a triple role of desalination, desugarization and concentration.

Keywords: nanofiltration, zein glycopeptides, desalination, recovery rate of short peptide, antioxidant activity

转谷氨酰胺酶(TGase)在食品工业中被广泛应用,如乳品、肉类、烘焙食品等加工领域^[1]。根据酰基受体的不同,TGase可以催化3种类型反应:交联反应、脱酰基反应和酶法糖基化反应。在酶法糖基化反应中,由含有伯胺基团的糖作为酰基受体^[2]。目前,TGase催化的酶法糖基化反应已经成功应用于多种食物蛋白质和多肽的改性中,如酪蛋白、大豆蛋白质、鱼皮胶原蛋白肽、小麦谷蛋白肽等。与未糖基化的蛋白质和多肽相比,糖基化修饰产物的溶解性、表面疏水性、热稳定性等功能性质以及抗氧化和抗菌等生物活性均显著提高^[3-8]。因此,TGase途径的酶法糖基化反应在改善食物蛋白质和多肽功能性质方面显示出良好的应用潜力。

玉米糖肽是玉米蛋白质先经蛋白酶水解获得低相对分子质量玉米肽,再在TGase催化下与氨基糖共价结合的产物。在乙醇诱导的大鼠亚急性肝损伤模型中,与未糖基化的玉米肽相比,玉米糖肽显示出更高的拮抗酒精性肝损伤活性,在食品、医药、保健食品等领域显现出良好的应用前景^[9]。但是,在玉米糖肽的制备过程中,为了维持蛋白酶和TGase的催化活性,在玉米蛋白质的酶法水解和糖基化过程均会因调节酸碱度而引入大量的盐分,使玉米糖肽成为高盐食品。研究表明,食盐是造成高血压和心血管疾病的重要原因之一^[10],因此,玉米糖肽中过多的盐分会限制其作为保健食品及食品基料在食品工业中的应用。另外,糖基化反应体系中未反应的*D*-氨基葡萄糖还没有有效去除方法,尤其是没有适用于工业规模生产的去除方法。因此,为了促进玉米糖肽的开发与应用,需要从玉米糖肽中去除部分盐分和未反应的*D*-氨基葡萄糖。在众多适合生物活性物质的脱盐方法中,纳滤因具有对单价离子截留率低、操作成本低、适合工业规模扩大、不破坏被分离物质的生物活性,同时具有脱盐和浓缩于一体的效果等特点,已经成功应用于玉米肽、花生肽、鱼皮胶原肽等生物活性肽的脱盐处理,脱盐率

一般在42.56%~95.90%^[11-15]。另外,纳滤脱盐处理时,反应体系中糖的存在对氯化钠的截留率影响不大^[16],说明纳滤也适用于玉米糖肽的脱盐处理。

作者以*D*-氨基葡萄糖共价修饰玉米肽的产物玉米糖肽溶液为原料,以膜通量、电导率、脱盐率、短肽回收率以及纳滤后产物的自由基清除率和Fe²⁺-螯合率为测量指标,确定相对分子质量200纳滤膜对玉米糖肽抗氧化活性影响较小的纳滤脱盐工艺,同时考察纳滤对反应体系中未反应*D*-氨基葡萄糖的去除效果。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

TGase(酶活力1 000 U/g):泰兴市一鸣生物制品有限公司产品;3,5-二硝基水杨酸:天津市化学试剂厂制造;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH):日本TCI化成工业发展有限公司产品;*D*-氨基葡萄糖盐酸盐、菲洛嗪、硫代巴比妥酸、2-脱氧-*D*-核糖:上海生工生物制品有限公司产品;碱性蛋白酶(Alcalase, 6.28×10⁵ U/mL):丹麦诺维信公司产品;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

NDA701凯氏定氮仪:意大利VELP公司产品;相对分子质量200纳滤膜:GE公司产品;PC/PLCLD-53真空冷冻干燥机:美国MILLROCK公司产品;DDSJ-308A电导率仪:上海雷磁仪器厂制造;HYM-Multi-RN多功能实验分离机:厦门昊源膜科技有限公司产品;DF-II氮吹仪:江苏省金坛区医疗仪器厂制造;ICE3000原子吸收光谱仪:赛默飞世尔科技有限公司产品。

