

马铃薯糖蛋白Patatin的研究进展

刘垚彤, 孙伟, 董墨思, 冀迎昕, 李拖平, 李苏红*
(沈阳农业大学食品学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘要: 马铃薯营养价值高, 中国是目前世界上最大的马铃薯生产国和消费国。随着马铃薯加工业的发展, 对马铃薯蛋白营养功能性的研究不断深入。Patatin (马铃薯糖蛋白) 是马铃薯块茎的贮藏蛋白, 本文比较分析Patatin不同的分离提取、纯化方法以及各自的优缺点, 综述了Patatin的分子质量、结构特性、物化特性及功能特性, 以期Patatin在食品领域的进一步研究和发展提供参考。

关键词: 马铃薯糖蛋白; 分离纯化; 物化特性; 功能特性

Recent Progress in Research on Patatin, the Major Potato Tuber Protein

LIU Yaotong, SUN Wei, DONG Mosi, JI Yingxin, LI Tuoping, LI Suhong*
(College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: Potato is rich in nutrients, and China is now the world's biggest potato consumer and producer. Along with the development of the potato processing industry, understanding the nutritional and functional properties of potato proteins has continued to advance. Patatin is the major storage protein of potato tubers. In this paper, the advantages and disadvantages of the different methods for the separation and purification of patatin are described, and the molecular mass, structural characteristics, physicochemical properties and functional properties of patatin are presented. We hope that this review will provide a rationale for further research and application of patatin in the food processing area.

Keywords: patatin; separation and purification; physicochemical properties; functional properties

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180606-047

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2019) 11-0331-07

引文格式:

刘垚彤, 孙伟, 董墨思, 等. 马铃薯糖蛋白Patatin的研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 331-337. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180606-047. <http://www.spkx.net.cn>

LIU Yaotong, SUN Wei, DONG Mosi, et al. Recent progress in research on patatin, the major potato tuber protein[J]. Food Science, 2019, 40(11): 331-337. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180606-047. <http://www.spkx.net.cn>

马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是茄科茄属多年生块茎草本植物, 营养丰富, 素有“地下苹果”和“第二面包”之称, 是位居小麦、水稻、玉米之后的第四大粮食作物^[1]。马铃薯蛋白质由19种氨基酸组成^[2], 其中必需氨基酸含量为20.1%, 占总氨基酸的47.9%, 与鸡蛋蛋白必需氨基酸/总氨基酸 (49.7%) 相当, 比联合国粮食及农业组织/世界卫生组织已确定的标准蛋白 (36.0%) 要高, 且致敏蛋白含量较少^[3], 赖氨酸比例高。马铃薯蛋白质按分子质量大小分为高分子质量蛋白质、Patatin (马

铃薯糖蛋白) 和蛋白酶抑制剂3部分^[4-9]。Patatin为主要的贮藏蛋白, 已被证明具有优异的起泡性、乳化能力、抗氧化能力和酯酰基水解酶 (lipid acyl hydrolase, LAH) 活性^[10-13], 可以用作食品加工领域具有高功能价值的食品配料及辅料。

在我国, 马铃薯主要用于生产淀粉, 这一过程中产生的大量废液称为马铃薯汁。据统计, 1 000 kg马铃薯生产淀粉的过程可以产生5~12 m³的废液, 其中含有质量分数1%~2%的蛋白质^[14]。同时废液中含有蛋白质、肽、

收稿日期: 2018-06-06

基金项目: 沈阳市科技局创新平台建设项目 (17-158-1-00)

第一作者简介: 刘垚彤 (1994—) (ORCID: 0000-0001-7000-2640), 女, 硕士研究生, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程。

E-mail: 806842646@qq.com

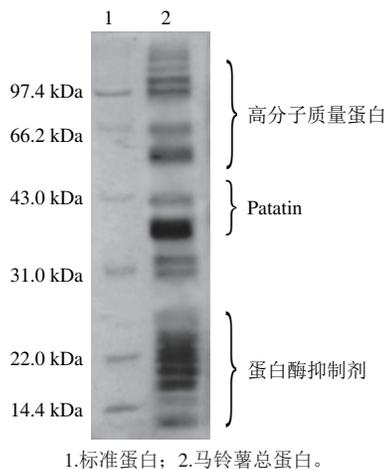
*通信作者简介: 李苏红 (1968—) (ORCID: 0000-0003-0586-5102), 女, 教授, 博士, 研究方向为粮油食品加工。

E-mail: 871881814@qq.com

氨基酸和胺类物质, 这会造成工业上处理废液的成本高昂^[15]。若将马铃薯汁直接排放, 不仅造成蛋白资源的大量浪费, 还造成环境污染。目前, 环境改善是全球关注的重点之一, 同时植物性蛋白质资源在世界蛋白质资源中也占有重要的地位。所以, 如何更有效地利用工业淀粉废液提取Patatin并全方位开发其功能性, 以及在食品领域的更多应用性将成为今后的研究热点。

本文介绍了Patatin的分子质量、结构特性、物化特性及功能特性, 综述了国内外关于Patatin的提取、分离纯化方法, 及在食品领域的应用研究, 为马铃薯蛋白资源的进一步开发应用提供参考。

