

猪血中血红蛋白多肽的研究进展

郑 炯 汪学荣

(西南大学食品科学学院 重庆 400716)

摘 要:猪血是生猪屠宰加工过程中的主要副产物之一,我国拥有丰富的猪血资源,但由于种种条件的限制,我国猪血利用很少,造成宝贵资源的浪费。猪血中含有丰富的蛋白质,其中血红蛋白为主要部分。因此,对血红蛋白及其水解产物多肽的研究受到了国内外众多学者的关注。本文综述了猪血中血红蛋白的分子结构和功能特性,血红蛋白多肽的制备方法、生理活性及其开发利用研究状况,并对应用前景进行了展望。

关键词:猪血;血红蛋白;多肽

Abstract: Porcine blood is one of primary byproduct in the process of butchering live pig. There are abundant porcine blood resources in our country, but they are utilized rarely and wasted due to being restricted by various conditions. There is plenty of protein in porcine blood and its primary proportion is the hemoglobin. Therefore, the research on hemoglobin and its hydrolysate have been paid more attention at home and abroad. The molecular structure and functional properties of hemoglobin, preparation methods, biologic activity and utilization of hemoglobin polypeptides were reviewed in this article, and its applicative prospects have also been discussed.

Keywords: Porcine Blood; Hemoglobin; Polypeptides

目前,我国年出栏生猪约5亿头,是世界上猪出栏数最多的国家,由屠宰生猪而产生的副产物猪血大约有150万吨,资源相当的丰富^[1]。猪血的营养价值很高,素有“液态肉”之称。猪血中含有

大量的蛋白质和丰富的氨基酸,包括人体所必需的8种氨基酸在内的18种氨基酸,特别是赖氨酸、亮氨酸含量丰富。此外,还含有适量矿物质、维生素、激素、酶和其它一些生物活性物质。据测定,每100g猪血中含有蛋白质19g、脂肪0.4g、碳水化合物0.6g、矿物质0.5g^[2]。

目前,在欧美、日本等发达国家,猪血的利用率已达50%以上,他们主要是开发肽类试剂、肽类药物以及功能食品和食品添加剂。而我国猪血的利用率不超过10%,并且利用猪血资源开发的产品还比较单调,除了小部分被加工成血粉或发酵血粉作为饲料添加剂,以及用于生化制药生产血红素、超氧化物歧化酶、蛋白胨外,相当大的一部分都作为废弃物排出,既浪费了宝贵的蛋白质资源,又严重污染了周围的环境^[3]。因此,对猪血中的血红蛋白(Hb)开发利用研究,受到了国内外众多学者的关注。

1 血红蛋白的分子结构和功能特性

1.1 血红蛋白的分子结构

猪血细胞中以红细胞为主,红细胞的蛋白质含量达38%,占全血蛋白总量的75%以上。研究表明,红细胞经溶血后可得血红蛋白^[4],血红蛋白是一种结合蛋白质,其蛋白质部分称为珠蛋白,属组蛋白类,其辅基是血红素,含有二价铁,其局部结构如图1所示。血红蛋白分子具有四级结构,由四个亚基组成,每个亚基是具有三级结构的多肽链,并含有一个血红素。在四个亚基中,两个称 α -链,其氨基酸组成和排列顺序是彼此相同的,每个链有141个氨基酸。另两个亚基也彼此相同,称 β -链,由146个氨基酸组成。 α -链分子量为15126, β -链分子量为15866,两条 α -链和两条 β -链再加

四个血红素, 则得血红蛋白的分子量为 64450^[5]。

血红素是由 4 个吡咯分子生成 1 个卟啉环, 再与 1 个铁原子结合组成。卟啉环的四个氮原子位于同一平面上, 其中两个氮原子与铁原子以共价键结合, 另外两个氮原子则以配位键结合。血红素上的铁原子以配位键与珠蛋白分子上的组氨酸残基中咪唑环上的氮原子相结合, 以复合蛋白质的形式存在于机体之中。铁原子的配位数是 6, 因此还有一个配位键能连接其它原子^[6]。