1.3 方法

1.3.1 玉米糖肽的制备 玉米醇溶蛋白在底物质量浓度5 g/dL、反应初始pH 8.5、温度60℃、Alcalase添加质量为底物质量3%条件下水解2.0 h。酶解结束后,酶解液经钝化蛋白酶、离心及冷冻

干燥后获得玉米肽^[9]。玉米肽在底物质量浓度 3 g/dL、玉米肽与 D-氨基葡萄糖的质量比 1:3、pH 7.7、TGase 加酶量 55 U/g(以玉米肽质量计)、温度 44 ℃条件下糖基化反应 7 h, 反应物经钝化 TGase 及离心后获得玉米糖肽溶液^[8]。

1.3.2 相对分子质量 200 纳滤膜操作温度和操作压力的确定 在操作时间均为 0.5 h 的条件下, 考察玉米糖肽溶液通过相对分子质量 200 纳滤膜时膜通量随操作温度和压力的变化规律, 以确定相对分子质量 200 纳滤膜处理玉米糖肽溶液时的操作温度和操作压力, 根据下式(1)计算膜通量。

$$F = \frac{V_p}{A \times t} \quad (1)$$

式中: F 为膜通量, L/(m²·h); V_p 为玉米糖肽溶液经相对分子质量 200 纳滤膜处理后收集的透过液的体积, L; A 为相对分子质量 200 纳滤膜的有效面积, 此处为 0.38 m²; t 为纳滤操作的时间, h。

1.3.3 玉米糖肽溶液相对分子质量 200 纳滤膜的脱盐工艺 参照作者所在课题组前期确定的玉米肽纳滤脱盐工艺^[17], 略有修改。在纳滤脱盐工艺中, 将玉米糖肽溶液的初始体积记为 V_0 , 纳滤的体积浓缩倍数固定为 2, 主要考察加水次数对玉米糖肽溶液脱盐效果的影响。第 1 次纳滤时, 玉米糖肽溶液经相对分子质量 200 纳滤膜脱盐、浓缩至体积 V_r ($V_r = 1/2V_0$), 分别收集透过液和截留液; 向截留液中加入蒸馏水至体积为 V_0 , 即加蒸馏水的体积与透过液的体积相同, 进行第 2 次纳滤, 重复纳滤操作 5 次, 通过不断循环达到脱盐的目的。

1) 电导率的测定 取 10 mL 每次纳滤结束后收集的透过液和截留液, 用经标准液校准的电导率仪测定电导率^[13]。

2) Na^+ 质量分数和脱盐率的测定 待测样品中的 Na^+ 质量浓度参照《食品安全国家标准 食品中钾、钠的测定》(GB 5009.91—2017) 中的火焰原子吸收光谱法测定, 并分别根据公式(2)和(3)计算 Na^+ 质量分数和脱盐率。

$$\omega = \frac{C_n}{C_0} \times 100 \quad (2)$$

$$S = \frac{C_a V_r}{C_n V_0} \times 100 \quad (3)$$

式中: ω 为 Na^+ 质量分数, %; C_0 为玉米糖肽溶液的蛋白质质量浓度, mg/L; C_n 为玉米糖肽溶液中 Na^+ 的质量浓度, mg/L; S 为脱盐率, %; C_a 为纳滤截留液中

Na^+ 的质量浓度, mg/L; V_0 为玉米糖肽溶液的体积, L; V_r 为纳滤截留液的体积, L。

3) 短肽回收率的测定 取每次纳滤结束的截留液, 采用 Folin-酚法^[18] 测定可溶性蛋白质含量, 根据公式(4)计算短肽回收率。

$$G = \left(1 - \frac{C_p V_p}{C_0 V_0}\right) \times 100 \quad (4)$$

式中: G 为短肽回收率, %; C_0 为玉米糖肽溶液中蛋白质的质量浓度, mg/L; C_p 为纳滤透过液中蛋白质的质量浓度, mg/L; V_0 为玉米糖肽溶液的体积, L; V_p 为纳滤透过液的体积, L。