1 Patatin的分子质量及结构特性



1. 标准蛋白; 2. 马铃薯总蛋白。

图1 马铃薯蛋白SDS-PAGE图

Fig. 1 Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis pattern of total proteins in potato tubers

图1为马铃薯蛋白十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)图。Patatin分子质量为39~45 kDa, 是马铃薯蛋白质中的酸性蛋白组分, 占总蛋白质质量的30%~40%左右。蛋白酶抑制剂的分子质量为5~25 kDa, 属于马铃薯蛋白质中碱性蛋白组分, 占总蛋白质质量的50%左右。高分子质量蛋白组分则占总蛋白质质量的10%左右, 目前有关其功能性质的研究报道较少。

Patatin是糖和蛋白的复合物, 含有32%的糖和64%的蛋白质, 孙莹等^[16]通过气相色谱得到分子质量为40.6 kDa的马铃薯糖蛋白Patatin, 并与标准混合单糖气相色谱进行对比, 确定其单糖组成为: 鼠李糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖(图2), 这些单糖组成可能与其生理活性相关。Tsukagoshi等^[17]发现云芝中的多糖Krestin(polysaccharride-K, PSK)具有抗肿瘤活性, 推测是其结构中的葡萄糖、甘露糖、果糖、木糖和半乳糖发挥了作用。目前马铃薯浓缩蛋白的抗肿瘤作用已得到证实^[18], Patatin结构与生理活性的构效关系还有待进

一步深入研究。此外, Patatin中含有吡喃型 α -糖苷键, β -消去反应前后经紫外光谱测定表明, 糖链的存在提高了Patatin的抗变性能力。同时甘露糖的存在使Patatin对甘露糖有高度的亲和力, 可以吸附到ConA-琼脂糖凝胶介质上进行亲和纯化。

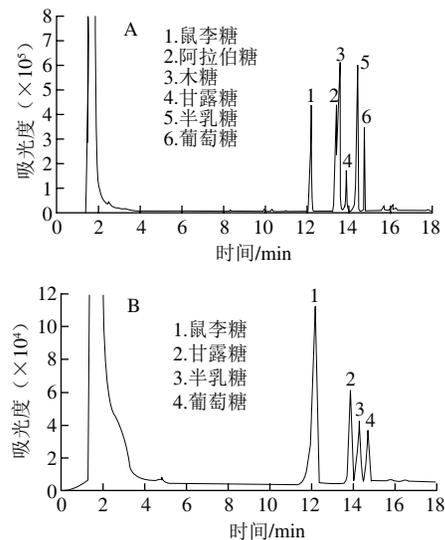


图2 标准混合单糖(A)和Patatin(B)气相色谱图^[16]

Fig. 2 Gas chromatograms of mixed monosaccharide standards (A) and patatin (B)^[16]

Patatin是由两个多基因组(Class I和Class II)表达的, 两个多基因组的同源度可达98%。其中, Class I基因组主要在马铃薯块茎中表达且表达量大, Class II在整个植物体系都有表达但表达量较小^[19-21]。Patatin在自然状态下常以二聚体形式存在, 不同品种或相同品种的马铃薯中都存在异型体, 由于基因的高度同源性, 这些异构体之间的结构特性和热稳定性没有显著差异, 在pH 6~8的范围内, Patatin的构象最稳定^[22-23]。Patatin的一级结构由362个氨基酸残基组成, 一般不受外界环境因素的影响^[24-26]。而二、三级结构容易受外界环境因素的影响, 但pH值引起Patatin的侧链氨基酸残基微环境的变化是可逆的。在pH 4、5条件下, Patatin的二级结构均以 α -螺旋和 β -折叠为主; pH 6~9条件下, Patatin的二级结构均以 β -折叠为主; 在温度低于40℃时, Patatin结构与温度变化的相关性不明显; 随着温度升高, α -螺旋含量迅速下降, 无规卷曲含量迅速增加, 当温度达到80℃时, 无规卷曲占主导地位, α -螺旋含量仍然保持在25%以上, 说明Patatin是一种高热稳定性蛋白; 而尿素、DDT等变性剂会对Patatin二级结构造成巨大破坏, 使其结构由有序变成无序^[27]。

2 Patatin物化性质及功能特性

Patatin具有较好的溶解性、乳化性、起泡性及凝胶性, 还具有抗氧化活性、LAH活性, LAH具有催化

磷脂、糖脂、单/二酰基甘油以及长链脂肪酸酯的非特异性水解活性。Patatin的必需氨基酸指数(essential amino acid index, EAAI)为89%,比许多动植物蛋白的EAAI高^[28]。

2.1 溶解度

Patatin溶解度受温度、pH值、盐离子种类及强度、有机溶剂种类及强度等因素的影响。在温和的酸性条件下,离子强度和未折叠的Patatin影响马铃薯总蛋白的溶解度^[29-30]。Patatin在pH值小于3和大于6的条件下溶解度为100%,在等电点附近(4.0~5.2)溶解度最小,而蛋白酶抑制剂则在整个pH值范围内均是可溶的。相同pH值条件下,添加FeCl₃会增加溶解度;添加乙醇,则溶解度随pH值和热处理温度的变化而发生微小变化。利用Patatin和蛋白酶抑制剂溶解性的差异,可实现两者从马铃薯淀粉废液中的初步分离,为后续Patatin的大量纯化制备提供了可能。

