

综 述

谷朊蛋白的改性及应用

尹覃伟, 付时雨^{*}, 詹怀宇

(华南理工大学制浆造纸国家重点实验室, 广州 510640)

摘要: 近20年来, 利用动植物等可再生资源代替当前广泛使用的石化材料成为热门研究方向, 是消除污染、保护环境、实现绿色化学、推进人类社会与环境和谐发展的唯一途径。谷朊蛋白是谷类淀粉加工的副产物, 是植物代谢产生的天然植物蛋白, 一种生物可降解、可再生的天然高分子。由于其独特的粘弹性、延伸性、薄膜成型性和热凝固性等, 越来越受到人们的重视, 不仅拓宽了在食品工业中的应用领域, 还可作为价格适宜、性能优良的高分子材料应用于其它领域。本文介绍了有关谷朊蛋白的组成、近年来国内外改性原理和方法, 及其潜在的应用。

关键词: 再生资源; 谷朊蛋白; 改性; 应用

引言

谷朊蛋白(又称面筋蛋白)是谷类淀粉加工的副产物。1728年意大利人 Beccari^[1]从小麦面粉中洗出, 确立了谷朊蛋白的存在; 1907年, Osborne^[2]根据小麦粒中蛋白质的溶解特性, 将它分成清蛋白、球蛋白、麦醇溶蛋白(麦胶蛋白)和麦谷蛋白等四种蛋白质。

谷朊蛋白最早作为小麦淀粉生产的副产品, 与纤维等一起作饲料用。随着研究的深入及食品行业对添加剂的需求, 谷朊蛋白的使用价值逐步受到人们的重视。由于淀粉加工业的发展, 如发酵能源乙醇, 谷朊蛋白的产量增长迅速, 2001年据统计世界谷朊蛋白生产能力近100万吨, 在食品、饲料行业的谷朊蛋白消费量约80万吨/年, 有大量过剩的谷朊蛋白有待深加工和高值化利用。我国是个农业大国, 小麦产量位居世界第一, 预计2010年谷朊蛋白年产量将达到30万吨, 因此谷朊蛋白的开发研究对合理利用资源、实现经济可持续发展具有十分重要的意义。

谷朊蛋白是一种可再生的天然高分子蛋白, 具有生物可降解性和生物相容性, 因此许多科学家致力研究以谷朊蛋白为基质的新型高分子材料, 并利用物理、化学、酶法等更多方法尝试改性谷朊蛋白, 得到新型高分子功能材料。用谷朊蛋白这一可再生资源作为化工原料, 为人们合理利用资源和能源, 减低生产成本, 实现绿色化学提供新途径。

1 谷朊蛋白化学组成

谷朊蛋白中主要含有麦醇溶蛋白和麦谷蛋白, 合称储藏蛋白(占小麦蛋白干基的80%左右)。麦醇溶蛋白是一种单体蛋白, 分子较小(25,000—80,000Da), 分子内有—S—S—, 结构紧密呈球形, 分子内含有大量 α -螺旋结构, 富含谷氨酰胺, 水化后有很大粘性, 无弹性、韧性和抗延伸性, 具有良好流变性、延伸

基金项目: 广东省科技计划资助项目(编号2005B33302016);

作者简介: 尹覃伟(1981—), 女, 华南理工大学硕士研究生, 主要从事造纸助剂高分子的合成及应用研究;

^{*} 联系人: email: shyfu@scut.edu.cn.

性和膨胀性,能形成小分子面筋。而麦谷蛋白是一种大分子量复合体(80,000Da 以上),有 HMW 和 LMW 谷蛋白亚基;不仅存在分子内—S—S—,也存在分子间—S—S—,能形成纤维状大分子。—S—S—又是一种多平面的结构,具有三维的立体空间,键力比较强,使面筋具有一定的弹性^[3,4];麦谷蛋白结构不规则,分子内含 β-折叠结构较多,水化后有良好弹性、韧性和抗延伸性,无粘性,延伸性差,能形成大分子面筋网络。这两种独特的蛋白赋予了谷朧蛋白粘弹的网络结构特性,是其它蛋白无以媲美的。

谷朧蛋白的氨基酸组成见表 1^[5],其中谷氨酸含量非常高(约 35%),其在蛋白质中的存在形式是谷氨酰胺,而非游离酸。它和天冬酰胺在蛋白质的侧链结构中参与氢键的形成,在稳定蛋白质的结构和提高麦谷蛋白和麦醇溶蛋白的交联作用中扮演着重要的角色。谷朧蛋白中碱性氨基酸(精氨酸、组氨酸、赖氨酸)较少,含脯氨酸较多,约占氨基酸总量的 14%,由于它的环状(氮戊环)结构,肽链到此有一转折,使谷朧蛋白无法形成 α-螺旋结构,从而形成大量具保气能力的氢键^[5]。而且从表中可以看出谷朧蛋白中含有较多的非极性残基如亮氨酸、脯氨酸,它们以疏水交互作用存在,分子内疏水作用区域较大,进一步降低小麦面筋的亲水性^[6]。

表 1 谷朧、麦谷及麦醇溶蛋白的氨基酸组成(mg·g⁻¹)

Table 1 The amino acid composition of gluten, glutenin and gliadin(mg·g⁻¹)

氨基酸	谷朧蛋白	麦谷蛋白	麦醇溶蛋白
精氨酸	20	15	20
组氨酸	15	15	13
赖氨酸	9	5	13
苏氨酸	21	18	26
丝氨酸	40	38	50
天冬氨酸	22	20	23
谷氨酸	290	317	278
甘氨酸	47	25	78
丙氨酸	30	25	34
缬氨酸	45	43	41
亮氨酸	59	62	57
异氨酸	33	37	28
酪氨酸	20	16	25
苯丙氨酸	32	38	27
色氨酸	6	5	8
半胱氨酸	14	10	10
蛋氨酸	12	12	12
脯氨酸	137	148	114