4) D-氨基葡萄糖质量分数的测定 采用 DNS 法测定 D-氨基葡萄糖的质量分数^[8]。取 0.01 g 待测样品和 2.5 mL 6 mol/L HCl 放于安瓿管中, 在氮气环境下于 100 ℃ 酸水解 7.5 h, 自然冷却至室温后将酸水解液过滤至 1.5 mL 离心管中。在 10 mL 比色管中分别加入 0.8 mL 滤过液、0.7 mL 6 mol/L 的 NaOH 和 1.5 mL 的 DNS 试剂, 摇匀, 沸水浴 5 min 使 3,5-二硝基水杨酸与还原糖生成棕红色的氨基化合物, 取出后立即冷却至室温, 向每支比色管中加入 1 mL 蒸馏水, 摇匀, 测定 540 nm 处的吸光度。以 0.7 mL 蒸馏水代替样品作空白。将测定的吸光度代入 D-氨基葡萄糖标准曲线, 计算出玉米糖肽中 D-氨基葡萄糖的质量分数(%)。

5) 抗氧化活性的测定 取每次纳滤结束加完蒸馏水的循环液进行冷冻干燥获得玉米糖肽粉, 参照《谷类、豆类粗蛋白质含量的测定 杜马斯燃烧法》(NY/T 2007—2011) 测定总蛋白质含量。在蛋白质质量浓度为 2 mg/mL 条件下, 参照文献[19]描述的方法测定每次纳滤脱盐处理后样品的自由基清除率和 Fe^{2+} -螯合率。

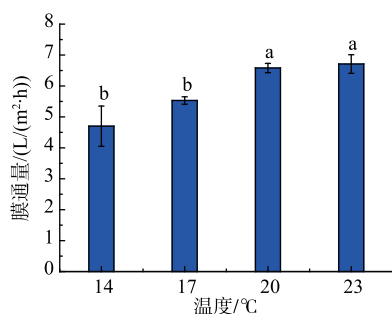
1.3.4 统计分析 纳滤脱盐实验重复 3 次, 结果以 $\bar{x} \pm \text{SD}$ 形式表示。采用 SPSS statistics 19.0 软件, 根据单因素方差(One-way ANOVA)方法对数据进行差异显著性分析, 采用 LSD 法进行组间多重比较, 以 $P < 0.05$ 为差异显著性水平。

2 结果与分析

2.1 不同操作温度对相对分子质量 200 纳滤膜膜通量的影响

在玉米糖肽溶液体积 6.4 L、压力 2.0 MPa、操作时间 0.5 h 的条件下, 考察玉米糖肽溶液通过相

对分子质量 200 纳滤膜时膜通量随操作温度的变化规律,结果如图 1 所示。在 14~20 °C 温度下,随着温度的升高,相对分子质量 200 纳滤膜的膜通量呈逐渐增大的变化趋势,这是因为操作温度的升高可以降低玉米糖肽溶液的黏度,增加溶质的扩散系数,使玉米糖肽溶液通过相对分子质量 200 纳滤膜时的阻力较小,纳滤膜的通量增加,进而分离性能提高^[12]。但是,当操作温度从 20 °C 升高至 23 °C 时,膜通量仅升高 1.98%,因此,从操作成本角度考虑,选择相对分子质量 200 纳滤膜处理玉米糖肽溶液的操作温度为 20 °C。