2.2 凝胶性

Patatin在加热过程中形成凝胶主要经过两个阶段,第1阶段是初始的球状蛋白结构部分变性,第2阶段是蛋白分子之间的聚合^[31]。因为球蛋白本身变性不足以引起凝胶化,需要分子间相互结合形成一个连续的网络结构,进而促进聚集和凝胶化;因此,第2阶段在Patatin凝胶过程中起主要作用。Patatin凝胶性也受到pH值、温度、离子强度和加热时间等因素的影响。Pots等^[32]发现Patatin在等电点附近时,无论是否存在NaCl,Patatin的热聚合敏感性都较高,而远离等电点且无NaCl存在时,则难以发生热聚合。与马铃薯分离蛋白的凝胶条件(蛋白质量浓度高于6 g/100 mL、pH 7.0、加热温度90 °C、加热时间30 min)相比,Patatin凝胶所需的温度更低(蛋白质量浓度高于6 g/100 mL、pH 7.0、加热温度69 °C、加热时间30 min),更容易形成凝胶。而与β-乳球蛋白、卵清蛋白和大豆蛋白相比,Patatin凝胶形成所需的离子强度更低^[33-34]。因此,Patatin具有良好的凝胶性,可作为一种新型的凝胶蛋白应用于食品中。

2.3 乳化性和起泡性

马铃薯蛋白具有较好的乳化性和起泡性。常温下,蛋白酶抑制剂的乳化特性显著优于Patatin,但是加热处理后,Patatin却具有更好的乳化稳定性^[29]。Patatin的乳化性随pH值和离子强度的变化而变化。Ralet等^[35]研究发现,Patatin在等电点附近且无NaCl存在时可以获得最好的乳化性,发泡能力和泡沫稳定性均优于卵清蛋白粉;在任意的pH值和离子强度下,加热处理Patatin乳状液都

有助于其形成更稳定的体系。van Koningsveld等^[12]通过搅打实验和鼓泡实验发现,在未改性马铃薯蛋白中,Patatin的起泡性较差,但泡沫稳定性较好。

2.4 抗氧化活性

Patatin有12种可溶的、暴露的且具有自由基清除能力的氨基酸,如甲硫氨酸、色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、半胱氨酸和组氨酸^[36]。Liu等^[8]对Patatin进行了体外抗氧化活性实验,发现Patatin具有较高的1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基清除能力、抗低密度脂蛋白过氧化反应能力及保护DNA免受羟自由基损伤活性;Sun Ying等^[37]研究发现Patatin也是一种能有效抑制小鼠黑素瘤B16细胞增殖的抗增殖剂。因此,Patatin可能是一种极具潜力的癌症预防蛋白源和食品功能因子。

2.5 酶活性

Patatin具有LAH活性^[28,38-39]。提取方式会对Patatin的LAH活性产生影响。凝胶色谱与离子交换色谱相结合分离出的Patatin具有LAH活性^[40];酸沉淀法和(NH₄)₂SO₄沉淀法所得分离蛋白对*O*-硝基苯丁酸酯和4-硝基苯月桂酸酯都具有较高的水解活性;热酸结合法所得的蛋白水解酶活性较低;羧甲基纤维素钠络合法和FeCl₃沉淀法所得蛋白则对4-硝基苯月桂酸的水解活性远高于*O*-硝基苯丁酸酯^[22];Depol 670L (DEP)多酶系统提取的Patatin蛋白提取物具有较高的LAH活性^[41]。膨化床法分离所得4种蛋白组分,其中只含有蛋白酶抑制剂的组分LAH活性几乎为零,而同时含有Patatin和蛋白酶抑制剂的组分都表现出LAH活性^[42]。说明色谱法、酸沉淀法、(NH₄)₂SO₄沉淀法、酶法以及膨化床可以较好地保留Patatin的LAH活性。目前揭示Patatin的LAH活性机理及影响因素的研究较少,进一步的研究将促进Patatin作为新型天然酶制剂在食品领域的应用和发展。

3 蛋白提取、分离与纯化

3.1 马铃薯粗蛋白的提取方法

目前,已有许多从马铃薯废液中提取蛋白质的物理及化学方法。如Na₂SO₄溶液浸提法,虽然得率不高但是操作简单,且得到的蛋白质无毒,可用于食品加工;热聚合和酸沉淀法是工业上常用的方法,操作简单、成本低,由于会造成蛋白功能活性丧失,所以不适用于食品加工;膜回收法自动化程度高、稳定性好但成本高;等电点法、盐析法超滤法、酶法、膨化床吸附层析法及新型分离提取技术磁性壳聚糖微球法也都各具优缺点,具体见表1。