谷朧蛋白氨基酸组成分析表明,谷氨酰胺、半胱氨酸、非极性氨基酸等氨基酸以多种形式把蛋白质键合在一起。谷氨酰胺和非极性氨基酸是以氢键的方式,半胱氨酸以二硫键,极性氨基酸以静电作用交联。当面粉吸水、揉合后形成面团,谷朧蛋白中的二硫键在氧化、还原作用下,发生重排和重组,形成面筋。麦谷蛋白通过二硫键交联形成面筋网络的主干结构,较小的球状麦醇溶蛋白通过非共价键(氢键和疏水键)掺入面筋蛋白中^[7,8],如图 1 所示。面筋这种独特的结构和性质主要取决于其含特殊蛋白质的数量和类型。

3 谷朧蛋白的改性

谷朧蛋白作为淀粉加工副产物,来源丰富,价格便宜。它不仅具有极强的吸水性、持水性、粘弹性、延

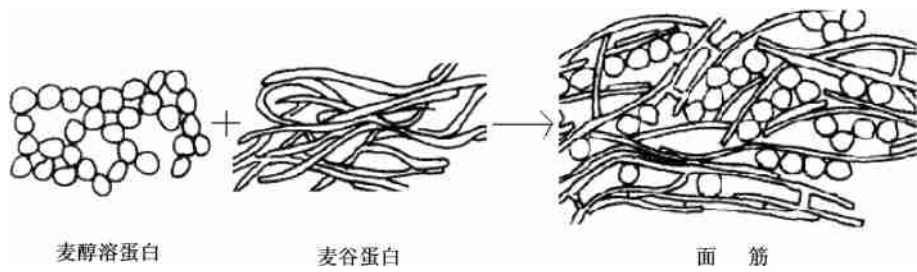


图 1 面筋形成过程
Figure 1 The process of gluten doughs

伸性、薄膜成型性和热凝固性等,还具有优良的生物降解性和生物相容性,可作为高分子原料代替传统的石化材料。谷朊蛋白自身独特的氨基酸组成,使谷朊蛋白具有独特的粘弹性;但由于含较多的疏水性氨基酸和不带电荷的氨基酸,分子内疏水作用区域较大,溶解度较低,在进一步开发应用谷朊蛋白上有很大的局限性。要高值化利用谷朊蛋白,首先要增大其溶解性或使其良好的分散于溶液体系。

3.1 酰化改性(Acetylation and Succinylation)

蛋白质的酰化改性是蛋白质分子的亲核基团(如氨基或羟基)与酰化试剂(琥珀酸酐和乙酸酐)中的亲电基团——羰基相互反应,从而将蛋白质的氨基阳离子用阴性的酰基封闭,增加蛋白质的净负电荷,减少正电荷。酰化使蛋白质净负电荷增加,近程斥力代替远程引力,从而使蛋白质结构舒展开,减弱氨基和羰基之间的引力,降低蛋白质分子集聚的程度,增大蛋白质的水溶性,其它功能性也随之增大^[9]。酰化后的蛋白质分子表面电荷下降,多肽链伸展和空间结构改变,提高分子柔韧性,从而增加了蛋白质的溶解性、持水束油性、乳化性和发泡性,改善了蛋白产品的风味^[10]。

乙酰化谷朊蛋白的功能性随酰化程度的增加,先增加后降低;但琥珀酰化谷朊蛋白随酰化程度增加,功能性一直增加。琥珀酰基($\text{HOOCCH}_2\text{CH}_2-\text{CO}-$)同乙酰基($\text{CH}_3-\text{CO}-$)相比较,多了一个亲水性极强的羧基,琥珀酰基的亲水性比乙酰基强,在相同条件下,琥珀酰化对谷朊蛋白功能性的改善会明显优于乙酰化改性^[11]。在相同酸酐添加量和反应条件下,谷朊蛋白的乙酰化改性度大于琥珀酰化改性度,因为乙酸酐是液体,更易分散到反应体系中;琥珀酸酐是固体,需要更多的添加量或反应时间才能达到和乙酸酐相当的水平;而且为线性的乙酸酐分子相对于球状的琥珀酸酐分子对谷朊蛋白的空间位阻较小,反应性高^[10, 11]。

酰化改性后,谷朊蛋白在中性溶液中的溶解度大大增加,乳化性、起泡性、起泡稳定性等功能特性也随之显著改善。但有研究表明,蛋白质琥珀酰化程度的提高,干扰蛋白质利用的生物作用,不利于动物的消化和吸收^[12]。对于酰化蛋白质,应进一步研究阐明其代谢机制和安全性,探讨是否可作为食品工业原料。

3.2 磷酸化改性(Phosphorylation)

谷朊蛋白的磷酸化改性是无机磷酸(P)与蛋白上特定的氧原子(Ser、Thr、Tyr 的 OH)或氮原子(赖氨酸的ε-氨基,组氨酸的咪唑环 1、3 位 N,精氨酸的胍基末端 N)进行酯化反应形成 $-\text{C}-\text{O}-\text{P}$ 或 $-\text{C}-\text{N}-\text{P}$,分别接入磷酸基团,使之变成 $(\text{Thr、Tyr})\text{Ser}-\text{PO}_3^{2-}$ 和 $\text{Lys}-\text{PO}_3^{2-}$ 。引进大量的磷酸根离子基团,增加蛋白质体系电负性,提高蛋白分子之间静电斥力,降低乳状液表面张力,更易形成乳状液滴,相互排斥,均匀分散在体系中,从而提高溶解度、聚集稳定性。磷酸化还能提高谷朊蛋白的凝胶性和乳化性。

磷酸化试剂之一 POCl_3 是美国 FDA(食品及药物管理局)允许使用的食品添加剂,可以促进蛋白发生交联,提高其胶黏性。氯原子的电离子性强,易攻击蛋白质残基。贾光锋^[13]通过单因素及正交实验得知 7.5% 谷朊蛋白在 $\text{pH}=6.0$ 、 POCl_3 0.5mL 下改性,谷朊蛋白的黏性最大为 2.88mPa·s。

李瑜等^[14]采用三聚磷酸钠(Sodium Tri-metaphosphate, STMP)磷酸化谷朊蛋白,溶解度、乳化度、稳定性、起泡性均比未改性前有极其显著的改善,乳化度高达 100%。磷酸化改性后的谷朊蛋白可成为一种高乳化蛋白,面筋筋力增强,面团黏弹性和延伸性提高,制得的面包蜂窝均匀细腻,香软可口。

