

酶解胶原蛋白研究进展

菅景颖 张志胜*

(河北农业大学动物科技学院 保定 071001)

摘要: 阐述了近年来国内外关于酶法水解胶原蛋白所做的研究工作, 并对胶原多肽的应用前景进行了分析。

关键字: 酶解; 胶原蛋白; 胶原多肽

前言

胶原蛋白是动物结缔组织(骨、软骨、皮肤、腱、韧带等)的主要成分, 对机体和脏器起着支持、保护、结合以及形成界隔等作用。其中结缔组织随着年龄的增长, 会逐渐失去弹力和柔韧性, 从而相继导致引起一些与老化相关的疾病, 如动脉硬化、关节炎、骨质疏松等。有较多研究表明, 摄取一定量的胶原物质可起到改善此类疾病的效果^[1]。但是由于胶原蛋白具有独特的三股超螺旋结构, 性质十分稳定, 一般的加工温度及短时间加热都不能使其分解, 从而造成其消化吸收困难, 不易被人体充分利用。而将胶原蛋白水解为胶原多肽则其在消化吸收、营养、功能特性等方面都会得到显著的提高。因此, 人们对胶原蛋白的水解及其产物胶原多肽的研究兴趣越来越浓。

1 酶解的研究

1.1 酶解的优点

蛋白质水解物的生产方式分为化学降解法和酶降解法。化学法是用酸、碱等化学试剂在一定温度下促使蛋白质分子的肽链断裂形成小分子物质。酸法多采用盐酸、硫酸等强酸在高温下反应, 反应强烈, 设备腐蚀严重, 水解彻底, 多生成氨基酸混合物, 同时高温下色氨酸完全被破坏, 目前已渐被淘汰; 碱法水解使氨基酸大多消旋, 如使 L-氨基酸形成 D-氨基酸, 还能形成有毒物质^[2], 无生物利用价值, 因此不宜采用。到了 80 年代, 随着酶制剂工业和食品工业的迅猛发展, 人们发现酶法水解反应温度低, 反应时间短, 无环境污染。产

品营养价值高, 以多肽和 L 型游离氨基酸为主, 速溶性好, 易于人体消化吸收, 因而人们的注意力集中在利用酶水解产物蛋白上。

1.2 酶的选择

对胶原有作用的蛋白酶较多, 但为了获得较高的经济价值, 在选取酶的时候一般要考虑酶对胶原作用的强弱及酶的价格。如果酶对胶原的作用太弱, 则无法得到高的胶原溶解率, 而酶的纯度直接影响酶的价格, 纯度较高的酶与工业用酶的价格往往相差上千倍, 甚至更大。因此开发的产品如非有特殊要求, 一般可以考虑选择用已完全工业化的酶, 而在实际使用过程中对选用的酶初步纯化, 除去其中的物理杂质, 同时这也可以改善酶及水解产品的色泽。除此以外, 还必须考虑酶对胶原的作用位点, 因为这直接影响最后水解产物分子量的分布, 对水解产物是否适合开发所需的产品起着至关重要的作用。

蛋白水解酶按作用位点可分为内切酶和外切酶, 从来源上可分为植物蛋白酶(如菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶等)、动物蛋白酶(如胰蛋白酶、胃蛋白酶等)、微生物蛋白酶(如枯草杆菌 1.398、放线菌 166、栖土曲霉 3.942 等)。此外较常用于水解的蛋白酶还有风味复合酶 Flavourzyme、Alcalase 等。目前应用于实际生产中的酶主要有碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胰蛋白酶等。

2 酶解胶原蛋白国内外研究动态

二十世纪七十年代标志着食用蛋白质的酶解研究作为一门相对独立的研究领域的建立, 酶法水解胶原蛋白已成为其中研究的一个分支。国内外越来越多的研究者对此方面进行了逐步深入的研究和探索。

2.1 酶解工艺的研究

目前酶解胶原蛋白的工艺主要分为单酶水解

法和多酶水解法,多酶水解法又分为混合酶水解法和分步酶水解法,酶法提取皮胶原具体实验工艺及条件的选取通常应考虑要开发的产品对分子量的要求,要得到分子量较小的胶原多肽一般采用多酶水解法。

影响酶解效果的因素主要有:酶的种类、加酶量、酶解温度、酶解时间、pH 值及料水比。研究者大多都从这几个方面来研究胶原的酶解工艺。

国外酶解蛋白的报道很多,例如,Adler-Nissen(1982,1986)^[3,4]对蛋白质酶解工艺和水解物的应用进行了研究。还有人做了酶解鱼蛋白等方面的研究,它们都可以为酶解胶原蛋白提供方法和参考。具体到酶解胶原蛋白方面的研究也有很多:如Chambers和Rasmussen(1988)^[5]对骨骼中提取的胶原蛋白进行了酶解研究;Surowka和Fic(1992)^[6]采用中性蛋白酶进行了酶解鸡头骨胶原蛋白的研究,确定了最佳酶解条件,并测定了酶解物氨基酸成分含量;Benjakul(1997)^[7]研究了牙鳕皮胶原的酶解利用,分别用中性和碱性蛋白酶水解,选择了最优酶和最佳水解条件;日本协和发酵公司利用含有菠萝蛋白酶的菠萝汁经过发酵得到的胶原多肽不仅风味得到提高,而且其生理功能也增强了,得到的多肽分子量主要集中于4000~5000左右;M.M.Taylor^[8](2005)等对制革过程中产生的含铬的胶原蛋白废弃物经过除铬后用多种酶处理水解得到胶原多肽,大大提高了制革厂的利润。