表1 Patatin的提取方法

Table 1 Comparison of extraction methods for patatin

方法	原理	优缺点	应用举例
磁性壳聚糖微球法	具有磁性壳聚糖微球与胶体带负电荷的蛋白质等物质快速絮凝形成沉淀	优良生物亲和性、无毒、易于化学改性、方便分离	张轶等 ^[43] 利用反向悬浮交联法制备的磁性壳聚糖微球对马铃薯蛋白进行吸附分离,分离率高达80%,且吸附后微球分离容易,重复使用性能好
等电点沉淀法	利用蛋白质在等电点时溶解度最低进行分离	成本低、不需要脱盐;容易引起蛋白变性	崔竹梅等 ^[44] 利用透析与等电点结合的方法提取马铃薯蛋白,并检测其组分的理化性质和功能性质
盐析法	在溶液中加入大量的无机盐,使某些高分子物质的溶解度降低,沉淀析出	工艺简单、操作成本低	Waglay等 ^[23] 将比较了热酸结合法、酸法、FeCl ₃ 法、MnCl ₂ 法、乙醇沉淀法、(NH ₄) ₂ SO ₄ 沉淀法的蛋白回收率,发现(NH ₄) ₂ SO ₄ 沉淀法得到的Patatin得率最高(98.6%),且Patatin的回收率也最高
超滤法	以压力为推动力的膜分离技术	稳定、浓缩度高、浓缩效果好、安全、可靠、自动化程度高	陈钰等 ^[45-46] 发现采用超滤膜工艺回收马铃薯淀粉生产过程产生的废水中的蛋白质,有利于后续的冷冻干燥或烘干干燥;吕建国等 ^[47] 研究得出最佳超滤条件为:操作压力0.10 MPa,室温22℃,pH 5.8;Zwijenberg等 ^[48] 用不同超滤膜对马铃薯汁进行预处理,得到的浓缩物泡沫稳定性、风味和气味都较好;Dabestani等 ^[49] 利用组合法,发现渗滤可以提高蛋白质的纯度和浓度
酶法	通过降解植物细胞壁成分,分离提纯蛋白	分离效果好、能很好地保留功能性	Waglay等 ^[41] 发现Cereviz 2XL (CER)和来自于里氏水霉的Depol 670L (DEP) 2个多酶系统能够有分别效地从马铃薯肉中提取Patatin(提取率60.0%)和蛋白酶抑制剂(提取率72.0%);张泽生等 ^[50] 对工业淀粉厂废水中的马铃薯粗蛋白进行提取,提取率可高达83%,其含有丰富的氨基酸,可以作为高营养价值动物饲料
膨胀床吸附层析	利用组分在吸附剂上吸附能力不同、吸附平衡常数不同将组分分离	提高效率、降低投资费用、缩短操作时间	Jin Chengyu ^[51] 、Zeng Fankui ^[52] 等也分别使用膨胀床吸附层析从粗马铃薯汁中分离出粗蛋白;Stratkovern等 ^[53] 使用膨胀床吸附方法从马铃薯汁中提取出具有酶活性的Patatin和蛋白酶抑制剂混合物

3.2 Patatin的分离与纯化

表2 Patatin的纯化方法

Table 2 Comparison of purification methods for patatin

方法	原理	优缺点	应用举例
离子交换色谱、亲和层析、凝胶过滤色谱	凝胶过滤色谱法根据物质分子大小不同进行分离;离子交换色谱法根据电荷力不同进行分离;亲和层析法利用生物分子间专一的亲和力不同进行分离	产品纯度高,操作简单	孙莹等 ^[60] 采用离子交换柱层析、亲和层析和凝胶过滤色谱法结合的方法,对马铃薯淀粉汁废水进行分离纯化后得到的马铃薯糖蛋白Patatin纯度在90%以上,通过基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析法确定Patatin分子质量为40.6 kDa,是糖和蛋白质的复合物。通过气相色谱确定其单糖组成为:鼠李糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖
直接捕获模块(膜吸附层析)	利用膜吸附剂进行离子交换	切向流过滤、吸附洗脱速度快	Schoenbeck等 ^[54] 设计并测试了新的MA-HEX模块(直接捕获模块),利用切向流过滤的方法处理含粗粒子的溶液;该方法仅由3个单元操作(膜吸附层析分离、超滤/渗滤、干燥)组成,并且能够从马铃薯废水中直接连续地纯化出适合人类营养需求的天然马铃薯蛋白白色粉末产品
基因表达法	把储存在DNA序列中的遗传信息经过转录和翻译,转变成具有生物活性的蛋白质分子	无杂蛋白污染;但成本高,操作复杂	司怀军等 ^[55] 通过块茎诱导,将一个新的Patatin Class/基因的cDNA,与启动子CaMV35S融合并转入烟草中,结果显示表达的Patatin具有LAH活性
膨胀床吸附	利用组分在吸附剂上吸附能力不同,因吸附平衡常数不同将组分分离	操作简单、产量高、树脂可再利用	Giuseppin等 ^[56] 的专利中描述了通过膨胀床吸附法获得天然马铃薯蛋白质分解的工业方法。通过操纵柱上的pH值条件,可以将Patatin和蛋白酶抑制剂分离成不同的组分