童群义^[15]用三聚磷酸钠和乙酸酐复合改性谷朊蛋白,溶解度为 88.3%,乳化度为 98.8%(三聚磷酸钠和乙酸酐总用量为谷朊蛋白的 15%,三聚磷酸钠和乙酸酐的添加比例为 3:2)。谷朊蛋白分子中含有同时能与磷酸盐和乙酸酐反应的—OH 和—NH₂,当谷朊蛋白依次与乙酸酐和磷酸盐反应,效果明显优于单独的磷酸化改性或乙酰化改性,成为一种高乳化性蛋白。

3.3 去酰胺改性(Deamidation)

在蛋白质分子结构中,由于 α -氨基、 α -羧基大多结合成肽键,所以蛋白质的性质主要由侧链决定。要提高和拓宽蛋白质的功能特性,就必须从改变蛋白质的侧链结构入手,对含量较多的天冬酰胺(Asn)和谷氨酰胺(Gln)进行去酰胺改性,在较温和的条件下(如弱酸环境),脱去酰胺基,生成天冬氨酸(Asp)和谷氨酸(Glu)^[7,8],增加羧酸基的含量,改变蛋白电荷,从而降低它们在蛋白质分子中形成氢键的能力,增大溶解性,改善蛋白的功能特性。

3.3.1 酸、碱法去酰胺改性 酸、碱法去酰胺改性是在比较温和的条件下进行的。Bhatt^[16]等发现,酸性条件下,去酰胺反应是直接水解蛋白链上的酰胺基团,脱氨形成羧酸进行的。酸法去酰胺,增加溶液中的负电荷,有利于谷朊蛋白在界面上展开和定向排列,使体系黏性和分散性大为提高。Woodar 和 Shord^[17](1973)试验在 1.0mol/L HCl 溶液中,75℃下处理 30min 得到的去酰胺谷朊蛋白,有良好的溶解性、乳化性以及起泡性。但酸法去酰胺需在高温进行,且在酸的催化下肽键水解程度难控制,蛋白质部分变性。国外报道用硫酸、磷酸、氯磺酸改性谷朊蛋白,可以吸收相当于其重量 200 倍的水^[8]。国内这方面的研究起步较晚,史新慧^[9]对用酸改性谷朊蛋白进行了初步的探索,在盐酸浓度为 0.3mol/L,70℃作用 30min 溶解度 3.0%上升到 54.8%,乳化度从 8.0%上升到 60.4%。

在碱性条件下,碱作为亲核试剂激活剂,使酰胺释放出氨,同样有助于体系黏性和分散性的提高^[20]。用碱催化去酰胺改性虽然速度快,但使得蛋白质中的氨基酸发生消旋作用,使必需氨基酸的 L-对映体减少和消化率降低,并产生有毒的 D-氨基酸^[21]、赖丙氨酸,毒理研究表明它对小鼠肾有毒害作用^[22],使得谷朊蛋白的营养价值大大降低,因此研究甚少。

3.3.2 酶法去酰胺改性 在蛋白酶中存在一些能去酰胺的生物酶如中性蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶,及胰凝乳蛋白酶等,在一定条件下能有效地控制其水解肽键的能力,得到不同肽链的蛋白质。酶法改性具有可控性强、条件适中、耗能少、专一性强及副产物少等优点而广受重视。

谷朊蛋白经过酶作用,肽链断裂形成多肽和小分子短链物质,末端基(—NH₂ 和—COOH)的数目增多,电荷密度增大,亲水性增加,溶解性提高^[23]。酶浓度增加,酶对植物蛋白的水解程度加大,蛋白质分子断裂成许多肽段,疏水基暴露,降低了界面张力,乳化性增加;酶浓度继续增加,乳化性则缓慢降低。这可能是由于包裹在油滴表面的肽段越来越小,使油滴表面的保护层越来越薄,导致乳化性降低;酶浓度再增加,水解程度增加缓慢,乳化性趋于稳定。

齐军茹^[24]用枯草杆菌中性蛋白酶 AS1139 对谷朊蛋白进行改性,经酶解后的谷朊蛋白溶解度、乳化能力、起泡能力大大提高,乳化能力在 DH(水解度)1.3%时达到最大值,2.82%时起泡能力最大。

赵冬艳^[25]用 Alcalase(碱性蛋白酶),属 A 型碱性蛋白酶,由地衣芽孢杆菌产生,作用部位是丝氨酸,催化类型是内切型,切开点羧基侧为疏水性芳香氨基酸(酪、苯丙氨酸)的肽键。Alcalase 酶的水解能力较强,较低酶浓度就可水解大量蛋白质,生成亲水性较强的小肽,形成水包油结构,乳化性较高。谷朊蛋白的乳化性随碱性蛋白酶浓度的升高而降低,因为酶液浓度大,水解出的小肽更短,极性更小,形成了油包水结构,所以按水包油来计算的乳化性则下降。研究发现在 pH 值为 5.5~10.0 范围乳化性先增后减,pH=8 左右时乳化性最大。

木瓜蛋白酶与其它蛋白酶相比,在高温较稳定,可将蛋白质水解为小分子肽。孔祥珍^[26]用木瓜蛋白酶催化去酰胺改性谷朊蛋白,其去酰胺度达到 50%左右,溶解度大大提高。木瓜蛋白酶活性中心的半胱氨酸的巯基和组氨酸的咪唑基的解离状态对它的催化活性影响最大,这两种基团在催化反应中都经历了质子化与去质子化两种状态,但过高或过低 pH 值都会限制这两种状态的转变,影响其催化活性^[27]。木

瓜蛋白酶在 pH 为 7.0 和 5.0 对谷朊蛋白有较高的催化活性。赵冬艳^[28] 研究最佳反应条件为: 11.0% 谷朊蛋白, 酶浓度 25μL/g 谷朊蛋白, 反应时间为 2h, pH 值为 7.0, 反应温度为 55℃, 改性谷朊蛋白的乳化活性为 72.4%, 乳化稳定性为 75.5%, 水解度为 3.5%。