近几年国内也开始了关于酶解胶原工艺的研究。例如,赵胜年^[9](1998)研究了以新鲜猪皮为原料,用国产胰酶进行酶水解反应,提取水解胶原蛋白的工艺。李岩等^[10](2003)研究了在没有外加碱的pH渐变条件下,用枯草杆菌碱性蛋白酶和黑曲霉酸性蛋白酶双酶协同水解从猪皮胶原蛋白制备寡肽水解物的可行性。考察了单酶单因素水解条件、双酶加入方式对猪皮降解率和蛋白质水解度的影响,并在此基础上通过正交试验进一步优化出双酶一次性投料方案下水解猪皮的最佳条件。胡胜等^[11](2003)以工业化的蛋白酶为原料,采用一步酶解法、不抑活两步法酶解、抑活两步法酶解3种不同的工艺,对生物酶提取猪皮胶原进行了研究。班玉凤等^[12](2004)研究了Alcalase酶水解猪皮制备胶原蛋白寡肽时影响水解效果的各种因素。确定了Alcalase水解猪皮的最佳水解条件,并在最

佳水解条件下,猪皮的降解率可达到97.3%,水解度可达到13.1%。张根生等^[13](2005)以提取的火鸡骨胶原蛋白液为原料,探讨了影响火鸡骨胶原蛋白水解度的主要影响因素,优化了酶解工艺条件。曾名勇等(2005)^[14]研究单酶和复合酶水解红非鲫鱼皮胶原蛋白制备具有抑制血管紧张素转换酶(ACE)生物活性的寡聚肽的工艺条件。

2.2 对酶解胶原产物的研究

人们在对胶原的酶解工艺进行大量的研究的同时对胶原酶解产物胶原多肽的分子量分布、功能特性以及生理功能也进行了大量的研究,以期胶原蛋白多肽的实际应用以及深度开发利用提供理论依据。

戴红等^[15](2002)对胶原蛋白水解产物的分离进行了系统地阐述。王碧等^[16](2003)用凝胶过滤色谱法测定了从皮边角余料提取的水解胶原蛋白及多肽的分子量分布。李国英等^[17](2005)采用SDS-PAGE法确定来源于牛皮的胶原的相对分子质量大约为30万,分布很窄;明胶的相对分子质量从几千到10万,分布很宽;水解胶原蛋白相对分子质量从几千到3万,分布也很宽。Hee-Cuk.Byun^[18](2001)报道某些动物胶原用酶催化水解后可产生具有降血压作用的活性寡肽(≤ 10 个氨基酸)。酶解产物的水解度与其ACE抑制率之间存在一定的相关性,水解度较高的水解产物,其ACE抑制活性也较高,并且相对分子质量较低的寡聚肽具有更高的ACE抑制活性。张义军等^[19](2001)研究了胶原蛋白酶解物(CEH)对大鼠血压、豚鼠肠平滑肌及猪肺ACE的作用的降压效应,得出CEH的降压作用和兴奋豚鼠平滑肌的作用可能与抑制ACE有关。贾东英等^[20](2001)对胶原蛋白多肽的功能特性进行了测定,结果表明胶原蛋白多肽具有良好溶解性、吸水性、保水性、湿润性、吸油性和起泡性,一定的乳化性和较弱的凝胶性和泡沫稳定性。穆畅道等^[21](2003)对利用皮边角料提取的食品级胶原多肽的物理性质和微生物指标进行了分析。王碧等^[16, 22, 23](2003)对胶原多肽溶液的黏度变化进行了系统的考察,探讨不同条件下溶解性和乳化性变化规律,此外对水解胶原蛋白溶液的防腐体系进行筛选,确定了水解胶原蛋白溶液较理想的防腐剂,为胶原蛋白在食品、化妆品等领域的精细利用提供理论依据。

3 应用前景

由于胶原多肽具有良好的营养功能、理化性

能以及生理功能,所以它的应用范围非常广泛。随着年龄的增长,人体对能量的需求量呈下降趋势,但单位体重氮的需求量并不下降,老年人可通过摄入胶原多肽来克服这一矛盾。由于胶原多肽具有保护胃粘膜抗溃疡、抑制血压上升、提高骨骼强度、促进皮肤胶原代谢等功能,同时酶解胶原蛋白制备的胶原多肽具有更小的相对分子质量,并且更易降解,所以在营养保健品和日用化学品开发方面拥有一定的市场,可将其开发成各种美容护肤品、美容饮料或降血压、预防骨质疏松等的功能保健品。除此之外胶原多肽还可应用于运动保健食品中,实验证明:由于肽在胃中排空及小肠吸收快,负氮平衡及由此产生的肌肉分解代谢阶段将进一步缩短或消失,胶原水解物可作为在运动或运动结束时的恢复性饮料。由于蛋白水解物属于高蛋白低热量物质,还可应用于减肥食品。