马铃薯蛋白中Patatin的进一步分离纯化常采用凝胶过滤色谱法、离子交换色谱法、凝胶色谱与离子交换色谱相结合的方法、反相色谱法及基因表达法等,不同方

法各具优缺点(表2)。但是目前的方法提取量小、成本高,有一定的局限性,研究和完善Patatin用于大规模提取和工业化生产的纯化方法,将会成为今后研究的热点。

4 Patatin在食品中的应用研究

4.1 作为保护性纳米载体材料

David等^[57]发现以Patatin为主要成分的马铃薯分离蛋白与VD结合形成的聚集体要比单独的VD颗粒尺寸小得多,溶液透明度也更好,且二者形成的纳米复合体可以减少巴氏灭菌过程和不同贮藏条件下的VD损失。因此,马铃薯蛋白有望成为VD或其他疏水性食品功能因子的良好保护性载体,用于澄清饮料或其他食品生产中,以促进人类健康。关于纯化后单一蛋白与VD是否还可形成聚集体,以及Patatin的相对含量对复合体的形成是否有影响,都有待深入研究。

4.2 作为红葡萄酒澄清剂

在葡萄酒酿造过程中,通常使用几种动物蛋白来调节其最重要的感官特征——涩味。涩味主要是唾液蛋白与多酚类物质作用产生沉淀造成的。而用于澄清的蛋白质是通过类似于唾液与多酚反应的机制与葡萄酒中的单宁作用达到目的。Gambuti等^[58]比较了Patatin、酪蛋白酸钾、明胶和卵蛋白作为澄清剂的效果,发现相同浓度下用Patatin处理后的红酒中总酚、单宁含量和涩味减少得更多,色度特征没有损耗,但Patatin在葡萄酒的低pH值条件下溶解度很低;所以Patatin不仅可去除涩味,同时也易被分离去除,不会造成潜在的不稳定性。动物蛋白在易感人群中具有潜在的致敏性,Patatin作为植物来源的蛋白引起了越来越多的关注,可作为一种非致敏性蛋白替代动物蛋白。

4.3 作为生物活性肽调节血压和体液平衡

血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)和肾素是肾素-血管紧张素系统中的两个关键调节因子,在血压和体液平衡中起着重要的生理作用。肾素通过裂解血管紧张素原,产生血管紧张素-I,再通过ACE转化成血管紧张素-II(一种维持正常血压的有效血管收缩剂),由于血管紧张素-I转化为血管紧张素-II不依赖于ACE,造成了某些抗高血压药物治疗效果并不理想。

Fu Yu等^[59]通过In Silico Analysis软件模拟了马铃薯Patatin的两个衍生肽Trp-Gly(WG)和Pro-Arg-Tyr(PRY)对ACE和肾素活性的抑制作用。WG和PRY的ACE半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)分别为231.22、97.59 mol/L;与已知的从大麻籽、油菜、豌豆蛋白和微藻中鉴定出几种肾素抑制肽相比,Patatin的IC₅₀接近大麻籽(54~93 mol/L),

远高于豌豆肽 (9.20~22.66 mmol/L) 和菜籽肽 (0.968~3.061 mmol/L)。根据酶抑制动力学, 推测出WG和PRY对ACE抑制作用分别为非竞争性和竞争性模式, 而对肾素的抑制作用都为混合型; 利用固有发射荧光光谱法, 发现与WG相比, PRY表现出对ACE和肾素分子更强的亲和力, 被确定为更有效的ACE和肾素抑制剂。目前与使用的各种酶抑制剂相比, Patatin的衍生肽能同时抑制肾素和ACE活性, 有望成为新型的高血压治疗药物或添加剂。

4.4 水解短链脂肪酸的三酰基甘油酯

成熟奶酪风味的形成是一系列复杂的生化反应的结果, 主要来自于成熟过程中酶和微生物作用产生的化合物。奶酪中脂肪分解酶主要来源于牛奶、酸性乳酸菌、霉菌和酵母、凝乳酶的脂肪酶和外源脂肪酶^[60-62], 外源性脂肪酶在乳品工业中使用不仅能增加奶酪味道, 而且还加速乳酪成熟, 但成本较高。Spelbrink等^[63]研究了Patatin在奶酪成熟中应用的可能性, 分别测定了Patatin对三酰甘油底物链长度为C2、C4、C6、C8、C12的水解活性, 发现当底物链长为C6时活性最强, C4、C8、C2次之, 而对C12几乎没有水解活性, 说明Patatin可以水解水溶性强、疏水性小的甘油三酯; Patatin添加到奶酪中, 会释放适量的游离脂肪酸来提高风味物质的含量, 而不会过度分解脂肪和发生酸败; 根据Arrhenius动力学, 发现Patatin在中等温度下的水溶液和乳清蛋白溶液中均失活。另外, 通过巴氏杀菌法可以使Patatin失活, 且副反应较少, 所以Patatin有望作为新的外源性脂肪酶添加到奶酪制作中改善风味, 或在乳品工业中使用, 同时可以将马铃薯淀粉废液大规模回收利用, 减少资源浪费, 保护环境。

5 结语

我国有丰富的马铃薯蛋白资源, 是重要的工业和食品原料。Patatin具有良好的溶解性、凝胶性、乳化性和抗氧化性等, 在功能性食品、保健性食品和药品等方面都有广阔的应用前景。Patatin功能性的深入研究及应用领域的进一步拓展, 不仅可以使马铃薯蛋白资源得到充分的利用, 同时能够减少环境污染, 提高经济效益。进一步提高Patatin提取纯度、保持蛋白的活性及功能稳定性, 以最节约的成本和最简单的方法将Patatin的分离纯化落实到工业化生产是Patatin产品研究开发的基础。随着我国马铃薯主食化产业的快速发展, Patatin的营养功能及其在食品领域的应用研究将日益得到关注和重视。因此, 优化Patatin的分离纯化方法, 探索其在食品加工过程中的变化规律, 开发以Patatin为原辅料的保健食品和药品将成为今后的研究热点。

