

蛋白聚糖的结构和功能特性

姜元荣 张晖 姚惠源 江南大学食品学院 无锡 214036

T52 A

摘要 蛋白质与多糖之间通过静电相互作用发生的复合物凝集或结合是形成蛋白聚糖的主要原因。象 pH 值、离子强度、蛋白质和多糖的浓度及比例、蛋白质和多糖的带电情况以及分子大小等理化条件会影响蛋白聚糖的形成及稳定性。同时,温度及一些物理因素(压力、剪切速率和时间)对此也有一定的影响。蛋白聚糖具有较好的水合作用(溶解性、粘度)、结构特性和表面特性(起泡性、乳化性),可用于大分子物质的纯化、微胶囊材料、食物成分(脂肪替代物等)和生物材料的合成等(可食用薄膜、人造皮肤)。

关键词 蛋白聚糖 相互作用 特性

Abstract Protein – polysaccharide coercive attraction, mainly through electrostatic interactions could give rise to the formation of Protein – polysaccharide complexes. Physicochemical factors such as pH, ionic strength, ratio of protein to polysaccharide, charge and molecular weight could affect the formation and stability of such complexes. Additionally, the temperature and mechanical factors (pressure, shearing rate, and time) have had an influence on it. The interesting hydration (solubility, viscosity), structuraron and surface properties of these complexes could be used in microencapsulation, food formulation (fat replacers), and synthesis of biomaterials (edible films, artificial grafts).

Key words Protein – polysaccharide complexes Interactions Properties

在各种食物组分中,蛋白质和多糖通过它们的凝胶性、增稠性和表面稳定性等功能特性在食品体系的结构和稳定性方面起着重要作用,而组织结构和稳定性是食品品质的主要指标,因而研究工作者致力于蛋白质和多糖这两种组分之间的相互作用研究,以期开发新的产品。蛋白质与多糖之间通过相互作用(静电吸引、范德华力、疏水相互作用、氢键等),产生了可溶性和不可溶性的复合物是形成蛋白聚糖的主要原因。蛋白聚糖综合了每一个组分的功能特性,最终产品的功能特性有了较大改善,如界面性质等。对此 Beijerinck^[1]早在 1896 年就进行了研究,现在蛋白聚糖已在食品、化妆品、医药等领域得到了广泛的应用。

1 形成蛋白聚糖的相互作用及影响因素

1.1 形成蛋白聚糖的相互作用

根据 Tolstoguzov^[2]的研究,有利于蛋白聚糖形成的相互作用可以分为三种类型:带电大分子间的相互作用;带相反电荷的侧链基团之间的相互作用(酸性基团、碱性基团);其它可能的侧链基团之间的相互作用。蛋白质多糖之间存在许多较弱的作用力:离子键、静电引力、范德华力、疏水相互作用和氢键等,在所有这些作用力中静电引力是蛋白聚糖形成过程中最广泛存在的作用力。表 1 列举了静电引力起主要作用的蛋白聚糖以及所用的研究手段。当生物大分子相互作用时,它们之间存在的非静电力:氢键、疏水键、共价键等可以形成生物大分子的结合域,这种相

互作用力决定于生物大分子的组成和结构如:氨基酸、葡萄糖残基的排列顺序以及螺旋结构等。需要特别提出的是多糖与蛋白质在形成蛋白聚糖的过程中会发生高度专一性的共价结合,这通常是蛋白质的氨基与多糖的羧基之间形成的氨基共价键。Kato^[3]等人用蛋清溶解酶素/糊精,通过美拉德反应(反应温度 60℃, 相对湿度 79%, 三周)完成蛋白质与糊精的共价复合,蛋清溶解酶素的稳定性得到极大的提高,而且蛋白聚糖的乳化性质比蛋清溶解酶素的乳化性提高了 30 倍。Hattori^[4]等人通过 β -乳球蛋白与羧甲基纤维素形成复合物来改善其乳化性质,从而使 β -乳球蛋白的变性温度由 67℃ 上升到 89℃。

