

# 单元四 蛋白质

本章重点：

蛋白质的变性及其对食品品质的影响；蛋白质的功能性质及其在贮藏加工过程中的变化；了解食品加工条件对食品蛋白质的品质和营养的影响；食品中蛋白质及氨基酸的测定。

本章难点：

蛋白质的功能性质。



# 一、名词解释

## (一) 氨基酸和蛋白质

### 1. 氨基酸的概念

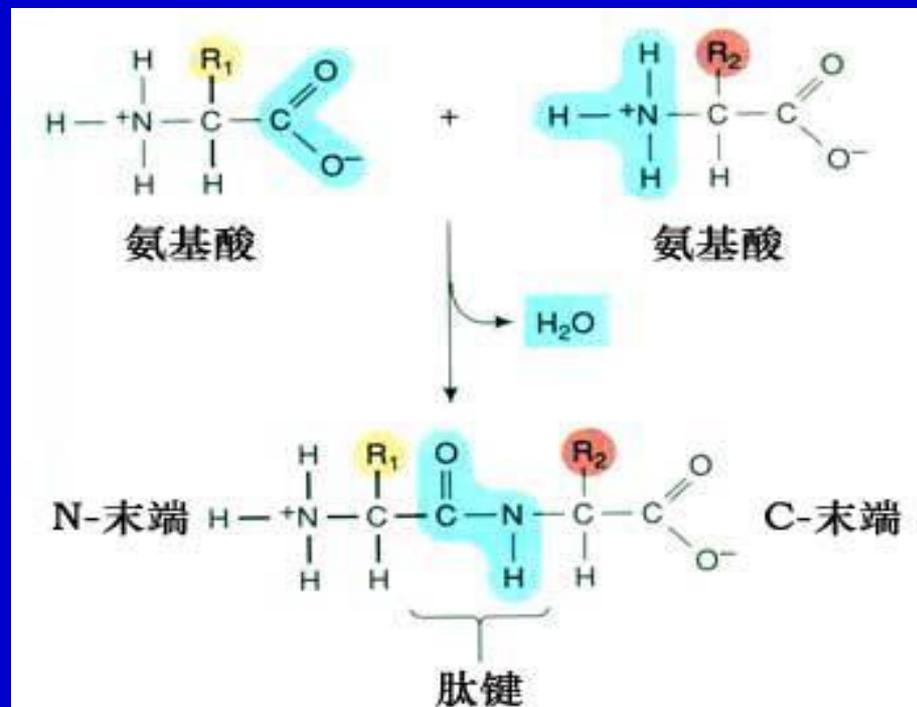
即含有氨基的羧酸。天然蛋白质中一般含有20种氨基酸，另外还有一些其它较少见的氨基酸存在于自然界中并具有特殊的生物功能。构成氨基酸的元素主要有C、H、O、N、S、P以及某些金属元素Zn、Fe等。结构通式如下：