参考文献:

- [1] 张笃芹, 木泰华, 孙红男. 马铃薯块茎特异蛋白Patatin的研究进展[J]. 中国农业科学, 2016, 49(9): 1746-1756. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2016.09.011.
- [2] 曾凡逵, 刘刚. 马铃薯蛋白的分离及氨基酸组成分析[J]. 食品科学, 2014, 35(9): 53-56. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201409012.
- [3] 张泽生, 刘素稳, 郭宝芹, 等. 马铃薯蛋白质的营养评价[J]. 食品科技, 2007, 32(11): 219-221. DOI:10.3969/j.issn.1005-9989.2007.11.065.
- [4] POTS A M, GRUPPEN H, VAN DIEPENBEEK R, et al. The effects of storage of whole potatoes of three cultivars on the patatin and protease inhibitor content; a study using capillary electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999, 79(12): 1557-1564. DOI:10.1002/(SICI)1097-0010(199909)79:12<1557::AID-JSFA375>3.0.CO;2-K.
- [5] POTS A M, GRUPPEN H, HESSING M, et al. Isolation and characterization of Patatin isoforms[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(11): 4587-4592. DOI:10.1021/jf981180n.
- [6] PARK W D, BLACKWOOD C, MIGNERY G A, et al. Analysis of the heterogeneity of the 40 000 molecular weight tuber glycoprotein of potatoes by immunological methods and by NH₂-terminal sequence analysis[J]. Plant Physiology, 1983, 71(1): 156-160. DOI:10.1104/pp.71.1.156.
- [7] BARTA J, HERMANOVA V, DIVIS J. Effect of low-molecular additives on precipitation of potato fruit juice proteins under different temperature regimes[J]. Journal of Food Process Engineering, 2008, 31(4): 533-547. DOI:10.1111/j.1745-4530.2007.00167.x.
- [8] LIU Y W, HAN C H, LEE M H, et al. Patatin the tuber storage protein of potato (*Solanum tuberosum* L.), exhibits antioxidant activity *in vitro*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(15): 4389-4393. DOI:10.1021/jf030016j.
- [9] PIHLANTO A, AKKANEN S, KORHONEN H J. ACE-inhibitory and antioxidant properties of potato (*Solanum tuberosum*)[J]. Food Chemistry, 2008, 109(1): 104-112. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.12.023.
- [10] VAN KONINGSVELD G. Physico-chemical and functional properties of potato proteins[D]. Wageningen: Wageningen University, 2001: 1-22.
- [11] VAN KONINGSVELD G A, WALSTRA P, GRUPPEN H, et al. Formation and stability of foam made with various potato protein preparations[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(26): 7651-7659. DOI:10.1021/jf025587a.
- [12] VAN KONINGSVELD G A, WALSTRA P, VORAGEN A G J, et al. Effects of protein composition and enzymatic activity on formation and properties of potato protein stabilized emulsions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(17): 6419-6427. DOI:10.1021/jf061278z.
- [13] CHENG Y, XIONG Y L, CHEN J. Antioxidant and emulsifying properties of potato protein hydrolysate in soybean oil-in-water emulsions[J]. Food Chemistry, 2010, 120(1): 101-108. DOI:10.1016/j.foodchem.2009.09.077.
- [14] 曾凡逵, 周添红, 刘刚. 马铃薯淀粉加工副产物资源化利用研究进展[J]. 农业工程技术(农产品加工业), 2013(11): 33-37.
- [15] VIKELouda M, KIOSSEOGLOU V. The use of carboxymethylcellulose to recover potato proteins and control their functional properties[J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(1): 21-27. DOI:10.1016/S0268-005X(03)00038-9.
- [16] 孙莹, 魏冬旭, 姚春艳, 等. 马铃薯淀粉汁水中 Patatin 的纯化及结构研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(11): 122-127. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2017.11.015.