总之,利用动物副产品以及制革工业中的下脚料来酶解制备胶原多肽这一功能性的多肽产品,使其变废为宝,减少环境污染,必将带来良好的社会效益和经济效益。但是由于酶解选择性较强,水解率偏低等缺点,目前许多研究单位仍在不断地探索各种水解工艺条件,以便更多地获得各种具有优良功能特性的胶原多肽。同时由于胶原多肽也是蛋白质的水解产物,也存在着蛋白水解物普遍存在的苦味,从而限制了其的应用,因此,减弱或消除其苦味的研究就成为人们今后研究的重点。

参考文献

- [1] 唐传核,彭志英.胶原的开发及利用[J].肉类研究,2000(3):41~43
- [2] Michel Linder, P Rozan, et al. Protein recovery from Veal Bones by Enzymatic Hydrolysis[J]. Food Sci, 1995, 60(5): 949~958.
- [3] Adler-Nissen. Limited enzymatic degradation of proteins: a new approach in the industrial application of hydrolases[J]. chem. Tech. Biotechnol, 1982, 32: 138~156.
- [4] Adler-Nissen J. 1986. Enzymatic hydrolysis of Food Proteins. Elsevier Applied Science Publishers, London.
- [5] Chambers, J, Rasmussen. Enzymic treatment of bones[J]. Sci. Food Agric, 42: 87~94
- [6] Krzysztof Surowka, Mirosław Fik. Studies on the Recovery of Proteinaceous Substances from Chicken Heads[J]. Food. Sci. Technol 1992, (27): 9~12.
- [7] Soottawat. Benjakul Protein Hydrolysates from Pacific Whiting Solid Wastes[J]. agric. Food Chem, 1997, (46): 4323~4330.
- [8] M.M. Taylor, L.F. Cabeza, W.N. Marmer, E.M. Brown. Preparation of high molecular weight products by crosslinking protein isolated from the enzymatic processing of chromium containing collagenous waste[J]. Leatherscience and engineering, 2005, 15(2): 3~7.
- [9] 赵胜年. 酶解鲜猪皮提取水解胶原蛋白的研究[J] 食品工业科技, 1998, (5): 16~17.
- [10] 李岩, 班玉凤, 郭洪臣等. PH值渐变条件下双酶协同水解猪皮制备胶原蛋白寡肽的研究[J]. 食品科学, 2003, 24 (7): 74~79.
- [11] 胡胜, 李志强, 陈敏. 猪皮胶原酶法提取[J]. 中国皮革, 2003, 32 (5): 6~8.
- [12] 班玉凤, 朱海峰. Alcalase 水解猪皮胶原蛋白的研究[J]. 现代食品科技, 2004, 21(2): 59~61.
- [13] 张根生, 岳晓霞. 火鸡骨胶原多肽口服液的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 563~565.
- [14] 詹名勇, 李八方, 陈胜军等. 红非鲫(Oreochromis niloticus) 鱼皮胶原蛋白酶解条件的研究[J] 中国海洋药物杂志, 2005, 24(5): 24~29.
- [15] 戴红, 张新申, 李珍义. 胶原水解产物的分离研究[J]. 皮革科学与工程, 2002, 12 (2): 46~50.
- [16] 王碧, 王坤余等. 胶原蛋白及多肽的黏度特性[J]. 中国皮革, 2003, 32 (11): 52~54.
- [17] 李国英, 张忠楷, 雷苏, 石碧. 胶原、明胶和水解胶原蛋白的性能差异[J] 四川大学学报(工程科学版), 2005, 37 (40): 54~58.
- [18] Hee-Cuk. Byun, Se-Kwon Kim. Purification and characterization of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Alaskan pollack (theragra chalcogramma) skin[J]. Process Biochemistry, 2001. (36): 1155~1162.
- [19] 张义军, 康白, 任维栋等. 胶原蛋白酶解物的降压作用及生物学特征[J]. 2001, 23(4): 275~277.
- [20] 贾冬英, 王文贤等. 胶原蛋白多肽功能特性的研究[J]. 食品科学, 2001, 22(6): 21~24.
- [21] 穆畅道, 朱梅湘等. 利用皮边角料提取食品级胶原蛋白/多肽(II)重要物理性质和微生物技术分析[J]. 中国皮革, 2003, 32(15): 21~24.
- [22] 王碧, 王坤余等. 水解胶原蛋白的溶解性和乳化性研究[J]. 皮革化工, 2003, 20(1): 5~8.
- [23] 王碧, 王坤余等. 水解胶原蛋白溶液的防腐研究[J]. 中国皮革, 2003, 32(9): 20~23.