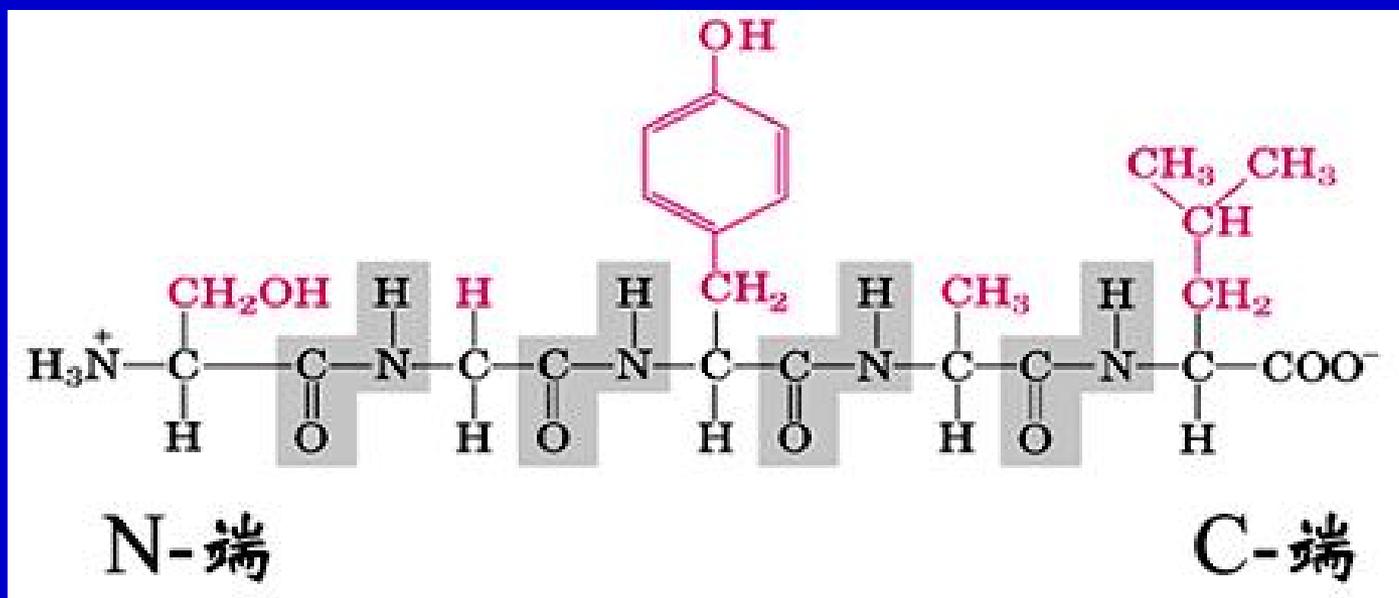
R: 代表不同的侧链

## 2. 蛋白质的概念和组成

蛋白质是指由多种氨基酸通过**肽键**连接而成的，具有特定空间结构和生理功能的复杂的生物大分子。构成蛋白的元素同样是C、H、O、N、S、P以及某些金属元素Zn、Fe等。



蛋白质虽然是复杂大分子，但是它们都由**基本结构单元——氨基酸**组成。不同的氨基酸通过**酰胺键**连接而成的，不同蛋白质分子的最基本区别就在于其**氨基酸组成及排布次序**的不同。