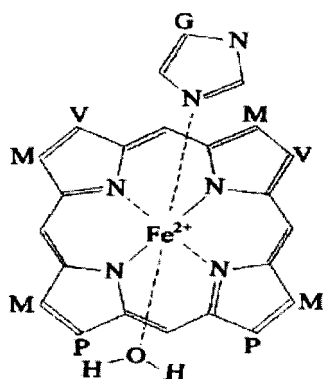


图 1 血红蛋白(Hb)的局部结构图

1.2 血红蛋白的功能特性

血红蛋白是溶解性极好的一种蛋白质, 具有强乳化能力, 并能形成稳定的泡沫。研究表明, 当血红蛋白的浓度低于 0.3g/100ml 时, 只有较低的乳化能力 (约 43%), 当球蛋白浓度从 0.3g/100ml 上升到 0.48g/100ml 时, 乳化能力急剧上升, 此后又持续稳定在 82% 左右。在起泡稳定性方面, 血红蛋白在 1.8g/100ml 的浓度时, 具有最强的起泡能力, 起泡体积达 183ml, 而鸡蛋清的最大起泡能力仅为 118ml^[7]。目前, 血红蛋白的乳化性和起泡性在食品加工中应用广泛, 特别是在肉制品生产中添加血红蛋白后, 产品的保水性、切片性、弹性、粒度、产品率等均有大幅度提高。

2 血红蛋白多肽制备方法的研究

血红蛋白经水解后, 降解成不同链长的小分子肽类化合物, 这些小分子再经过分离纯化即得到血红蛋白多肽。

2.1 水解方法的选择^[8]

2.1.1 化学法水解

化学水解有酸水解和碱水解两种。化学水解方法简单, 价格便宜, 水解效率高, 但存在着诸多

缺陷: (1) 卫生安全问题, 许多化学试剂不可能在食品生产上大量应用; (2) 营养成分的损失, 降低了蛋白质的生物化学价值; (3) 水解程度不易控制, 不能按规定的水解度进行水解, 反应条件剧烈, 副反应较多; (4) 化学水解的产品具有焦糊味道, 将严重影响产品的风味。因此, 对于血红蛋白多肽的生产, 一般很少应用化学水解法。

2.1.2 酶法水解

相对而言, 酶法水解的反应条件温和, 副反应少, 不破坏氨基酸。酶法水解要求实验设备简单, 操作安全, 无溶剂污染, 投资少; 同时, 酶水解的水解程度可以控制, 特别是利用不同酶的特异性, 得到不同水解物和各种多肽产品。用于水解蛋白质的酶按来源分主要有三种类型: (1) 动物来源的蛋白酶, 如胃蛋白酶、胰蛋白酶等; (2) 植物性蛋白酶, 如木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶等; (3) 微生物蛋白酶, 如来源于枯草杆菌、枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、黑曲霉、毛霉、青霉产生的酶。动植物蛋白酶虽有一定优势, 但来源少, 价格昂贵, 一般仅限于实验室研究工作, 不适于工业化生产。随着生物技术的进步, 微生物产酶技术日趋成熟, 加之微生物蛋白酶价格便宜, 来源广泛, 是一种比较理想的酶来源。

Man-Jin In 等^[9]人依次用外肽酶 Flavourzyme 和内肽酶 Esperase 水解猪血红蛋白, 得到富含亚铁血红素的低分子量的小肽, 再用截流分子量 12-14 Kda 的膜时, 血红素和肽的比率达到 25.4% 之多。杨炜等^[10]用高温蛋白酶 WF146 制备猪血水解蛋白, 蛋白质得率在 10% 以上。张华山^[11]分别用 AS1.398 中性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶对猪血蛋白进行水解, 结果表明 AS1.398 中性蛋白酶对猪血蛋白的水解能力最强。于美娟等^[12]比较了单一酶和复合酶水解鲜猪血的酶解效果, 并确定了最适水解工艺条件, 结果表明, 复合法酶解鲜猪血水解效果最好。

2.2 血红蛋白多肽的分离纯化

血红蛋白水解成多肽后, 还需要进一步的分离纯化。目前, 多肽分离纯化方法有盐析法、超滤法、层析法和电泳法等^[13]。而在实际应用中, 常常采用上述几种方法的组合对特定多肽类物质进行分离纯化。李艳伟等^[14]利用 Sephadex G-25 凝胶层析、阳离子交换层析、超滤除盐及高压液相色谱等

方法分离纯化猪血胰蛋白酶水解液,得到的目标产物是一种在高压液相色谱水平上的纯品,分子量大约为3000的小肽。方俊等^[15]选用优良菌株A32发酵新鲜猪血制得猪血多肽,再将发酵液用0.05 μm的陶瓷膜微滤和Mr1000超滤膜超滤、喷雾干燥分离获得血红蛋白多肽,并测得多肽的相对分子质量分布为Mr850-5000。