图中不同小写字母表示分析结果差异显著 ($P < 0.05$), 全文中的图注相同。

图 1 不同操作温度对膜通量的影响

Fig. 1 Effect of different operating temperature on membrane flux

2.2 不同操作压力对相对分子质量 200 纳滤膜膜通量的影响

操作压力作为纳滤分离的推动力,是影响纳滤膜通量和使用寿命的重要因素^[20]。在玉米糖肽溶液体积 6.4 L、温度 20 °C、操作时间 0.5 h 的条件下,考察玉米糖肽溶液通过相对分子质量 200 纳滤膜时膜通量随操作压力的变化规律,结果如图 2 所示。在纳滤操作条件一定时,操作压力对相对分子质量 200 纳滤膜的膜通量影响较大。当操作压力由 1.5 MPa 升高至 2.0 MPa 时,膜通量显著增大 ($P < 0.05$),可能由于操作压力的增大加快了相对分子质量 200 纳滤膜表面玉米糖肽溶液的流速,提高了纳滤膜对玉米糖肽的分离性能^[21];当压力从 2.0 MPa 升高到 2.5 MPa 时,膜通量虽然升高 9.44%,但与 2.0 MPa 时相比差异不显著 ($P > 0.05$),而在压力升高至 3.0 MPa 时,膜通量与 2.5 MPa 时相比显著增加 ($P < 0.05$)。但是,压力越高,在纳滤膜表面的截留

物越多,对纳滤膜的污染越严重^[15],而且压力越高,对纳滤膜的损伤越严重。因此,综合考虑纳滤膜的工作效率和损伤程度,选择玉米糖肽溶液纳滤脱盐的操作压力为 2.0 MPa。

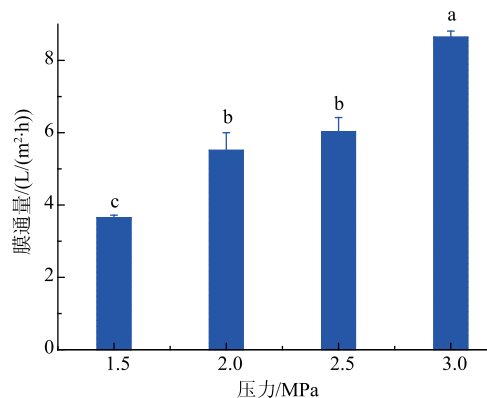


图 2 不同操作压力对膜通量的影响

Fig. 2 Effect of different operating pressure on membrane flux

2.3 相对分子质量 200 纳滤膜脱盐次数的确定

2.3.1 相对分子质量 200 纳滤膜脱盐次数对电导率和短肽回收率的影响 在温度 20 °C、压力 2.0 MPa 的条件下,玉米糖肽溶液按 1.3.3 工艺连续纳滤 5 次,考察截留液和透过液的电导率和短肽回收率随纳滤次数的变化情况,结果如图 3 所示。在图 3 (a)中,与未纳滤脱盐处理的玉米糖肽溶液相比,当纳滤次数从 1 次增加到 3 次时,截留液的电导率显著降低 ($P < 0.05$);但当纳滤次数从 4 次增加到 5 次时,截留液和透过液的电导率均没有显著性差异 ($P > 0.05$);纳滤 5 次后,截留液的电导率与未纳滤脱盐处理的玉米糖肽溶液相比下降了 60.87%,说明相对分子质量 200 纳滤膜 5 次纳滤对玉米糖肽溶液 ($P < 0.05$) 中的盐分有较好的透过性,能有效去除玉米糖肽溶液中过量的盐分。由图 3(b)可以看出,与未纳滤脱盐处理的玉米糖肽溶液相比,玉米糖肽溶液的短肽回收率随着纳滤次数的增加呈显著降低的变化趋势。经 5 次纳滤后,玉米糖肽溶液的短肽回收率为 96.97%,比纳滤前降低了 3.03%,说明在实验中采用的相对分子质量 200 纳滤膜和纳滤条件下,在脱盐的同时会有少量的蛋白质吸附在纳滤膜表面,使纳滤膜孔有一定程度的堵塞,同时也会有一部分相对分子质量小于 200 的蛋白质组分进入透过液而损失掉。