### 3. 蛋白质的生物学功能

(1) 是维持生命活动和生长所必需的物质；

(2) 可作为生物催化剂(酶和激素)控制机体的生长、消化、代谢、分泌及能量转移等化学变化；

(3) 是机体内生物免疫作用所必需的物质，可以形成抗体以防止机体感染；

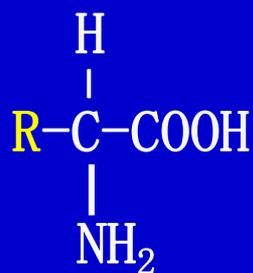
(4) 对食品的质地、色、香、味等方面还起着重要的作用。



## (二) 氨基酸 (Amino acids, AA)

### 1. 结构与分类

结构：除脯氨酸外，所有的氨基酸都是 $\alpha$ -氨基酸，即在 $\alpha$ -碳上有一个氨基，并且多以L-构型存在，某些微生物中有D-型氨基酸。



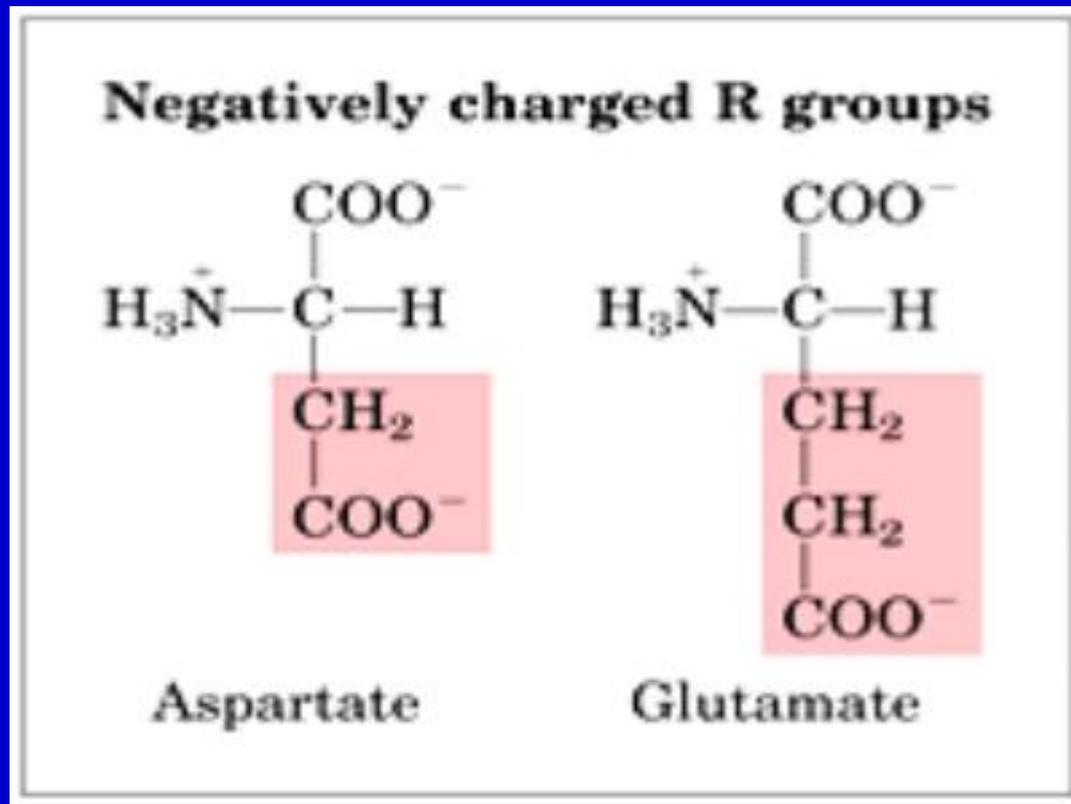
R: 代表不同的侧链

分类：根据氨基酸侧链R的极性不同可将其分为四类。分别是碱性氨基酸、酸性氨基酸、不带电荷的极性氨基酸和非极性氨基酸。



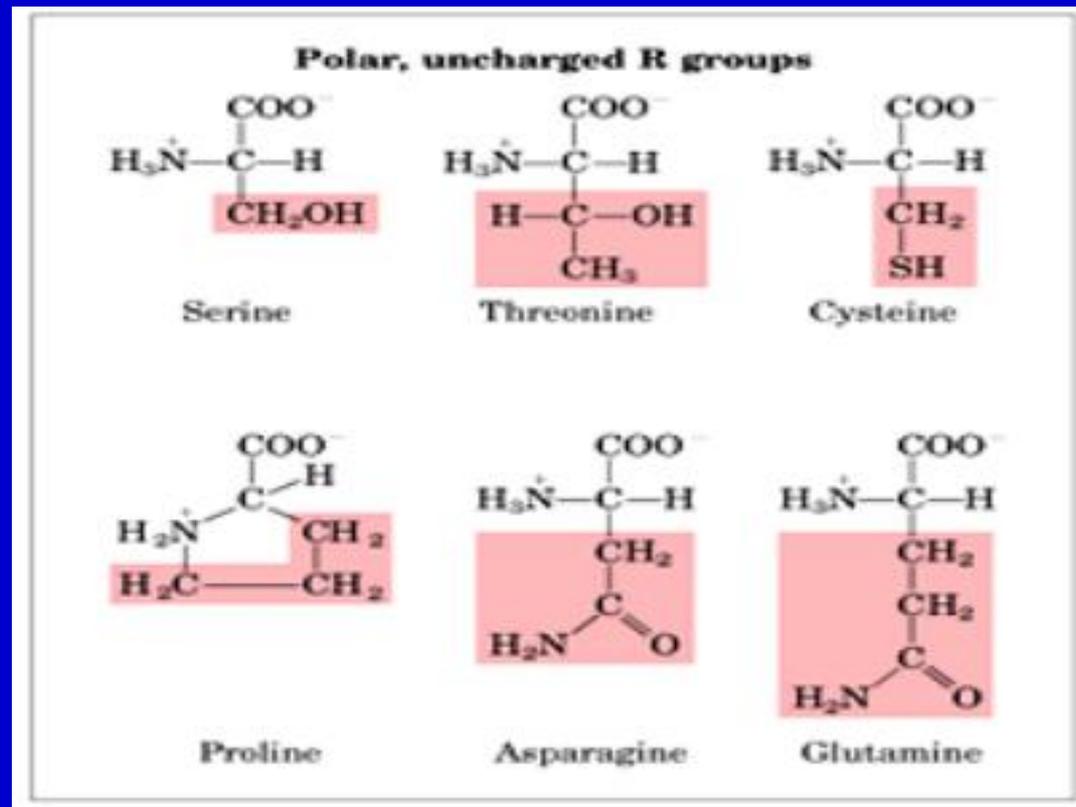
(2) 酸性氨基酸：侧链上带负电荷。

包括天冬氨酸和谷氨酸，侧链上均含一个羧基。



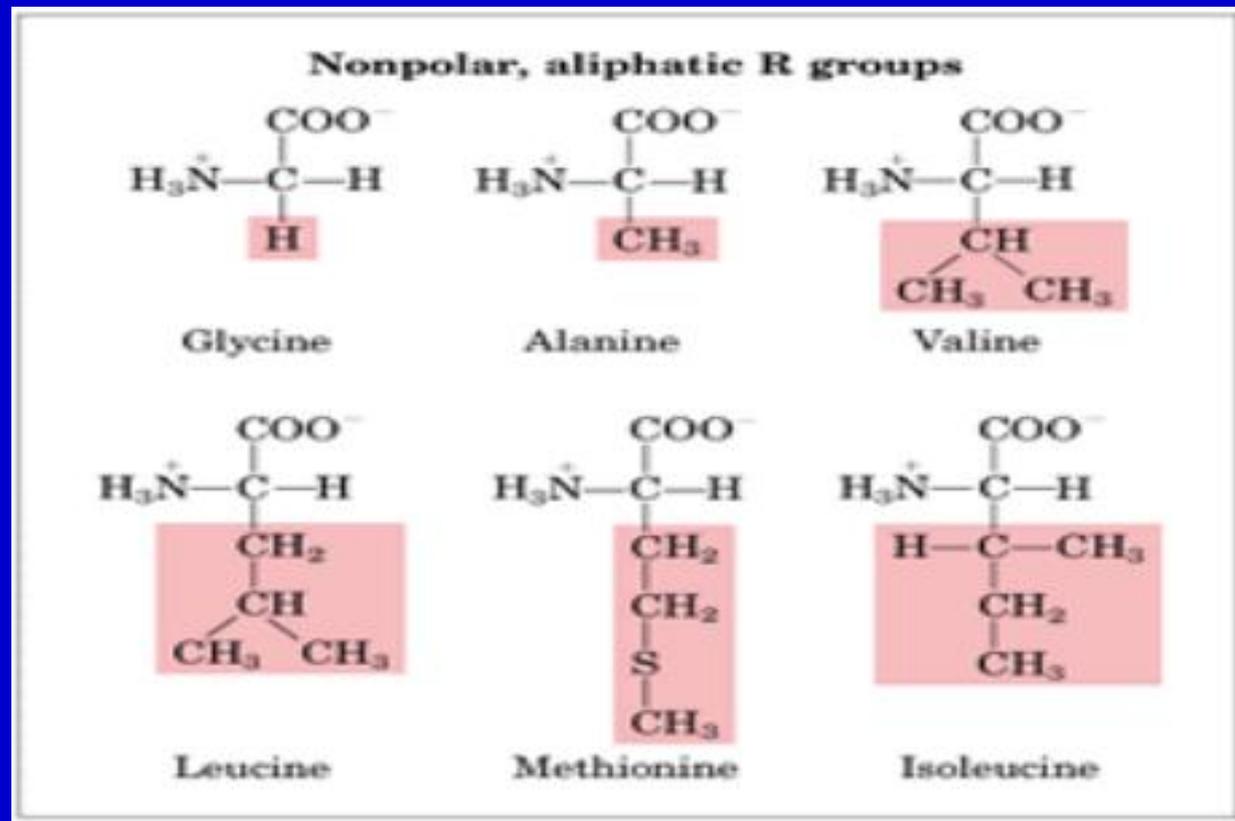
(3) 不带电荷的极性氨基酸：此种AA侧链含有极性基团，可以形成氢键，溶解度比非极性氨基酸增大。