3 血红蛋白多肽的生理活性研究

由蛋白质酶解获得的活性肽,是功能性食品研究最活跃的领域之一。研究发现,食物蛋白质的酶解物的一些小分子肽不仅能提供人体生长发育所需的营养物质,同时具有防病、治病、调节人体生理机能的功效,因而人们有可能从食品蛋白质中生产满足人们特定需求的活性肽。国内外的研究者从食品蛋白质的酶解物中发现了一些小分子肽,包括抗高血压肽、免疫调节肽、抗血栓肽、抗菌肽、抗癌肽等。

以血红蛋白为蛋白源的生物活性肽的研究在日本起步比较早。1991年,Lantz^[16]曾报道过在血红蛋白的β链中含有抑制ACE活性的氨基酸系列(34~39氨基酸残基)。1996年,Kazue等^[17]酶解以猪血为原料制备的血红蛋白得到了4种具有抑制ACE活性,降血压的活性肽,他们分别Phe-Gln-Lys-Val-Val-Ala, Phe-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly, Phe-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Lys和Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Gln。这4种肽对ACE活性的抑制率(IC₅₀)分别为:5.8、7.4、2.1、1.9 μmol,自发性高血压小鼠在口服其中两种多肽半小时后,血压从172 ± 5mmHg降至150 ± 6mmHg。Kyoichi等^[18]从血红蛋白酶解物中得到抑制血清中甘油三酯水平提高的四肽:Val-Val-Tyr-Pro,可以有效缓解心血管疾病以及肥胖症。1997年,Zhao等^[19]从血红蛋白中得到了具有的降血脂作用的鸦片状活性多肽VV-hemorphin-7和LVV-hemorphin-7。

4 血红蛋白多肽的开发利用研究

近年来,许多发达国家已开发出多种用于病人和特殊生理需要人群的活性肽类保健与功能食品,而我国对活性肽类和蛋白水解物的研究相对滞后,有关方面的研究才刚刚起步。目前,日本、欧美等国家已经利用血红蛋白生产出了不同类型的多肽类食品,如酸性多肽饮料、多肽强化奶粉等^[20]。该多

肽类食品具有易消化吸收的特点,尤其可以作为下列几种人群的蛋白营养源:(1)患消化道疾病的人。膳食中的蛋白质,其消化吸收要经过一个复杂的过程,所以对一些患有特殊消化器官疾病的人,最好能食用直接吸收的肽类食品;(2)食物过敏性患者。食物过敏患者轻则引起皮肤疹,重则会危及生命,研究表明,多肽在预防和治疗某些食物过敏性方面的作用有较好的效果;(3)老年人。由于老年人发病率较高,要保持组织器官中氨基酸的平衡,必须要摄入更多的蛋白质。但是,老年人的消化吸收系统的功能又在减弱,所以不能靠摄入过多的食品来增加蛋白质的摄入量,而是应该食用富含蛋白的专门化老年食品,这种食品以液体较好,并且氮源以易消化吸收的多肽为适宜;(4)运动员。由于肽的吸收特点,它是运动营养中的很好氮源。在膳食或饮料中强化碳水化合物和蛋白质,比只强化碳水化合物对于增加肌肉中的糖原贮存更有效。在美国,含蛋白质水解物的产品已应用于运动员的膳食,并取得良好的效果;(5)控制体重者。食用低能且含有足量的蛋白质的食品,如用具有高生物价的多肽来配制低能饮料,这样就可可在保持身体氮平衡的前提下,主要通过脂肪损失来减少体重。此外,蛋白水解物强化膳食还有助于减少食欲。

5 结束语

猪血中的血红蛋白多肽不仅具有良好的功能特性,而且具有重要的生理活性,是一种非常有前途的功能性食品原料。所以,利用现代高新技术对猪血中的血红蛋白多肽进行制备、分离、纯化,并对其功能和生理活性进行系统化的研究,使血红蛋白多肽成为新一代的蛋白营养素和多功能的生理活性物质。并以此为突破口,加强对猪血深加工中的研究,开发新产品,提高猪血的附加值,对猪血的利用走上工业化开发道路和保护生态环境有着重要的意义。

参考文献

- [1] 钟耀广,南庆贤.国内外畜血研究动态[J].中国农业科技导报,2003,5(3):26~29.
- [2] 李雨露,吕长鑫.猪血的功能特性及开发利用[J].肉品卫生,2001,(12):26~27.