国外有报道^[29] 转谷氨酰胺酶在 pH=10 的条件下, 于 20℃ 处理谷朊蛋白 2h, 得到去酰胺程度 25% 的改性蛋白。赵冬艳利用转谷氨酰胺酶对谷朊蛋白乳化性进行改良, 最佳酶水解条件为: 6.0% 谷朊蛋白在酶浓度 1.0%, pH=5.0, 45℃ 下反应 1.0h, 乳化性为 84.9%, 乳化稳定性 85.7%。

酶法去酰胺, 条件温和, 反应效率高, 蛋白质的异构化和氨基酸损失大为减少, 从营养和经济上讲, 都明显优于酸、碱改性。

3.3.3 混合改性 在酶和酸改性的过程中, 肽链断裂, 端基(—NH₂ 和—COOH) 的数目增多, 溶解度增大, 但仍然保留了相当数量的不溶性残基, 功能特性的提高受到了很大的限制。用混合改性的方法将谷朊蛋白先用蛋白酶处理, 增大溶解度, 再通过化学反应接枝上更多的亲水性基团或功能特性基团, 提高溶解度或者使谷朊蛋白成为特殊功能材料, 是极有发展前景的一种改性手段。

国内外关于混合改性谷朊蛋白的研究较少。1991 年 Kato^[30] 试验用蛋白酶处理谷朊蛋白后再将葡聚糖通过羰氨缩合共价接于谷朊蛋白(用酶处理过的) 中。该反应无须加入任何化学试剂, 只是将葡聚糖与谷朊蛋白以一定的比例混合于 60℃, 79%RH 的干燥器中放置 3 周。葡聚糖虽只有一个活性中心, 但谷朊蛋白用酶处理后, 一个面筋肽链可以和几个葡聚糖结合, 从而大大提高了它的溶解度。

3.4 共价交联作用(Covalent Cross-linking Effect)

谷氨酰胺转氨酶(TGase, E.C. 2.3.2.3)、过氧化物酶(POD, E.C. 1.11.1.7) 和多酚氧化酶(PPO, E.C. 1.14.18.1) 能使蛋白质产生交联作用^[31, 32]。

谷氨酰胺转氨酶是一种催化蛋白质分子交联的单体蛋白酶类, 整体亲水性高, 活性一般为 22.6μ/mg, 等电点为 8.9, 最适作用温度为 50℃, 最适 pH 为 6~7, 能催化蛋白质分子内的交联、分子间的交联、蛋白质和氨基酸之间的连接以及蛋白质分子内谷氨酰胺酰胺基的水解。它利用肽链上的谷氨酰胺残基的 γ-甲酰胺基做为酰基供体, 而酰基受体可以是:

(1) 多肽链中赖氨酸残基的 ε-氨基, 形成蛋白质分子内和分子间的 ε- (γ-谷氨酰基) 赖氨酸异肽键, 使蛋白质分子交联, 改善发泡性、溶解性、乳化性、持水能力等, 同时通过保护赖氨酸, 防止发生美拉德反应。

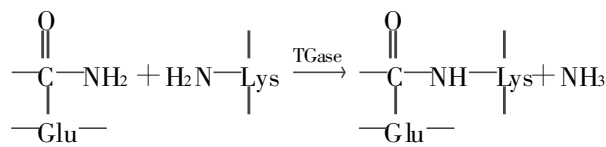


图 2 谷氨酰胺转氨酶催化机理 (1)

Figure 2 The mechanism of catalysis by transglutaminase (1)

(2) 伯胺基, 形成蛋白质分子和小分子伯胺之间的连接, 从而可将一些限制性氨基酸引入蛋白质中, 以提高其营养价值。

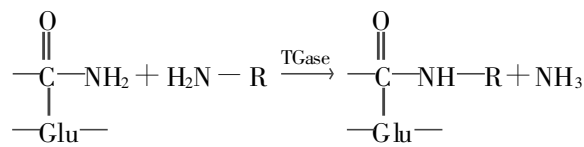


图 3 谷氨酰胺转氨酶催化机理 (2)

Figure 3 The mechanism of catalysis by transglutaminase (2)

(3) 当不存在伯胺时, 水会成为酰基受体, 结果是谷氨酰胺残基脱去氨基生成谷氨酸残基, 该反应可用于改变蛋白质的等电点及溶解度^[33]。

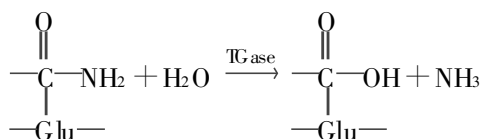


图 4 谷氨酰胺转氨酶催化机理 (3)

Figure 4 The mechanism of catalysis by transglutaminase (3)

利用此反应能改善食品蛋白质的某些功能性质。有报道采用转谷氨酰胺酶将赖氨酸或蛋氨酸共价连接到谷氨酰胺残基,从而将谷胱蛋白中必需氨基酸含量从 1.5g 提高到 7.6g/100g 氨基酸,提高谷胱蛋白营养。

Larré^[34] 用 TGase 酶催化改变谷胱蛋白的骨架结构,提高粘弹性。酶处理过后的谷胱蛋白,储能模量 G' 提高,损耗模量 G'' 降低。研究发现在强烈的反应条件下, α -、 β -麦醇溶蛋白和 LMW 谷蛋白亚基较少参与异肽键的形成。LMW 和 HMW 谷蛋白亚基虽然都含有相当多的谷氨酰胺基团,但每 1mol HMW 谷蛋白亚基含有 6~8mol 赖氨酸^[35], 1mol LMW 谷蛋白亚基却只有 1mol 赖氨酸^[36], 这就是 LMW 谷蛋白亚基在 TGase 酶催化下较少参与共价交联的原因。