包括丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、脯氨酸、天冬酰胺及谷氨酰胺。



(4) 非极性氨基酸：具有一个疏水性侧链，在水中的溶解度比极性氨基酸低。

有甘氨酸，丙氨酸、缬氨酸，亮氨酸、甲硫氨酸(蛋氨酸)和异亮氨酸。

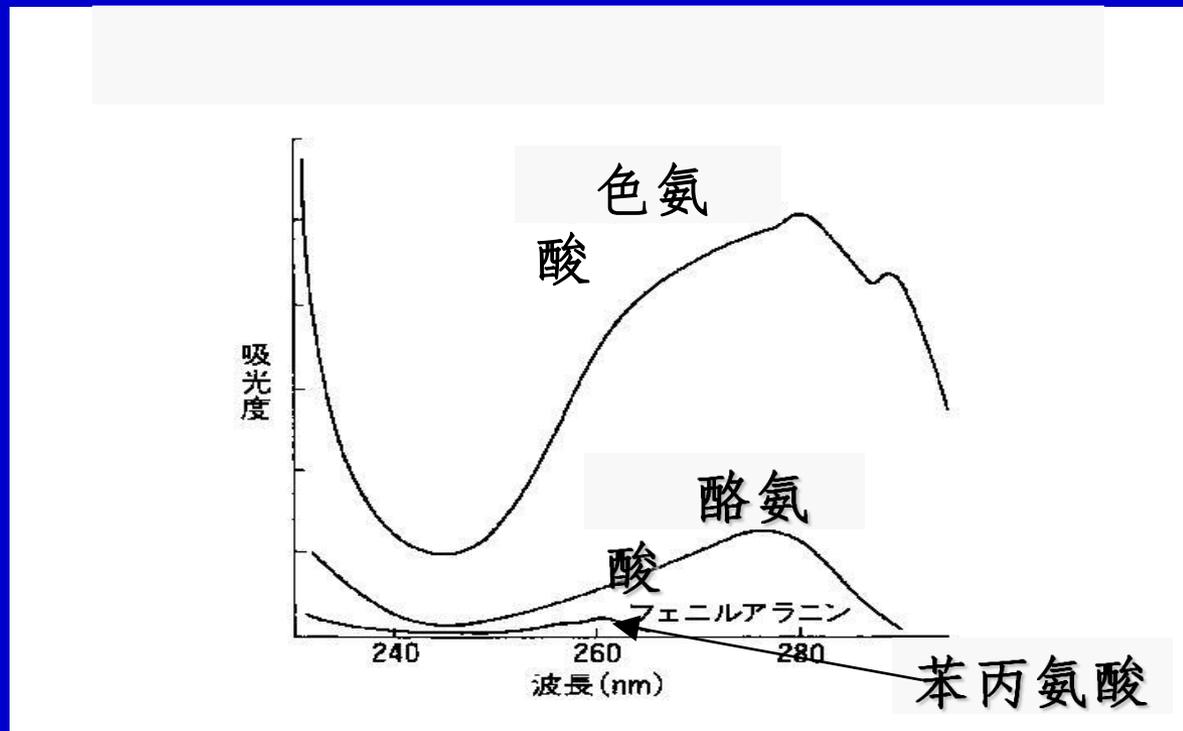


## 2. AA的物理、化学性质

(1) 旋光性：除甘氨酸外，氨基酸的碳原子均是手性碳原子，所以具有旋光性。旋光方向和大小取决于其侧链R基性质，也与水溶液的pH有关。

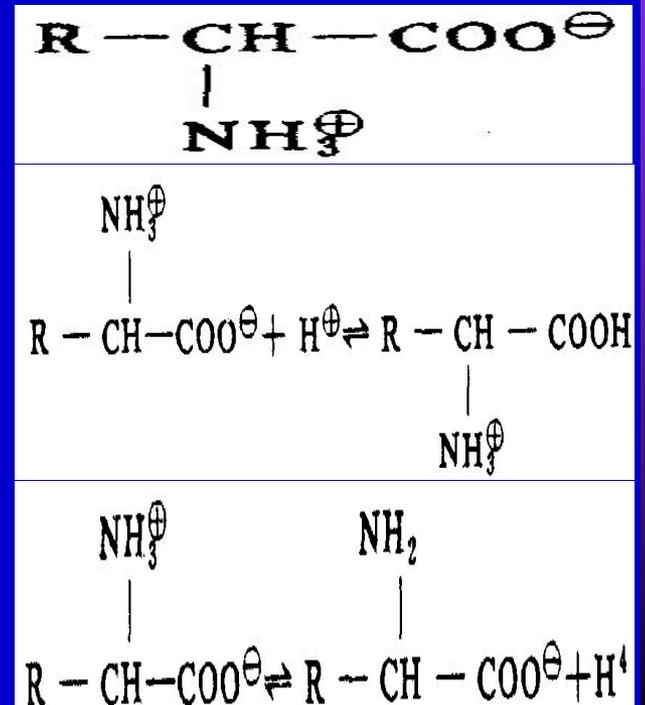
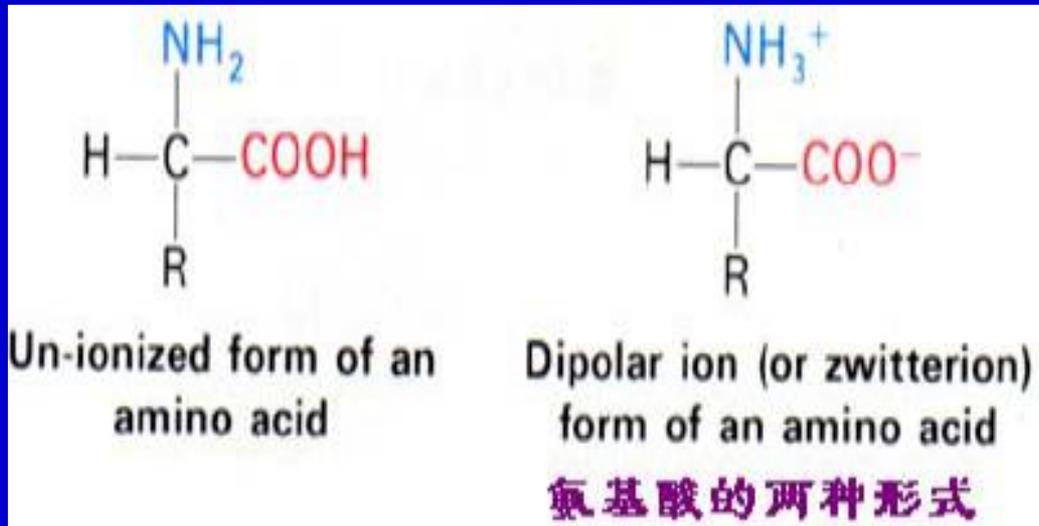


