

乳清蛋白改性的研究进展

高金明¹, 葛珊²

(1. 山东畜牧兽医职业学院食品工程系, 山东潍坊 261061;

2. 山东省潍坊第一中生物组, 山东潍坊 261205)

摘要:乳清蛋白具有多种功能特性, 例如乳化性、成胶性和起泡性, 广泛地应用于食品中。许多研究证明, 通过改性可进一步改善乳清蛋白的功能特性, 开发新型的功能性乳清蛋白配料, 拓展其在食品工业中的应用范围。乳清蛋白的改性方法包括物理、化学和酶法改性以及相结合的方法, 选择性使用改性方法、控制反应条件可以改善所需的功能特性。通过美拉德反应对乳清蛋白的糖基化改性是一种比较新的方法, 但已经成为食品中研究的热点。

关键词:乳清蛋白, 改性, 糖基化

Research progress of modifying of whey protein

GAO Jin-ming¹, GE Shan²

(1. Department of Food Engineering, Shandong Vocational Animal Science and Veterinary College, Weifang 261061, China;

2. Biological Division, Weifang No.1 Middle School, Weifang 261205, China)

Abstract:Whey proteins are important sources for its versatile functionality, such as emulsification, gelling and foaming properties. And they are widely used in food industries. Evidences show that functional properties of whey protein can be further improved by modification, which will promote the development of new functional ingredients and exploit its application potential. Methods modifying whey proteins include physical, chemical and enzymatic as well as the combination of these methods. The desirable functionalities can be obtained through selectively using modification methods and controlled reaction conditions. Preparing of glucosylated whey proteins by Maillard reaction is a novel method, but it has become a extensively studied subject in food field.

Key words: whey protein; modification; glycation

中图分类号: TS201.2⁺1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)07-0382-03

乳清蛋白(whey protein, WP)是乳清中多种蛋白质组分的统称, 通常是指来自牛乳的乳清蛋白, 牛乳中乳清蛋白占总蛋白含量的20%左右, 由 β -乳球蛋白、 α -乳白蛋白、血清白蛋白、免疫球蛋白、乳铁蛋白、乳过氧化物酶以及许多生物活性因子等组成。取决于提取蛋白的加工过程, 可得到不同蛋白组成的乳清蛋白产品, 浓缩乳清蛋白(concentrated whey protein, WPC)是蛋白含量为25%~80%的商业产品, 而分离乳清蛋白(isolated whey protein, WPI)的蛋白质含量通常大于90%^[7]。乳清蛋白属于全价蛋白质, 易于消化吸收, 具有很高的营养价值, 大量应用于婴幼儿配方食品中。乳清蛋白还具有突出的功能特性, 例如乳化性、持水性、起泡性、成胶性和成膜性, 可作为乳化剂、稳定剂、保湿剂、可食用膜和胶囊化壁材以及脂肪替代品等应用于食品中, 改善食品的口感、质地, 提高产品的稳定性和延长货架期。

乳清蛋白经适度改性可以进一步提高或改善其

功能特性, 扩大在食品中的应用, 对乳清的有效利用具有重要意义。乳清蛋白的改性方法有物理、化学和酶法改性, 通过改变乳清蛋白的分子大小、氨基酸组成和顺序、结构、表面静电荷和疏水基团等, 可以达到增强或改善其功能特性的目的。酶法改性还可以降低牛乳清蛋白的免疫原性, 减少婴幼儿的过敏反应。本文将对以上改性方法进行阐述。

1 乳清蛋白的物理改性

改变乳清蛋白功能性的物理方法包括热处理、高压、质构化以及超临界二氧化碳流体处理等。

1.1 加热和高压处理

加热会导致乳清蛋白变性, 可显著影响它的天然状态和稳定性, 温和热处理可以提高乳清蛋白的起泡性, 而高温处理会降低它的起泡性^[15]。Nicoresco等研究加热对乳清蛋白起泡性的影响, 发现随着温度的升高, 膨胀率略有降低, 而泡沫硬度提高, 80℃时泡沫的稳定性最好, 搅打起泡前80℃以上热处理对蛋白的起泡性不再起作用。高压处理包括高静水压和动态高压处理, 动态高压处理通过高压均质进行, 与高静水压处理不同, 它在很短的时间内完成(约0.0001s), 因为同时存在压力诱导的空穴、