1.2 影响蛋白聚糖形成的内在和外在条件

因为静电力在蛋白聚糖形成过程中起着重要作用,所以影响这类相互作用的理化因素如:pH 值、离子强度、多糖的电荷密度、多糖的浓度和比例等可以显著影响复合物的形成。另外外在条件也可称为加工条件如温度、剪切速率、剪切时间和压力对于蛋白聚糖的形成也有显著影响。

1.2.1 pH 值的影响

pH 值能显著影响生物分子侧链官能团(如氨基、羧基)等的离子化程度,因此在 pH 值低于等电点时,两种生物大分子带相反电荷,存在着最大的静电引力。例如蛋清蛋白与不同的淀粉分子(玉米淀粉、马铃薯淀粉、大米淀粉)形成复合物都有各自的最佳加酸或加碱量。更有趣的是 Daniel 和 Mittermaier^[5]等人研究发

表1 存在静电引力的蛋白聚糖体系以及所用的分析方法^[1~3]

蛋白质	多糖	分析方法
蛋清蛋白,人血清蛋白	羧甲基纤维素、纤维素钠	电泳
乳清蛋白	角叉胶、阿拉伯胶、海藻胶	离心沉降,电泳
β -乳球蛋白	羧甲基纤维素钠,纤维素钠,角叉胶,阿拉伯胶	电泳迁移率测定
酪蛋白	角叉胶	光学扫描
明胶,酪蛋白	羧甲基纤维素	粘度测定
酸钠,大豆蛋白		
酪蛋白	糊精	浊度滴定法
K-酪蛋白	K-角叉胶	离心沉降
肌球蛋白,牛血清蛋白	羧甲基纤维素,海藻酸钠,果胶	差示扫描量热法
牛血清蛋白	糊精	差示扫描量热法
蛋清蛋白, β -酪蛋白	羧甲基纤维素,葡聚糖	差示扫描量热法,流变学和光学方法

现,用五种不同的酸:盐酸、硫酸、硝酸、醋酸和柠檬酸调节 pH 值进行明胶—海藻胶复合物的制备,发现用硫酸进行 pH 值的调节,蛋白聚糖的得率为 79% 低于其它的酸(82%),这可能是在 pH 值 3.8 的条件下,SO₄²⁻离子更易与带正电荷的明胶起作用,从而阻碍了明胶与海藻胶之间的静电相互作用。

1.2.2 离子强度的影响

离子的存在会中和电荷而削弱静电相互作用。在较低的离子强度下,溶液中的离子强度对凝聚反应影响较小,甚至可以促进静电力,而在高盐浓度下,会引起复合物得率的大幅度降低。

1.2.3 生物大分子的电荷密度的影响

生物大分子的电荷密度可以定义为每单位长度的大分子所带的电荷,这一因素对复合物的形成非常重要,在特定的电荷密度下复合物不能形成。

1.2.4 生物大分子的分子大小的影响

生物大分子的分子越大越有利于复合物的形成。研究发现 IIS 大豆球蛋白与糊精形成复合物时,光学扫描结果显示糊精分子量的提高有利于与大豆球蛋白形成复合物。对此作出的解释是高分子多糖所占据的空间增大有利于与蛋白质的结合。

1.2.5 生物大分子的比例及浓度的影响

蛋白质与多糖的比例毫无疑问是影响复合物形成的重要因素。研究发现 β -乳球蛋白与阿拉伯胶形成复合物时蛋白质与多糖的比例对复合物的形成有显著影响。当 β -乳球蛋白与阿拉伯胶在 1% 的浓度条件下其最佳比例为 4:1。生物大分子的浓度也可影响复合物的形成,若生物大分子的浓度过高则会发生相态分离。

1.2.6 物理因素的影响

外在的物理或制备条件如温度、压力、剪切时间和速率等都

会影响复合物的形成及稳定性。低温对静电力有利,但适当升温可以使蛋白质轻微变性而暴露出一些侧链基团有利于复合物的形成;有关剪切速率的实验比较少,但随着剪切时间的延长复合物的得率不再增加;高压有利于复合物的形成。

2 蛋白聚糖的结构和功能特性

2.1 蛋白聚糖的结构

关于蛋白聚糖的结构的研究人多采用间接手段。例如光学扫描法:差示量热扫描法(DSC);圆二色谱法;红外扫描;核磁共振等可以给出蛋白聚糖一种确切的分子结构信息。Kabanov^[4]等人提出了蛋白聚糖的分子结构模型,如图 1 所示。这一模型认为首先由几个蛋白质分子形成高分子链 A,然后几条这种初级的高分子链进一步聚合形成聚合物 B。