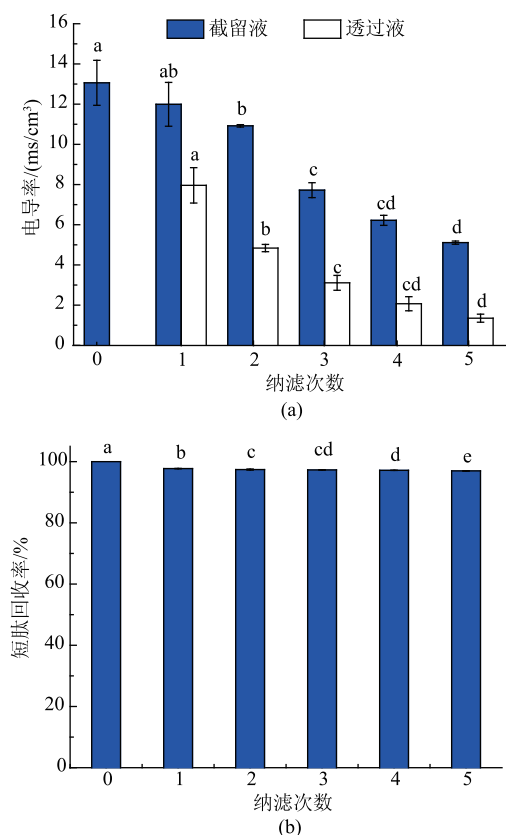
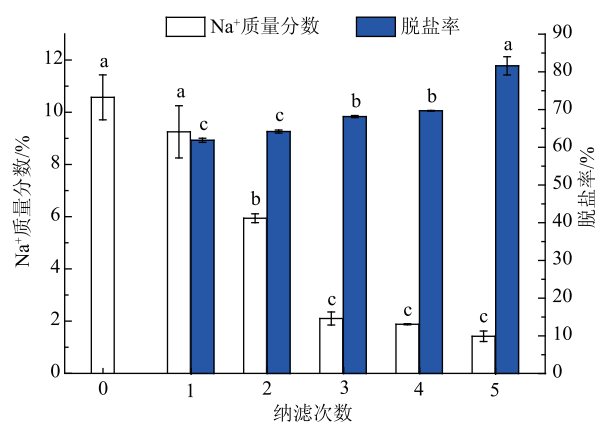


图3 纳滤次数对电导率和短肽回收率的影响

Fig. 3 Effect of nanofiltration times on electrical conductivity and recovery rate of short peptide

2.3.2 相对分子质量 200 纳滤膜脱盐次数对 Na⁺质量分数和脱盐率的影响 按照 1.3.3 部分的工艺,玉米糖肽溶液在温度 20 ℃、压力 2.0 MPa 条件下连续纳滤 5 次,考察纳滤次数对 Na⁺质量分数及脱盐率的影响,结果如图 4 所示。玉米糖肽溶液中 Na⁺的初始质量分数为 10.57%,这部分盐分是在玉米醇溶蛋白酶法水解和玉米肽酶法糖基化反应过程中,为了维持 pH 稳定滴加 NaOH 产生的。与未纳滤脱盐处理的玉米糖肽溶液相比,在连续纳滤 3 次后,Na⁺质量分数大幅度降低,降低了 80.13%;随后继续增加纳滤次数,Na⁺质量分数趋于稳定。玉米糖肽溶液的脱盐率与 Na⁺质量分数的变化规律相反,随着纳滤次数的增加呈逐渐增加的变化趋势,在连续纳滤 5 次后,玉米糖肽溶液的脱盐率达 81.60%。于国才等采用相对分子质量 160 和相对分子质量 360 的两种纳滤膜对具有醒酒活性的玉米肽进行浓缩,发现与相对分子质量 360 纳滤膜相比,相对分子质量 160 纳滤膜对 Na⁺具有较低的传质效率^[11],说明在纳

滤脱盐过程中,纳滤膜的孔径对脱盐率有很大影响。因此,可以在保证多肽的截留率的前提下,选择孔径大的纳滤膜提高脱盐率。另外,经过 5 次纳滤脱盐后,玉米糖肽溶液中仍含有 1.42% 的 Na⁺,这与 2.3.1 部分电导率的变化规律相一致。分析可能有两方面的原因,一是玉米糖肽分子中的羧基与 Na⁺以较强的静电引力结合;二是随着纳滤操作的连续进行,玉米糖肽在纳滤膜表面逐渐沉积,使纳滤膜的分离性能降低,在循环水量不增加的前提下,导致 Na⁺不能被完全脱除^[21]。因此,从节约成本角度考虑,采用相对分子质量 200 纳滤膜连续纳滤 5 次基本可以达到玉米糖肽溶液脱盐的目的。