收稿日期: 2009-03-06

作者简介: 高金明(1980-), 男, 本科, 助理讲师, 主要从事畜产食品方面的研究。

剪切、湍流等力的作用和温度上升^[2]。Bouaouina 等研究发现,高压处理使得乳清蛋白的起泡性和稳定性增强。

1.2 超临界二氧化碳流体处理

超临界流体技术是一项高新技术,尤其是超临界二氧化碳流体技术在食品中的应用更为广泛,应用该技术以及与其他加工方法如热塑挤压(一种质构化方法)技术结合可以改变乳清蛋白的成胶性和其他功能特性^[11,16]。Zhong 和 Jin 研究超临界二氧化碳流体处理对分离乳清蛋白溶液、分离乳清蛋白粉和浓缩乳清蛋白粉成胶性的影响,发现处理后乳清蛋白的成胶性能提高,与未处理的分离乳清蛋白相比,超临界二氧化碳处理的分离乳清蛋白形成凝胶的强度更好,超临界二氧化碳处理的浓缩乳清蛋白成胶性的提高更显著^[16]。而 Manoi 和 Rizvi 的研究发现,超临界二氧化碳热塑挤压处理的浓缩乳清蛋白具有速溶性和冷胶凝性,在高酸性(pH2.89)和碱性(pH)条件下用超临界二氧化碳处理的热塑挤压产品的流变性质在 25~85℃ 范围具有较高的稳定性^[11]。

2 乳清蛋白的化学改性

化学改性通过对蛋白分子中氨基酸残基的侧链基团(例如赖氨酸残基的 ϵ -氨基、谷氨酸 γ -羧基和天冬氨酸的 β -羧基、丝氨酸和苏氨酸的羟基)的修饰和二硫键的裂解改变乳清蛋白分子的结构、表面净电荷和疏水性提高其功能特性。

2.1 酰化和磺化

乙酰化和琥珀酰化是最常用的酰化方法,由于赖氨酸的 ϵ -氨基比较活泼,它最容易被酰化。乙酰化或琥珀酰化改变了乳清蛋白分子的表面净电荷,乙酰化将中性乙酰基引入蛋白分子中,使分子中正电荷减少;琥珀酰化由于代替了原来的正电荷而增加了一个负电荷^[3]。琥珀酰化的作用更为显著,因此也最常用,琥珀酰化使乳清蛋白的持水性、乳化性和起泡性提高。

乳清蛋白的磺化是通过亚硫酸盐与二硫键发生反应改变蛋白的结构和功能,提高乳清蛋白的乳化性和消化性。该方法除能裂解二硫键之外,对二硫键和或半胱氨酸残基有很高的特异性,因此对其他氨基酸的生物利用率没有影响,对肽和蛋白质不存在副反应^[9]。

2.2 磷酸化

磷酸化利用焦磷酸盐、磷酸氯和五氧化二磷等磷酸化试剂与乳清蛋白反应,在蛋白分子上共价连接磷酸基团,从而改变乳清蛋白的功能特性^[13,14]。Woo 和 Richardson 用过量的磷酸氯对 β -乳球蛋白进行磷酸化,得到 13mol 磷/单体 β -乳球蛋白的产物,浓度为 6% 的磷酸化蛋白溶液在 pH5.0 形成凝胶,在 pH5.0 和 pH7.0 形成的凝胶比相同条件下的天然 β -乳球蛋白形成的凝胶稳定性提高 30%^[14]。Enomoto 等在干热条件下用麦芽五糖通过美拉德反应对 β -乳球蛋白进行糖基化后,通过干热方法用焦磷酸盐进行磷酸化,结果显示,磷酸化进一步增强了 β -乳球

蛋白对热诱导不溶性的稳定性,糖基化后进行磷酸化提高了它的热稳定性、乳化性及其在磷酸钙溶液的溶解性^[6]。

2.3 糖基化

通过美拉德反应进行糖基化是一种改善蛋白质功能特性的有效方法,糖基化是一种自然发生的反应^[12],反应条件比其他化学改性方法温和,涉及蛋白质与多糖和小分子碳水化合物反应,并且低温下(60℃)在水溶液或其他低水分环境中即可进行。糖基化不仅可以改善蛋白质的功能特性,还能改变蛋白的生物学功能,如抗氧化活性^[5]。