Sander^[37] 研究了 E. coli 植株提取的重组物 dB1 蛋白,此蛋白含有 64 个谷氨酰胺残基,无赖氨酸。在 37℃ 下用 TGase 催化, dB1 蛋白与羟胺反应,用 MALDI-TOF 质谱、Nanospray 质谱检测发现羟基按照一定序列接到不同谷氨酰胺残基上,其中与脯氨酸残基相联结的谷氨酰胺没有接枝上羟基,由于脯氨酸形成的 β -折叠使相邻的谷氨酰胺难被 TGase 催化,不与羟胺反应。

通过 TGase 催化共价交联,可将赖氨酸等必需的氨基酸接入谷胱蛋白,提高营养价值。这种共价结合作用对蛋白质的强化效果要好于机械式的添加作用,因为通过共价键结合而增补的氨基酸,在食品加工、贮藏、烹饪过程中稳定性高,且得到的蛋白质也易于消化。

Michon^[38] 用山葵过氧化物酶 HRP、大豆过氧化物酶、锰过氧化物酶 MnP 在 H_2O_2 条件下催化谷胱蛋白中酪蛋白,两个酪蛋白在苯环上发生交联,提高谷胱蛋白膜的拉伸强度。

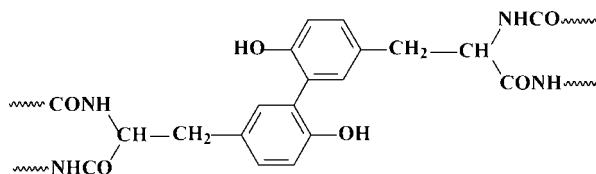


图 5 二酪蛋白结构

Figure 5 The structure of dityrosine

过氧化物酶的催化机理如图 6 所示:

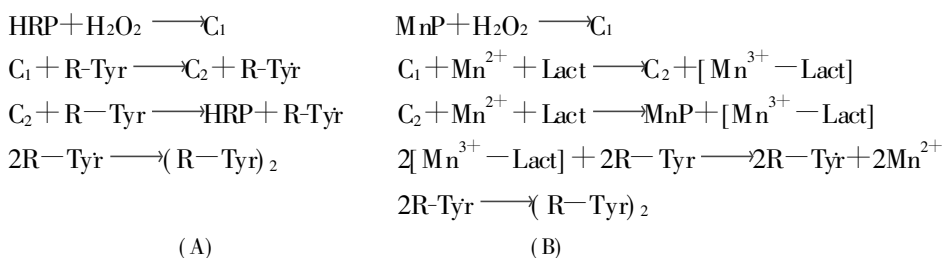


图 6 过氧化物酶催化氧化酪蛋白交联机理:

(A) HRP; (B) MnP (其中 MnP 催化机理是由 Kuan^[39] 提出)

C_1 —Compound 1; C_2 —Compound 2

Figure 6 Mechanism for (A) HRP- and (B) MnP-catalyzed oxidation of tyrosine.

(MnP tyrosine oxidation was derived from the general MnP mechanism postulated by Kuan^[39]).

C_1 : compound 1; C_2 : compound 2

3.5 氧化还原反应

在谷朊蛋白构象和性能中,二硫键起着重要的作用。在氧化还原作用下,二硫键与巯基可发生相互转换,如图 7 所示。

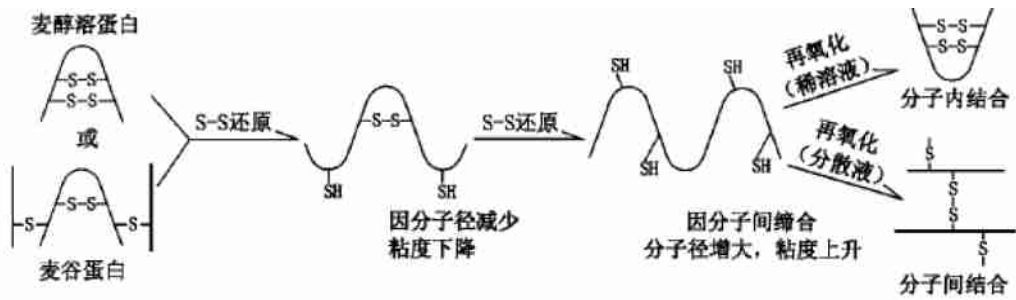


图 7 二硫键与巯基相互转化

Figure 7 The conversion between disulphide bonds and sulphhydryl groups

Bert^[40] 分别考察了溴酸钾、碘酸钾以及还原剂二硫苏糖醇 DTT 对谷朊蛋白的影响。还原剂二硫苏糖醇 DTT 在加热初期,谷朊蛋白粘度下降很快,二硫键被还原为游离巯基;但随着温度上升,粘度提高,因为在热的作用下,部分巯基发生分子内以及分子间的交联,使得粘度提高。降温,则粘度下降。在添加氧化剂溴酸钾、碘酸钾后,巯基含量减少,被氧化为二硫键,粘度提高。Verbruggen^[41] 用分子氧(慢氧化剂)和碘酸钾(快氧化剂)对谷朊蛋白改性聚合,研究发现 LMW 谷蛋白亚基比 HMW 亚基更容易聚合形成大分子。

3.6 物理改性

物理改性是指利用热能、机械能、声波能等物理手段对蛋白质改性,目前主要集中在热变性和挤压变性研究。通过适度的热变性、添加增塑剂、机械处理、挤压、冷冻、质构化、紫外照射和超声波等方式改变蛋白质的高级结构和分子间的聚集方式,从而改善植物蛋白的功能性和营养特性,具有费用低、无毒副作用、作用时间短以及对产品营养性质影响较小等优点。

微波加热时间增加,温度升高,谷朊蛋白分子构象轻微改变,分子立体结构伸展,有利于谷朊蛋白分子和水分子的运动及其相互作用,溶解性增加,乳化性随之增加。但当加热时间再增加,温度高于谷朊蛋白的变性温度,断裂蛋白质空间构象中的弱键,破坏了肽键特定结构,原来在分子内部的一些非极性基团暴露到分子表面,使蛋白质的溶解度降低,谷朊蛋白的乳化性也随之降低。赵冬艳^[42] 用 560W 微波处理 9.0% 的谷朊蛋白 100s,其乳化活性及乳化稳定性均为 100%,且改性后溶解度由 7.67% 提高到 37.62%。王若兰^[43] 微波处理小麦谷朊蛋白液后制膜,谷朊蛋白膜结构更加均匀、致密、规则,延伸性提高。