图4 纳滤次数对 Na⁺质量分数和脱盐率的影响Fig. 4 Effect of nanofiltration times on Na⁺ mass fraction and desalination rate

2.3.3 相对分子质量 200 纳滤膜脱盐次数对玉米糖肽抗氧化活性的影响 以未纳滤脱盐处理的玉米糖肽为对照,研究相对分子质量 200 纳滤膜的纳滤次数对玉米糖肽抗氧化活性的影响,结果如图 5 所示。由图 5(a)可知,在蛋白质质量浓度均为 2 mg/mL 条件下,与未纳滤脱盐处理的玉米糖肽相比,随着纳滤次数的增加,玉米糖肽的 DPPH 自由基清除率呈逐渐降低的变化趋势,在纳滤 5 次后,玉米糖肽的 DPPH 自由基清除率降低 11.83%,但与未纳滤脱盐处理的样品相比差异不显著 ($P>0.05$);玉米糖肽的羟自由基清除能力呈逐渐增强的变化趋势,在连续纳滤 5 次后,玉米糖肽的羟自由基清除率从 11.25% 提高到 15.85%,可能是由于纳滤操作将玉米糖肽中的盐分有效脱除,抗氧化活性玉米糖肽的纯度增大,进而清除羟自由基的能力增强。于国才和 Bourseau 等的研究也发现纳滤脱盐可以增加脱盐产

物的羟自由基清除能力^[11,22]。

由图 5(b)可知,与未纳滤脱盐处理的玉米糖肽相比,经纳滤 1 次后,玉米糖肽的 Fe^{2+} -螯合率无显著变化,继续增加纳滤次数,玉米糖肽的 Fe^{2+} -螯合率显著降低后趋于稳定。在连续纳滤 5 次后,玉米糖肽的 Fe^{2+} -螯合率与未纳滤脱盐处理的玉米糖肽相比降低了 46.07%,分析可能有两方面的原因,一是部分具有螯合亚铁离子能力的玉米糖肽损失,二是玉米糖肽分子中捕获亚铁离子的结构被纳滤操作的剪切力所破坏。

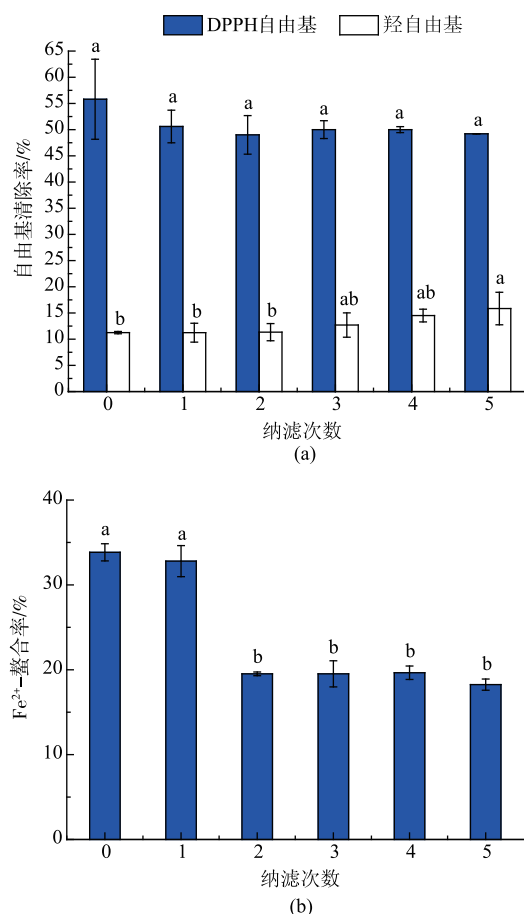


图 5 纳滤次数对羟自由基清除率和 DPPH 自由基清除率以及 Fe^{2+} -螯合率的影响

Fig. 5 Effect of nanofiltration times on hydroxyl and DPPH radicals scavenging rate as well as Fe^{2+} -chelating activity