已经证实不同的蛋白例如卵清蛋白、溶菌酶与大豆蛋白与葡聚糖、壳聚糖或半乳糖甘露聚糖等多糖的聚合产物的乳化性有明显的提高^[12]。Jiménez-Castaño 等在 60℃、水分活度为 0.44、多糖与蛋白的比例为 2:1 的条件下分析分子量为 10kDa 和 20kDa 的葡聚糖与乳清蛋白的糖基化反应,发现较低分子量的葡聚糖对蛋白质的糖基化程度更高,多糖的结合提高了 β -乳球蛋白、 α -乳白蛋白和血清蛋白在酸性条件下的溶解性以及 β -乳球蛋白和血清蛋白的热稳定性^[8]。Kika 等研究浓缩乳清蛋白与羧甲基纤维素在 60℃ 孵浴 5d 的美拉德反应,结果表明乳清蛋白与 CMC 的聚合产物的乳化稳定性显著提高^[10]。Chevalier 研究了六种小分子糖(阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、乳糖、鼠李糖和核糖)与 β -乳球蛋白的糖基化,样品与各种糖在 60℃ 加热 3d,发现在 pH5 的条件下加热时糖基化产物相比天然蛋白的热稳定性提高,乳球蛋白与阿拉伯糖或核糖的糖基化产物的乳化性增加,与葡萄糖或半乳糖的糖基化产物的起泡性比天然蛋白好,这项研究证明糖的性质是改善糖基化蛋白功能特性的关键因素^[4]。

3 乳清蛋白的酶法改性

酶促反应的条件比化学反应温和,也降低了改变食品的色泽、质地、营养和安全性的副反应。对乳清蛋白的酶法改性常用的是胃蛋白酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶和碱性蛋白酶等酶法水解,还有利用转谷氨酰胺酶对蛋白质进行交联。

3.1 酶法水解

儿童和新生儿对牛奶的过敏是最为普遍的过敏现象,据统计有 1%~2% 的新生儿对牛奶过敏,乳清蛋白中的 β -乳球蛋白和 α -乳白蛋白是最主要的过敏原。资料显示,对牛乳蛋白过敏的病人中 60%~80% 体内有特异性抗 β -乳球蛋白免疫球蛋白 IgE,降低牛乳蛋白的抗原性是生产乳制品需要解决的一大课题。

对乳清蛋白进行水解可以降低致敏性、提高功能特性,据报道用 α -糜蛋白酶、胃蛋白酶以及碱性蛋白酶水解乳清蛋白其抗原性降低^[1]。Van Beresteijn 等提出消除乳清蛋白水解物的免疫原性和致敏性其分子量要达到 3000~5000Da,乳清蛋白的水解应该有一定的限度,过度水解会产生苦味,降低食品的可口性。Kananen 等报道用亚硫酸钠处理浓缩乳清蛋白后,再用胃蛋白酶和胰蛋白酶水解,结果显

示,这种方法能够使大多数最终水解产物的分子量小于 2000Da 和 5000Da,β-乳球蛋白的致敏性显著降低几乎接近零^[9]。

3.2 酶法交联

多种酶如转谷氨酰胺酶、脂加氧酶、赖氨酸氧化酶、过氧化物酶、儿茶酚氧化酶、漆酶、蛋白二硫键还原酶、蛋白二硫键异构酶和巯基氧化酶等都能够催化蛋白质交联反应。转谷氨酰胺酶是应用较为广泛的酶,该酶使蛋白中谷氨酸 γ-羧基与赖氨酸 ε-氨基共价产生交联。在发酵过程中用微生物转谷氨酰胺酶处理乳能提高胶凝强度,而且使脱水收缩和产酸量降低。