Bert^[44] 加热 20% 谷朊蛋白液,加热初期,粘度下降,这是由于加热阶段蛋白构象发生变化以及氢键被打断,巯基含量不变;70~80℃ 巯基含量减少,氧化生成二硫键,蛋白交联,粘度升高;保温阶段 95℃ 更多的巯基转变为二硫键,蛋白粘度继续上升。若在反应体系中添加 0.02mol 的 N-乙基马来酰亚胺封闭巯基,发现在加热和保温阶段粘度没有提高,有力证明巯基和二硫键的相互转换,是引起蛋白聚合、粘度变化的主要原因。

4 谷朊蛋白作为高分子材料的应用

大部分石化高分子材料都不能生物降解,当被弃用于大自然中,很难被降解,势必会造成严重的环境问题。因此,可生物降解高分子的开发成为近年来的研究热点。作为一种植物蛋白,谷朊蛋白有着石化材料无法比拟的优点:来源丰富,具可再生、可降解性。通过物理、化学、生物等方法改性,谷朊蛋白可开发成谷朊蛋白膜、谷朊蛋白塑料、谷朊蛋白胶等新型的可生物降解的功能材料。

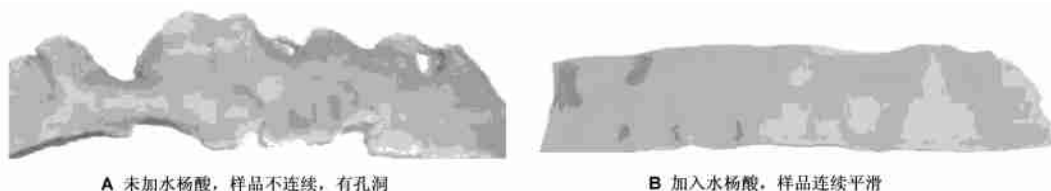
4.1 膜材料

谷朊蛋白中含有大量的谷氨酸(约 35%),在蛋白之间形成较多氢键,蛋白链之间缺乏流动性,形成的薄膜具有刚性结构且表面粗糙,膜脆性大,实用性差。在成膜时,加入一定量的增塑剂(主要是小分

子、高沸点醇类化合物), 与蛋白高分子较好地相互融合在一起, 能改善蛋白膜的脆性^[45]。增塑剂主要是乙醇、甘油、山梨糖醇、丙二醇等相对分子质量较小的亲水性分子, 可轻易插入蛋白分子链间, 并与酰胺基团形成氢键。蛋白分子间或分子内本身的相互作用会大为减弱, 降低膜的刚性, 提高膜的柔韧性和延伸性。添加了增塑剂的谷朊蛋白膜柔软、有光泽和富有弹性^[46]。谷朊蛋白膜的制备都采用相似的流程: 谷朊蛋白与乙醇—水相混, 加入 Na_2SO_3 等还原剂打断二硫键, 提高谷朊蛋白溶解性, 再加入甘油等增塑剂, 注入容器或薄板成膜^[47~49]。

彭海萍^[49,50]报道谷朊蛋白溶于 50%乙醇中, 加入增塑剂甘油, 调节溶液的 pH, 在一定温度下反应 30min 后制膜。膜的透明性好, 水溶性降低; 具有良好的隔绝水、 CO_2 和 O_2 能力, 膜的抗拉强度高, 并具有较好的韧性。Olabarrieta^[51]报道, 在 $\text{pH}=11$ 下制得的膜交联度高, 结构均匀, 性能强度稳定。酸性条件 ($\text{pH}=4$) 下制得的膜交联度不高, 但在熟化过程中蛋白继续交联聚合, 硬度和强度有所增强, 延展性降低。Olabarrieta^[52]在谷朊蛋白的丙醇—水体系里面添加片状的高岭土后制膜, 膜拉伸强度有较大提高。

Ullsten^[53]在谷朊蛋白中添加水杨酸用以提高膜平滑性和连续性。水杨酸在橡胶工业中多用作自由基清除剂^[54~55]。水杨酸的存在, 使得蛋白之间交联度不高, 在高温下谷朊蛋白膜也能保持较好的柔软性。在 $110\sim 120^\circ\text{C}$ 下, 谷朊蛋白膜的剪切模量没有显著增加; 提高成型上限温度至 135°C 时, 剪切模量也没显著增大, 说明添加水杨酸后谷朊蛋白膜具有抗焦脆性。而且水杨酸特有的抗菌性可稳定蛋白膜的性质^[56]。



A 未加水杨酸, 样品不连续, 有孔洞

B 加入水杨酸, 样品连续平滑

图 8 添加水杨酸前后谷朊蛋白膜的差异

Figure 8 Wheat gluten films extrudate without (A) and with 1wt% salicylic acid (B)

陈新健^[57]在谷朊蛋白加入 1.5%的甘油和 2.0%的硬脂酸制得的可食性保鲜膜。谷朊蛋白有良好的乳化性, 与疏水的硬脂酸形成均匀稳定的乳胶漆, 干燥后膜表面紧密一致, 阻湿的硬脂酸分子均匀分布于谷朊蛋白膜基质内, 提高膜的阻湿性, 降低透湿性, 保鲜效果较好。涂抹于新鲜荔枝表面, 可使荔枝的保鲜期由 2~3 天延长到 7 天。

Paz 等^[58]研究谷朊蛋白膜的乙烯渗透性, 膜的相对湿度对乙烯渗透的影响呈指数关系。与商用的甲基纤维素膜、尼龙膜、纤维素膜、玻璃纸膜、聚酰胺膜对比, 谷朊蛋白膜的乙烯渗透最小, 有望代替传统的塑料膜用于水果蔬菜保鲜。