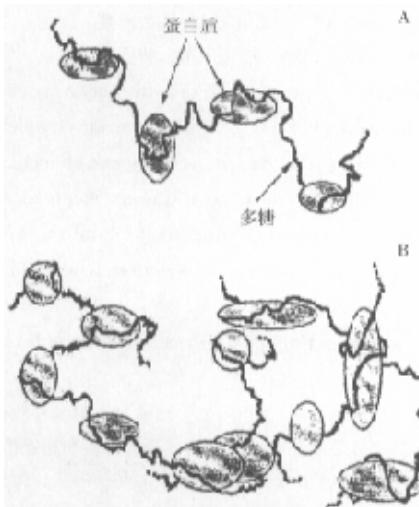


图 1 蛋白聚糖的结构示意图

2.2 蛋白聚糖的功能特性

功能特性包括溶解性、持水性、粘度、凝胶性、乳化性和起泡性等。已有的研究结果表明蛋白聚糖的功能特性比单独的蛋白质和多糖都要好。下面综述几个有代表性的例子。

2.2.1 蛋白聚糖的溶解性

影响蛋白聚糖溶解性的主要因素是蛋白质与多糖的比例。最近的一个研究发现:大豆蛋白——黄原胶复合物的溶解性质取决于两者的比例,大豆分离蛋白($pI = 4.5$, 1% 水分含量)与黄原胶(0.3% 的水分)在 pH = 7, 0.1 mol/L 的离子强度下以不同的比例混合(3:1 到 1:4),通过测定氮溶解指数(NS)来表征其溶解度,结果发现在 3:1 到 1:2 之间 NS 值有一个显著提高。当比例为 1:2 时 NS 值为 84.6%,而在相同 pH 值和离子强度下大豆分离蛋白的 NS 值只有 49.5%,但黄原胶比例的继续提高则不再有较高的 NS 值增加。同时,黄原胶的添加可以使大豆分离蛋白在一个较宽的离子强度范围(0.1~1.0 mol/L NaCl)和 pH 值(3~9)之间有较高的 NS 值(> 82%)而不需要热处理。这可

能是由于多糖的存在阻碍了蛋白质与蛋白质之间的相互作用。

2.2.2 蛋白聚糖的粘度特性

生物聚合物的粘度主要决定该聚合物的浓度、聚合物与溶剂间的相互作用的程度以及聚合物的结构(大小、形状和分子的柔韧性)等因素。大多数多糖(如黄原胶、壳聚糖等)以及未折叠的蛋白质(如牛奶中的酪蛋白)通常有较高的粘度。Mann 和 Mukhi^[10]等人的研究表明乳清蛋白和羧甲基纤维素复合物的粘度与该复合物的浓度有关,10% 浓度的乳清蛋白和羧甲基纤维素复合物的粘度是2% 浓度的该复合物粘度的9倍。因为多糖类物质的粘度通常比蛋白质高,所以蛋白质与多糖的比例可以显著影响复合物的粘度。在一篇报道蛋白质—淀粉复合物用作脂肪替代物的专利中,作者发现当蛋白质与淀粉的比例是1:50,溶液粘度为61300Pa·s,而当比例为2:3时,粘度降为23400Pa·s。

2.2.3 蛋白聚糖的界面吸附性质

蛋白聚糖的界面吸附性质是指在两互不相溶体系之间通过降低界面张力,形成一个新的中间相,这取决于蛋白聚糖的两性性质。球状蛋白质带电荷的侧链基团位于分子表面,疏水基团覆盖在分子内部,在乳化(或泡沫)体系中,蛋白质部分伸展,暴露的疏水基团与疏水相结合、带电基团与亲水相结合,从而具有较好的乳化性和起泡性。其它的蛋白质(如酪蛋白)具有很好的柔性结构,能够占据较大的表面积从而有效降低油/水或水/油体系的界面张力(γ)。多糖的加入有利于提高蛋白质的这些性质,比单独的蛋白质展现出更好的乳化和泡沫稳定性。当然,所有这些稳定性都依赖于环境条件、离子强度和温度等。