4 展望

蛋白质可以赋予食品独特的功能特性,乳清蛋白改性是拓展其应用范围的重要途径。目前人们对改善乳清蛋白的功能特性的认识已经日益深入,但无论用哪种方法对蛋白进行改性都会存在一些问题。乳清蛋白的改性可能使其营养价值、蛋白溶解性和消化性降低,蛋白的糖基化会产生不利的褐变和降低食品的货架期,还可能造成食品安全风险,但它们揭示了调控蛋白性质的方法,引起了人们对工业生产中控制蛋白性质的可行加工方法的研究兴趣。美拉德反应是一个经典的化学反应,早在 1912 法国化学家 Louis-Camille Maillard 就观察到了这个现象,近年来人们对美拉德反应的反应机制及其对食品功能特性、营养与安全以及与人类疾病和衰老的关系有了更新的认识,并成为医学、生物学和食品行业研究的热点,它在食品中的应用具有广阔的发展空间。

参考文献

[1] Asselin J, Amiot J, Gauthier S F. Immunogenicity and allergenicity of whey protein hydrolysates [J]. J Food Sci, 1988, 53(4):1208~1210.
 [2] Bouaouina H, Desrumaux A, Loise C, et al. Functional properties of whey protein as affected by dynamic high-pressure treatment [J]. Int dairy J, 2005, 16(4):275~284.
 [3] Chakraborty J, Das N, Das K P, et al. Loss of structural integrity and hydrophobic ligand binding capacity of acetylated and succinylated bovine β-lactoglobulin [J]. In Dairy J, 2009, 19(1):43~49.
 [4] Chevalier F, Chobert Jean - Marc, Popineau Y, et al. Improvement of functional properties of β - lactoglobulin

glycated through the Maillard reaction is related to the nature of the sugar [J]. Int Dairy J, 2001, 11(3):145~152.

[5] Chobert Jean-Marc, Gaudin Jean-Charles, Dalgalarondo M, et al. Impact of Maillard type glycation on properties of beta-lactoglobulin [J]. Biotechnol Adv, 2006, 24(6):629~632.
 [6] Enomoto H, Li Can-Peng, Morizane K, et al. Glycation and phosphorylation of β - lactoglobulin by dry - heating; Effect on protein structure and some properties [J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(6):2392~2398.
 [7] Foegeding E A, Davis J P, Doucet D, et al. Advances in modifying and understanding whey protein functionality [J]. Trends Food Sci technol, 2002, 13(5):151~159.
 [8] Jiménez - Castaño L, Villamiel M, López - Fandiño R. Glycosylation of individual whey proteins by Maillard reaction using dextran of different molecular mass [J]. Food Hydr, 2006, 21(3):433~443.
 [9] Kananen A, Savolainen J, Mäkinen J, et al. Influence of chemical modification of whey protein conformation on hydrolysis with pepsin and trypsin [J]. Int Dairy J, 2000, 10(10):691~697.
 [10] Kika K, Korlos F, Kiosseoglou V. Improvement, by dry - heating, of the emulsion - stabilizing properties of a whey protein concentrate obtained through carboxymethylcellulose complexation [J]. Food Chem, 2007, 104(3):1153~1159.
 [11] Manoi K, Rizvi S S H, Rheological characterizations of texturized whey protein concentrate-based powders produced by reactive supercritical fluid extrusion [J]. Food Res Int, 2008, 41(8):786~796.
 [12] Oliver C M, Melton L D, Stanley R A, Creating proteins with novel functionality via the Maillard reaction: A review [J]. Crit Revs Food Sci Nutri, 2006, 46(4):337~350.
 [13] Sitohy M, Chobert Jean-Marc, Haertlé T. Phosphorylation of β-lactoglobulin under mild conditions [J]. J Agric Food Chem, 1995, 43(1):59~62.
 [14] Woo S, Richardson T. Functional properties of phosphorylation β-lactoglobulin [J]. J Dairy Sci, 1983, 66(5):984~987.
 [15] Zhu H M, Damodaran S. 1994. Heat-induced conformational changes in whey protein isolate and its relation to foaming properties [J]. J Agric Food Chem, 42(4):846~855.
 [16] Zhong Q, Jin M. Enhanced functionalities of whey proteins treated with supercritical carbon dioxide [J]. J Dairy Sci, 2008, 91(2):490~499.

本刊已开通采编平台, 投稿请登陆

www. spgykj. com