4.2 共混材料

早在 1916 年国外就把谷朊蛋白和石棉共混成型, 制造 Model T Ford 的磁发电机线圈盒^[59], 如图 9 所示。

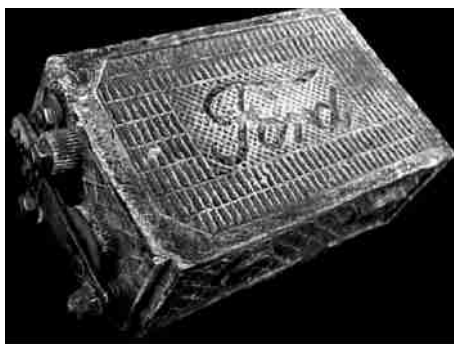


图 9 Model T Ford 的磁发电机线圈盒^[59]

Figure 9 Magento coil from Model T Ford^[59]

Ye^[60]将谷朊蛋白和火山石玄武岩共混注塑成型,降低谷朊蛋白膜的脆性,提高断裂应力。Guilbert^[61]将木粉与谷朊蛋白按照300:75的比例混合,热压成型,制备木纤维芯板材,具有良好的强度。Wang和Carriere等^[62]用一种新型热塑性可降解聚合物——聚羟基醚酯与一份大豆分离蛋白和两份谷朊蛋白混合,杨氏模量达到0.8~1.5 GPa,拉伸强度10~30 MPa,其机械性能与聚苯乙烯相媲美。

Marion^[63]将小麦谷朊蛋白与碳链长度不同的饱和脂肪酸混合加热注塑,混合物的塑性符合Couchman-Karasz方程式。脂肪酸碳链越长,最大扭矩出现的时间越长,与小麦谷朊蛋白的反应性越差。

脂肪聚酯有很强的机械性能和生物降解性,但是由于昂贵的价格限制了它的应用。国外有人研究在谷朊蛋白中加入低分子量的多醇物(如甘油、乙二醇)作为增塑剂,共混制备成颗粒状后再与脂肪聚酯在双螺旋挤压机中混合加热共混做聚酯塑料。可部分代替昂贵的脂肪聚酯原料,并提高聚酯塑料的生物降解性^[64]。将谷朊蛋白聚酯塑料制得的膜埋在土壤中进行生物降解实验,4周后发现膜变脆,8周后膜降解为碎片,难以成型,说明谷朊蛋白的聚酯塑料膜具有很好的生物降解性。

4.3 其它功能材料

Noznick^[65]发明的谷朊蛋白胶囊可以延缓风味物质的释放,色泽的衰退和药物有效成分的散失。Aranyi^[66]用乙酸水解谷朊蛋白,乙撑氧环氧化改性谷朊蛋白,再与甲基丙烯酸乙酯共混加热反应,涂布在玻璃纸上制得性能较好的压敏胶带。Tsuda^[67]利用部分水解的谷朊蛋白合成性能良好的去污剂。Connick^[68]以谷朊蛋白为基质制成杂草致病菌胶囊。Bassi^[69]用还原剂打断谷朊蛋白的二硫键,以6%~18%的量与涂布填料混匀,涂布液粘度 $\leq 2000 \text{ MPa} \cdot \text{s}$,固含量25%~57%之间,适合高速涂布。涂布后纸页光泽度提高,且易碎浆回收。

5 前景

谷朊蛋白由于其可再生、可生物降解、价格便宜,改性后具有良好的水溶性、乳化性和分散性等特性,不仅拓宽了它们食品工业中的领域,还可为作为一些昂贵材料的代用品,为相关产品生产商提供一种性能优良、价格适宜的材料。在我国,谷朊蛋白的研究还处于初级阶段,对其利用主要集中在食品领域,在高附加值的工业利用上几乎空白。随着小麦产量日益提高,开发谷朊蛋白这种可再生可生物降解材料,对植物资源高值化利用具有极其重要的意义。

参考文献:

- [1] Bailey C H. Cereal Chem, 1941(18): 555~561.
- [2] Osborne T B. Publication 84. Washinton DC, Carnegie Institution of Washinton, 1907.
- [3] Roger W J. J Cereal Sci, 1991(14): 209~221.
- [4] Payne P J, Corfield K G. Planta, 1979(145): 83~88.
- [5] 杨春梅. 西部粮油科技, 2000(11): 24~25.
- [6] Matsudomi N, et al. Agri Biol Chem, 1986, 50(8): 1989~1994.
- [7] 张为赛. 高等食品化学(第3版). 台湾: 华香园出版社, 1984. 67.
- [8] 菲尼马 O R. 食品科学(第2版). 王璋译. 北京: 轻工业出版社, 1991. 287.
- [9] Paulson A T, Tung M A. J Food Sci, 1987, 52(6): 1557~1561.
- [10] Gruener I, Ismond M A H. J Food Chem, 1997, 60(3): 357~363.
- [11] Gruener I, Ismond M A H. J Food Chem, 1997, 60(4): 513~520.
- [12] 李丹, 崔凯. 食品与发酵工业, 1999, 25(6): 58~62.
- [13] 贾光锋, 邹乐, 王金水. 食品工业科技, 2004(2): 78~80.
- [14] 李瑜. 郑州工程学院学报, 2002, 23(2): 49~52.
- [15] 童群义. 中国粮油学报, 2004, 19(6): 11~13.
- [16] Bhatt N P, Neelina P, et al. Phamaceutical Res, 1990, 7(6): 593~599.
- [17] Woodar J C, Shord D D. Nutrition, 1973: 103~569.
- [18] Maningat C C, Bassi S D, Hesser J M. Amer Ins Baking Techn Bull, 1994, 16(6): 1~8.
- [19] 史新慧. 郑州粮食学院学报, 2000, 21(1): 27~29.