2.4 相对分子质量 200 纳滤膜脱盐对玉米糖肽中 D -氨基葡萄糖质量分数的影响

在玉米糖肽溶液中存在未反应的游离 D -氨基葡萄糖,在实验室水平上可以采用相对分子质量

100~500 的透析膜去除^[8],但此方法处理时间长、处理量小,不适合大规模工业化生产,限制了玉米糖肽的进一步开发与应用。研究玉米糖肽中 D -氨基葡萄糖的质量分数随纳滤次数的变化,以表征纳滤脱盐对玉米糖肽的脱糖效果,结果见 6。随着纳滤次数的增加,玉米糖肽中 D -氨基葡萄糖的质量分数逐渐下降,但下降幅度较小,可能是 D -氨基葡萄糖的相对分子质量与采用的纳滤膜的截留相对分子质量接近导致的。在纳滤次数为 5 时,玉米糖肽中 D -氨基葡萄糖的质量分数为 27.03%,与纳滤前相比降低了 37.54%,与玉米糖肽中 D -氨基葡萄糖质量分数为 13.92%相比^[8],说明采用相对分子质量 200 纳滤膜脱盐时,可以将 55.54%的游离 D -氨基葡萄糖去除。以上结果说明玉米糖肽溶液通过相对分子质量 200 纳滤膜,可以起到脱盐、脱糖和浓缩三重功效,但还需要进一步对脱糖的工艺条件进行研究,以期简化玉米糖肽的制备工艺。

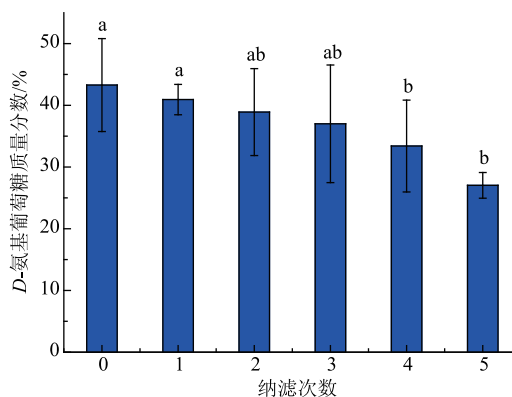


图 6 纳滤次数对玉米糖肽中 D -氨基葡萄糖质量分数的影响
Fig. 6 Effect of nanofiltration times on D -glucosamine content in zein glycopeptide

3 结 语

随着人民生活水平的提高,对食品健康的重视程度不断增加,玉米糖肽制备过程中为了维持蛋白酶和 TGase 稳定而引入的盐分会限制其作为保健食品及食品基料在食品工业中的应用。为了去除玉米糖肽中过多的盐分,采用相对分子质量 200 纳滤膜对其进行脱盐处理,确定了对玉米糖肽抗氧化活性影响较小的纳滤脱盐工艺参数:压力 2.0 MPa、温度 20 $^{\circ}\text{C}$ 、纳滤 5 次,每次体积浓缩倍数为 2。在此条件下,还可以除去反应体系中 55.54%未反应的 D -

氨基葡萄糖,起到脱盐、脱糖和浓缩的三重作用。在此基础上,需要进一步对纳滤膜脱除未反应 D-氨

基葡萄糖的工艺条件进行研究,以期简化玉米糖肽的制备工艺,促进玉米糖肽的工业化生产及应用。

参考文献:

- [1] KIELISZEK M, MISIEWICZ A. Microbial transglutaminase and its application in the food industry: a review[J]. *Folia Microbiologica*, 2014, 59(3): 241-250.
- [2] WANG X J, ZHENG X Q, LIU X L, et al. Preparation of glycosylated zein and retarding effect on lipid oxidation of ground pork [J]. *Food Chemistry*, 2017, 227(7): 335-341.
- [3] FU M, ZHAO X H. Modified properties of a glycated and cross-linked soy protein isolate by transglutaminase and an oligochitosan of 5 kDa[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2016, 97(1): 58-64.
- [4] 张英蕾, 尹彦洋, 姚鑫森, 等. 转谷氨酰胺酶催化的糖基化修饰对黑豆蛋白抗氧化活性的影响[J]. *中国食品添加剂*, 2019(2): 77-84.
- [5] ZHU C Y, WANG X P, ZHAO X H. Property modification of caseinate responsible to transglutaminase-induced glycosylation and crosslinking in the presence of a degraded chitosan[J]. *Food Science & Biotechnology*, 2015, 24(3): 843-850.
- [6] HONG P K, GOTTARDI D, NDAGIJIMANA M, et al. Glycation and transglutaminase mediated glycosylation of fish gelatin peptides with glucosamine enhance bioactivity[J]. *Food Chemistry*, 2014, 142: 285-293.
- [7] GOTTARDI D, HONG P K, NDAGIJIMANA M, et al. Conjugation of gluten hydrolysates with glucosamine at mild temperatures enhances antioxidant and antimicrobial properties[J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2014, 57: 181-187.
- [8] 王晓杰, 刘晓兰, 石彦国. 玉米肽的酶法糖基化修饰及产物溶解性的研究[J]. *中国油脂*, 2019, 44(11): 70-74.
- [9] WANG X J, LIU X L, ZHENG X Q, et al. Preparation of corn glycopeptides and evaluation of their antagonistic effects on alcohol-induced liver injury in rats[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 66: 1-10.
- [10] 彭文博, 章小同, 李新慧, 等. 酱油脱盐新工艺的研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(2): 129-132.
- [11] 于国才, 何慧, 靳桢, 等. 纳滤技术浓缩纯化玉米肽及其对醒酒活性的影响[J]. *食品科学*, 2011, 32(8): 10-14.
- [12] 杜璟, 何慧, 林闽丽, 等. 纳滤技术用于玉米降血压肽的脱盐研究[J]. *中国粮油学报*, 2011, 26(11): 88-93.
- [13] 郭洪辉, 洪专. 纳滤技术在河豚鱼皮胶原蛋白螯合锌脱盐中的应用研究[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(17): 22-26.
- [14] 汪志华, 裴祥银, 蔡广霞, 等. 大米降压肽纳滤脱盐工艺研究[J]. *粮食科技与经济*, 2010, 35(5): 32-35.
- [15] 刘亮, 刘良忠, 王燕, 等. 超滤、纳滤在鲟鱼皮胶原蛋白肽精制中的应用[J]. *武汉工业学院学报*, 2013, 32(2): 6-10.
- [16] 韩永萍, 林强, 何绪文. 纳滤对糖溶液中一价盐离子的脱出研究[J]. *食品科技*, 2008(4): 95-99.
- [17] 王晓杰, 曲悦, 刘晓兰, 等. 玉米肽的纳滤除盐工艺及脱盐产物抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2021, 42(5): 39-45.
- [18] 李建武. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 1994.
- [19] WANG X J, ZHENG X Q, KOPPARAPU N K, et al. Purification and evaluation of a novel antioxidant peptide from corn protein hydrolysate[J]. *Process Biochemistry*, 2014, 49(9): 1562-1569.
- [20] YANG Q, QIU X, SHEN X. Study on desalination characteristics of nanofiltration separation[J]. *Advanced Materials Research*, 2011, 305: 261-264.
- [21] 周丽珍, 李艳, 孙海燕, 等. 膜技术分离纯化花生蛋白酶解液制备活性短肽[J]. *中国油脂*, 2014, 39(10): 24-29.
- [22] BOURSEAU P, VANDANJON L, JAOUEN P, et al. Fractionation of fish protein hydrolysates by ultrafiltration and nanofiltration: impact on peptidic populations[J]. *Desalination*, 2009, 244(1): 303-320.