- [17] TSUKAGOSHI S, HASHIMOTO Y, FUJII G, et al. Krestin (PSK)[J]. *Cancer Treatment Reviews*, 1984, 11(2): 131-155. DOI:10.1016/0305-7372(84)90005-7.
- [18] 李国明, 吴娜, 周明, 等. 马铃薯汁水中粗蛋白及其蛋白酶抑制剂性质的初步研究[J]. *中国食品添加剂*, 2013(1): 58-61. DOI:10.3969/j.issn.1006-2513.2013.01.002.
- [19] MIGNERY G A, PIKAARD C S, HANNAPEL D J, et al. Isolation and sequence analysis of cDNAs for the major potato tuber protein, Patatin[J]. *Nucleic Acids Research*, 1984, 12(21): 7987-8000. DOI:10.1093/nar/12.21.7987.
- [20] PIKKARD C S, BRUSCA J S, HANNAPEL D J, et al. The two classes of genes for the major potato tuber protein, Patatin, are differentially expressed in tubers and roots[J]. *Nucleic Acids Research*, 1987, 15(5): 1979-1994. DOI:10.1093/nar/15.5.1979.
- [21] TWEILL D, OOMS G. Structural diversity of the patatin gene family in potato cv. Desiree[J]. *Molecular and General Genetics*, 1988, 212(2): 325-336. DOI:10.1007/BF00334703.
- [22] WAGLAY A, KARBOUNE S, ALLI I. Potato protein isolates: recovery and characterization of their properties[J]. *Food Chemistry*, 2014, 142: 373-382. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.07.060.
- [23] POTS A M, DE JONGH H H J, GRUPPEN H, et al. The pH dependence of the structural stability of patatin[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46(7): 2546-2553. DOI:10.1021/jf980034e.
- [24] STIEKEMA W J, HEIDEKAMP F, DIRKSE W G, et al. Molecular cloning and analysis of four potato tuber mRNAs[J]. *Plant Molecular Biology*, 1988, 11(3): 255-269. DOI:10.1007/BF00027383.
- [25] 夏其昌, 曾嵘. 蛋白质化学与蛋白质组学[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 27-44.
- [26] VAN KONINGSVELD G A, GRUPPEN H, DE JONGH H H J, et al. The solubility of potato proteins from industrial potato fruit juice as influenced by pH and various additives[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2002, 82(1): 134-142. DOI:10.1002/jsfa.1015.
- [27] 孙莹, 魏冬旭, 姚春艳, 等. 不同处理条件对马铃薯糖蛋白Patatin构象的影响研究[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(17): 80-83; 98. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2017.17.016.
- [28] 潘牧, 彭慧元, 邓宽平, 等. 马铃薯蛋白的研究进展[J]. *贵州农业科学*, 2012, 40(10): 22-26. DOI:10.3969/j.issn.1001-3601.2012.10.007.
- [29] VAN KONINGSVELD G A, GRUPPEN H, DE JONGH H H J, et al. Effects of pH and heat treatments on the structure and solubility of potato proteins in different preparations[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(10): 4889-4897. DOI:10.1021/jf010340j.
- [30] VAN KONINGSVELD G A, GRUPPEN H, DE JONGH H H J, et al. Effects of ethanol on structure and solubility of potato proteins and the effects of its presence during the preparation of a protein isolate[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(10): 2947-2956. DOI:10.1021/jf011202x.
- [31] FITSINONS S M, MULVIHILL D M, MORRIS E R. Denaturation and aggregation processes in thermal gelation of whey proteins resolved by differential scanning calorimetry[J]. *Food Hydrocolloids*, 2007, 21(4): 638-644. DOI:10.1016/j.foodhyd.2006.07.007.
- [32] POTS A M, TEN GROTENHUIS E, GRUPPEN H, et al. Thermal aggregation of Patatin studied *in situ*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(11): 4600-4605. DOI:10.1021/jf9901901.
- [33] 朴金苗, 都凤华, 齐斌. 马铃薯分离蛋白凝胶的制备及其性质研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(22): 108-111. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2009.22.022.
- [34] CREUSOT N, WIERENGA P A, LAUS M S C, et al. Rheological properties of Patatin gels compared with β -lactoglobulin, ovalbumin, and glycinin[J]. *Journal of Food and Agriculture*, 2011, 91(2): 253-261. DOI:10.1002/jsfa.4178.
- [35] RALET M C, GUÉGUEN J. Foaming properties of potato raw proteins and isolated fractions[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2001, 34(4): 266-269. DOI:10.1006/fstl.2000.0684.
- [36] PETERSEN B, PETERSEN T N, ANDERSEN P, et al. A generic method for assignment of reliability scores applied to solvent accessibility predictions[J]. *BMC Structural Biology*, 2009, 9(1): 51. DOI:10.1186/1472-6807-9-51.
- [37] SUN Ying, JIANG Lianzhou, WEI Dongxu. Partial characterization, *in vitro* antioxidant and antiproliferative activities of Patatin purified from potato fruit juice[J]. *Food & Function*, 2013, 4(10): 1-10. DOI:10.1039/c3fo60248f.
- [38] GALLIARD T. The enzymic deacylation of phospholipids and galactolipids in plants. purification and properties of a lipolytic acyl-hydrolase from potato tubers[J]. *Biochemistry Journal*, 1971, 121(3): 379-390. DOI:10.1042/bj1210379.
- [39] STRÆTKVERN K O, SCHWARZ J G. Recovery of native potato protein comparing expanded bed adsorption and ultrafiltration[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2012, 5(5): 1939-1949. DOI:10.1007/s11947-010-0494-2.
- [40] RACUSEN D, FOOTE M. A major soluble glycoprotein of potato tubers[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 1980, 4(1): 43-52. DOI:10.1111/j.1745-4514.1980.tb00876.x.
- [41] WAGLAY A, KARBOUN S. A novel enzymatic approach based on the use of multi-enzymatic systems for the recovery of enriched protein extracts from potato pulp[J]. *Food Chemistry*, 2017, 220: 313-323. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.09.147.
- [42] LØKRA S, SCHÜLLER R B, EGELANDSDAL B, et al. Comparison of composition, enzyme activity and selected functional properties of potato proteins isolated from potato juice with two different expanded bed resins[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2009, 42(4): 906-913. DOI:10.1016/j.lwt.2008.11.011.
- [43] 张铁, 杨大林, 韩杰, 等. 磁性壳聚糖微球吸附马铃薯淀粉废水中蛋白质的应用研究[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(9): 251-253.
- [44] 崔竹梅, 黄海珊, 秦欢欢, 等. 马铃薯蛋白组分的分离提取和功能性研究[J]. *食品科学*, 2011, 32(3): 76-80.
- [45] 陈钰. 马铃薯淀粉废水中的蛋白回收及表征[D]. 广州: 华南理工大学, 2010: 26-38. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2010.09.080.
- [46] 陈钰, 潘晓琴, 钟振声, 等. 马铃薯淀粉加工废水中超滤回收马铃薯蛋白质[J]. *食品研究与开发*, 2010, 31(9): 37-41. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2010.09.010.
- [47] 吕建国, 安兴才. 膜技术回收马铃薯淀粉废水中蛋白质的中试研究[J]. *中国食物与营养*, 2008(4): 37-40. DOI:10.3969/j.issn.1006-9577.2008.04.011.
- [48] ZWIJNENBERG H J, KEMPERMAN A J B, BOERRIGTER M E, et al. Native protein recovery from potato fruit juice by ultrafiltration[J]. *Desalination*, 2002, 144(1/2/3): 331-334. DOI:10.1016/S0011-9164(02)00338-7.
- [49] DABESTANI S, ARCOT J, CHEN V. Protein recovery from potato processing water: pre-treatment and membrane fouling minimization[J]. *Journal of Food Engineering*, 2017, 195: 85-96.
- [50] 张泽生, 郭宝芹, 刘素稳. 不同酶水解马铃薯蛋白技术的分析、评价[J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(1): 112-114. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2009.01.033.
- [51] JIN ChengYu, ZENG Fankui, LIU Gang. Recovery of protease inhibitors from potato fruit water by expanded bed adsorption chromatography in pilot scale[J]. *American Journal of Potato Research*, 2017, 95: 1-8. DOI:10.1007/s12230-017-9605-1.