3 蛋白聚糖的工业应用

3.1 在微胶囊中的应用

蛋白聚糖的界面性质是其工业应用的主要性质之一,主要用于微胶囊的制备。微胶囊的目的是保护敏感物质(如易挥发物质、酶、药品等)免受酶水解,pH 变化及其他物质的影响,也可控制其释放,如 Sheu 和 Rosenberg^[11]等人用乳清蛋白和不同取代度的麦芽糊精(DE 值分别为5,10,15)形成的复合物对辛酸乙烷进行微胶囊的制备。通过控制 DE 值来控制微胶囊的粒径和对辛酸乙烷的保留效率;DE 值分别为5 和 10 时,保留效率分别为70% 和 91%,这一结论说明低分子量的多糖(高 DE 值)与乳清蛋白相互作用产生较好的乳化稳定性,可以得到较小的微胶囊;而较大的微胶囊对目标物质的保留能力较高并更耐受冷冻干燥处理。

3.2 蛋白聚糖用作食品材料

蛋白聚糖在食品中的应用在最近20年内有较大的发展,例如低脂食物的开发,肉类替代物的研究等均是建立在复合物的应用基础之上,这是与它们的营养和功能特性分不开的。表2 所列是蛋白聚糖在食品中的应用情况。

3.3 蛋白聚糖用作生物材料

蛋白聚糖用作生物材料可分为两大类:在食品工业中用于食品包装及可食用薄膜;在医药领域用作移植和生物合成等。由于蛋白聚糖具有生物可降解性和安全性,可作为食品包装材

表2 蛋白聚糖在食品中的应用情况^[12-17]

蛋白质	多糖	应用
酪蛋白,奶粉,大豆或酵母蛋白	果胶、海藻胶	碎肉类似物
鸡蛋蛋白、大豆或乳清蛋白	CMC	油代替物
酪蛋白		
乳清蛋白	黄原胶	肉纤维代替物
人豆分离蛋白	黄原胶	肉代替物
大豆蛋白	黄原胶	脂肪代替物
蛋清蛋白	黄原胶	脂肪代替物
明胶	阿拉伯胶	脂肪代替物
乳清蛋白	黄原胶、瓜儿豆胶、角叉胶	脂肪代替物
种子蛋白	淀粉	脂肪代替物
牛奶蛋白	角叉胶	脂肪代替物
乳清蛋白、酪蛋白、大豆蛋白、清蛋白	果胶、海藻胶	奶油代替物
大麦或小麦醇溶(谷)	瓜儿豆胶、阿拉伯胶、果胶	食品保藏剂

料和可食用薄膜。例如用酪蛋白酸钠与玉米淀粉的混合物可制得0.1mm厚,15%水分含量的薄膜,其透气性和强度都非常好。近15年来,蛋白聚糖的医药方面的应用研究迅猛发展,蛋白聚糖是可以直接与生理器官相接触的物质,用于临时性的伤口修复、缝合或用作血浆替代物以及关节合成、人工移植器官等。例如,黄原胶、阿拉伯胶在15℃真空条件下反应18h(加入交联剂:高价离子,羧基二酰亚胺等)合成的蛋白聚糖可用于伤口的修复、缝合以及合成人工移植器官。Ellis^[12]等人研究用胶原蛋白和粘多糖制备蛋白聚糖,该复合物具有很好的机械性能,可以用作人造真皮移植手术。

4 结论

蛋白质和多糖之间弱的相互作用导致蛋白聚糖的产生,这种复合物比单独的蛋白质和多糖具有更好的功能特性,如:亲水性、结构特性,界面吸附性等。另外,这些功能特性可以通过控制一些内在因素(pH 值,离子强度,蛋白质与多糖的比例,分子大小及电荷密度)或外在因素(温度,剪切速率和时间,压力)来改变。蛋白聚糖的功能特性可以用于食品工业、化妆品、医药等众多领域,具有广泛的应用前景。