- [20] Batey I L, Gras P W. *J Food Technol*, 1981, 16(5): 561~566.
- [21] 钟月明. 食品科学. 1991, (11): 34.
- [22] 何慧如, 詹朝, 马美蓉. 食品科学(台), 1992(2): 241~252
- [23] Ma C Y, Oomah B D, Holme J. *J Food Sci*, 1986, 51(1): 99~103.
- [24] 齐军茹. 郑州工程学院学报, 2001, 22(4): 46~49.
- [25] 赵冬艳, 王金水. 粮食与饲料工业, 2003(8): 39~41.
- [26] 孔祥珍. 食品工业科技, 2004(8): 70~72
- [27] Furlanetto RW. *J Amer Oil Chem Soc*, 1973(95): 6786~6789.
- [28] 赵冬艳. 粮食与饲料工业, 2005(11): 23~25.
- [29] 李丹. 食品与发酵工业, 1999, 25: 58~62
- [30] Kato A, Tanaka A, Matsudomi N J. *Agri Food Chem*, 1987, 35(2): 224~227.
- [31] Damodaran S, Paraf A. New York, INC Press Marcel Dekker, 1997: 681.
- [32] Kumazawa Y, Ohtsuka T, Seguro K, et al. *Studies in Surface Sci & Catalysis*, 2001, 132 *Proc Int Conf on Colloid & Surface Sci*, 2000: 989~994
- [33] Ohtsuka T, Umezawa Y, Nho N, et al. *J Food Sci*, 2001(66): 25~29
- [34] Lané C, Denery-Papini S, Popineau Y, et al. *Cereal Chem*, 2000, 77(1): 32~38.
- [35] Thompson R D, Bartels D, Harberd N P. *Nucleic Acid Res*, 1985(13): 6833~46
- [36] Pitts E G, Rafalski J A, Hedgcoth C. *Nucleic Acids Res*, 1988(16): 11376
- [37] Sander R P, Anne van de P, Gemt W. et al. *Enzyme & Microbial Technol*, 2002(30): 266~272
- [38] Michon T, Wang W C, Ferrasson E, Gueguen J. *Biotechnol and Bioeng*, 1999, 63(4): 449~458.
- [39] Kuan I, Johnson K A, Tien M J *Bio Chem*, 1993(268): 20064~20070.
- [40] Bert L, Kristof B, Jan A D. *J Cereal Sci*, 2006(44): 49~53
- [41] Verbruggen I M, Veraverbeke W S, Delcour J A. *J Cereal Sci*, 2003(37): 223~229
- [42] 赵冬艳. 食品科学, 2003, 24(5): 25~28.
- [43] 王若兰. 食品科学, 2002, 23(11): 93~98
- [44] Bert L, Kristof B, Wim S V, et al. *J Cereal Sci*, 2005(42): 327~333
- [45] Sanchez A C, Popineau Y, Mangavel C, et al. *J Agric Food Chem*, 1998(46): 4539
- [46] Matveev Yu I, Grinberg V Ya, Tolstoguzov V B. *Food Hydrocolloids*, 2000, 14(5): 425~437.
- [47] Herald T J, Gnanasambandam R, McGuire B H, et al. *J Food Sci*, 1995, 60(5): 1147~1150.
- [48] Pouplin M, Redl A, Gontard N. *J Agri & Food Chem*, 1999, 47(2): 538~543.
- [49] 彭海萍, 王 兰. 粮食与饲料工业, 2002, 11: 39~41
- [50] 彭海萍, 王 兰. 食品工业科技, 2003, 24(1): 64~66.
- [51] Okbarieta I, Cho SW, Gallsted M. et al. *Biomacromolecules*, 2006, 7(5): 1657~64
- [52] Okbarieta I, Gallstedt M, Ispizua I, et al. *J Agri Food Chem*, 2006, 54(4): 1283~8
- [53] Ullsten N H, Gällstedt M, Johansson E, et al. *Biomacromolecules*, 2006(7): 771~776.
- [54] Sroka Z, Cisowski W. *Food Chem Toxicol*, 2003(41): 753~758.
- [55] Cheng Z, Ren F, Li Y. *Med Chem*, 2002(10): 4067~4073.
- [56] Brabias B, Swiatek L. *Pharm & Pharmacol Ogical Letters*, 1998(8): 81~83.
- [57] 陈新健. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2000, 26(6): 471~473.
- [58] Paz H M, Guillard V, Reynes M. *J Membrane Sci*, 2005(256): 108~115.
- [59] Pallos F M, Robertson G H, Pavlath A E. *J Agri Food Chem*, 2006, 54(2): 349~352.
- [60] Ye P, Reitz L, Horan C. *J Polym Environment*, 2006, 14(1): 1~7.
- [61] Guilbert S, Redl A, Morel M H. *PCT Int Appl*, 2002: 29.
- [62] Wang C, Carriere C J, Willett J L. *Biomaterials Proc Res Nat Ctr for Agri Utilization Res*, US Dept Agri. Annual Technical Conf - Soc Plastics Eng, 2001, 59th(2): 2318~2322.
- [63] Pommet M, Redl A, Morel M H, et al. *Polymer*, 2003(44): 115~122.
- [64] Sung W L, In Kwon Jung, Kwang H L, Byung S Jn. *Eur Polym J*, 1999(35): 1875~1881.
- [65] Noznick P P, Tatter C W. Beatrice Foods Co, USP 3351531, 1967—11—07, 1967: 3
- [66] Aranyi C, Gutfreud K, Hawrylewicz E J. USP 3607370, 1971—09—21.
- [67] Tsuda A, Hanno K, Katayama S. JPP 01279999, 1989—11—10.
- [68] Connick Jr W J, Boyette C D, Connick Jr. USP 5074902, 1991—12—24, 1991.
- [69] Bassi S, Cain M D, Hill A M, Maningat C C. USP 754469, 2001—01—03, 2002.

Development in the Modification of Gluten and its Application

YIN Qin-wei, FU Shi-yu, ZHAN Huai-yu

(State Key Laboratory of Pulp and Paper Engineering , South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract:For the last twenty years, research interested into the use of natural biopolymers, which was a way of preventing environment pollution, putting into effect of green chemistry and development of human being in perfect harmony. Gluten was a byproduct of cereal industry which was abundant, biodegradable and reproducible biopolymer. Because of its viscoelasticity, extensibility, film-forming and thermosetting, people paid more attention to gluten, which could be used as raw materials for polymer products in technical applications as well as food additives. The present paper reviewed the composition of wheat gluten, the principles and methods for chemical modification, physical changing and enzyme reaction of wheat gluten. Besides, the application and prospect of gluten was also described.

Key words: Renewable resources; Gluten; Modification; Application