- [52] ZENG Fankui, LIU Hong, MA Pengjun, et al. Recovery of native protein from potato root water by expanded bed adsorption with Amberlite XAD7HP[J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2013, 18(5): 981-988. DOI:10.1007/s12257-013-0234-3.
- [53] STRÆTKVERN K O, SCHWARZ J G, WIESENBORN D P, et al. Expanded bed adsorption for recovery of patatin from crude potato juice[J]. *Bioseparation*, 1999, 7(6): 333-345. DOI:10.1023/A:1008161618599.
- [54] SCHOENBECK I, GRAF A M, LEUTHOLD M, et al. Purification of high value proteins from particle containing potato fruit juice via direct capture membrane adsorption chromatography[J]. *Journal of Biotechnology*, 2013, 168(4): 693-700. DOI:10.1016/j.jbiotec.2013.09.018.
- [55] 司怀军, 柳俊, 谢从华. 一个新的马铃薯Patatin Class I基因的cDNA在烟草中的表达及其酶活性[J]. *农业生物技术学报*, 2003, 11(3): 236-240. DOI:10.3969/j.issn.1674-7968.2003.03.004.
- [56] GIUSEPPIN M L F, VAN DER S C, LAUS M C T. Native potato protein isolates: US8465911B2[P]. 2015-06-16[2018-05-06]. https://www.researchgate.net/publication/302642615_Native_potato_protein_isolates.
- [57] DAVID S, LIVNEY Y D. Potato protein based nanovehicles for health promoting hydrophobic bioactives in clear beverages[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 57: 229-235. DOI:10.1016/j.foodhyd.2016.01.027.
- [58] GAMBUTI A, RINALDI A, MOIO L. Use of patatin, a protein extracted from potato, as alternative to animal proteins in fining of red wine[J]. *European Food Research and Technology*, 2012, 235(4): 753-765. DOI:10.1007/s00217-012-1791-y.
- [59] FU Yu, ALASHI A M, YOUNG J F, et al. Enzyme inhibition kinetics and molecular interactions of patatin peptides with angiotensin I-converting enzyme and renin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 101: 207-213. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2017.03.054.
- [60] COLLINS Y F, MCSWEENEY P L H, WILKINSON M G. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge[J]. *International Dairy Journal*, 2003, 13(11): 841-866. DOI:10.1016/S0958-6946(03)00109-2.
- [61] JOOYANDEH H, KAUR A, MINHAS K S. Lipases in dairy industry: a review[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2009, 46(3): 181-189.
- [62] EL-HOFI M, EL-TANBOLY E S, ABD-RABOU N S. Industrial application of lipases in cheese making: a review[J]. *Internet Journal of Food Safety*, 2011, 13: 293-302.
- [63] SPELBRINK R E J, LENSING H, EGMOND M R, et al. Potato patatin generates short-chain fatty acids from milk fat that contribute to flavour development in cheese ripening[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2015, 176(1): 231-243. DOI:10.1007/s12010-015-1569-3.