参考文献

- Beijerinck M W. Ueber eine Eigentumlichkeit der loslichen Starke. Zentralbl. Bakteriol Parasitenkd Infektionskr, 1896, 2 (22): 697~699.
- Tolstoguzov V B. Thermodynamic aspects of food protein functionality. In: Nishinari, K. and Doi, E. Food Hydrocolloids: Struc-

- ture, Properties, and Functions. New York: Plenum Press, 1994, 327~340.
- 3 Kato A, Sato T, Kobayashi K. Emulsifying properties of protein-polysaccharide complexes and hybrids. *Agric Biol Chem*, 1989, 53(8): 2147~2151.
- 4 Hattori M, Nagasawa K. Functional changes in β -lactoglobulin by conjugation with carboxymethyl Dextran. *J Agric Food Chem*, 1994, 42(10).
- 5 Samant S K, Singhal R S et al. Protein-polysaccharide interactions: a new approach in food formulations. Review. *J Food Sci Technol*, 1993, 28: 547~562.
- 6 Burgess D J, Carless J E. Microelectrophoretic studies of gelatin and acacia for prediction of complex coacervation. *J Colloid Interface Sci*, 1984, 88(1): 1~8.
- 7 Stainsby G. Proteinaceous gelling systems and their complexes with polysaccharides. *Food Chem*, 1980(6): 3~14.
- 8 Daniels R, Mittermaier E M. Influence of pH adjustment on microcapsules obtained from complex coacervation of gelatin and acacia. *J Microencapsul*, 1995, 12(6): 591~599.
- 9 Kabanov V A et al. A cooperative interaction of serum albumin with quaternized poly-4-vinyl pyridine and structure of the complexes. *Mol Biol*, 1977, 11(3): 582~597.
- 10 Mann B, Malik R C. Studies on some functional characteristics of whey protein-polysaccharide complex. *J Food Sci Technol*, 1996, 33(3): 202~206.
- 11 Sheu T Y, Rosenberg M. Microencapsulation by spray drying ethyl caprylate in whey protein and carbohydrate wall systems. *J Food Sci*, 1995, 60(1): 98~103.
- 12 Ellis D L, Yannas I V. Recent advances in tissue synthesis in vivo by use of collagen-glycosaminoglycan copolymers. *Biomaterials*, 1996, 17(3): 291~299.
- 13 Tolstoguzov V B et al. Method of making Protein-Containing Foodstuffs Resembling Minced-Meat. US Patent Application, 1974, (3): 587~829.
- 14 Rispoli J M et al. Oil Replacement Composition, 1981(4): 294~308.
- 15 Chen W S et al. Edible Fibrous Serum Milk Protein/Xanthan Gum Complexes. US Patent Application, 1985(4): 233~559.
- 16 Bishay I E, Clark D R. Carbohydrate/protein Cream Substitutes. US Patent Application, 1996(5): 514~536.
- 17 Mc Ardle B. Protein-polysaccharide Complex, Composition and Method of Use. US Patent Application, 1997(5): 645~880.

乳铁蛋白研究现状

QS A

曹 阳 包永明 安利佳 大连理工大学化工学院生物工程系 大连 116012

高华颖 辽宁师范大学生命科学院 大连 116029

摘要 文章综述了乳铁蛋白最新研究成果,主要包括乳铁蛋白分子结构、分离提取方法、生物学功能、乳铁蛋白基因及重组乳铁蛋白的研究现状,介绍了乳铁蛋白及其活性多肽(抗菌肽、促进细胞生长肽)的抗微生物(细菌、病毒、真菌)作用、促进细胞生长作用、免疫增强作用、抗氧化及抗肿瘤作用、参与铁代谢过程等作用,对铁蛋白在临床及食品工业中的应用作了分析。

关键词 乳铁蛋白 分子结构 功能 基因 重组

Abstract What generalized in the paper was the latest research development in lactoferritin, which mainly involved the molecular structure, isolation method, biological function of lactoferritin, current research condition of lactoferritin gene and recombination of lactoferritin. At the same time, some effects of lactoferritin and its active peptide were introduced, such as antimicrobe, enhancement of cell growth, enhancement of immunity, resistance of oxidization, antitumor, metabolism related to iron, and so on. Besides, an analysis of lactoferritin's application in clinical and food industry was reviewed.

Key words lactoferritin Molecular structure Function Genes Recombination