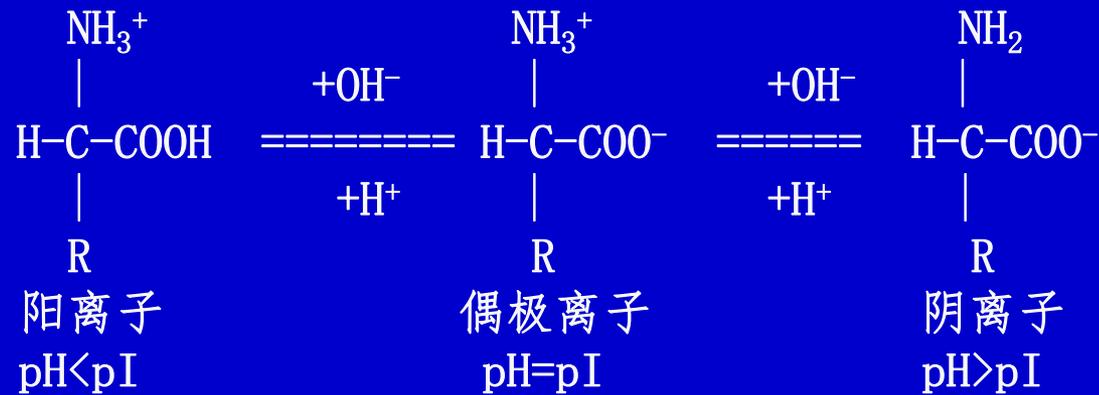
(2) 紫外吸收：20种AA在可见区内无吸收，但在紫外光区酪氨酸、色氨酸和苯丙氨酸有吸收，最大吸收波长分别为278nm、279nm和259nm。酪氨酸、色氨酸残基同样在280nm处有最大吸收，此利用此性质，可用紫外分光光度法定量分析蛋白质。



### (3) 氨基酸的等电点:

由于氨基酸既含有能释放H<sup>+</sup>的基团(如羧基),也含有接受H<sup>+</sup>的基团(如氨基),因此是两性化合物,带电离子也称两性电解质或兼性离子、偶极离子。在中性溶液中,氨基酸水解以后是以偶极离子或阴、阳离子的形式存在:





- a. 在不同的pH条件下既可作为碱接受质子，显正电；
- b. 又可作为酸离解出一质子，显负电。

氨基酸的具体带电状况取决于所处环境的pH值。环境溶液不同，氨基酸的带电性也不尽相同。调节溶液环境pH值，也可以利用上述反应，改变氨基酸的带电性。在某一特定PH下，刚好全部氨基酸的形态都成为偶极离子形态，此时氨基酸所带正负电荷数相等，即净电荷为0，呈电中性，这时，氨基酸所处的环境的PH的大小，就称为氨基酸的等电点，也称PI。

也就是说，等电点指当氨基酸分子呈电中性时，所处环境pH值的大小即为该氨基酸的等电点(pI)。

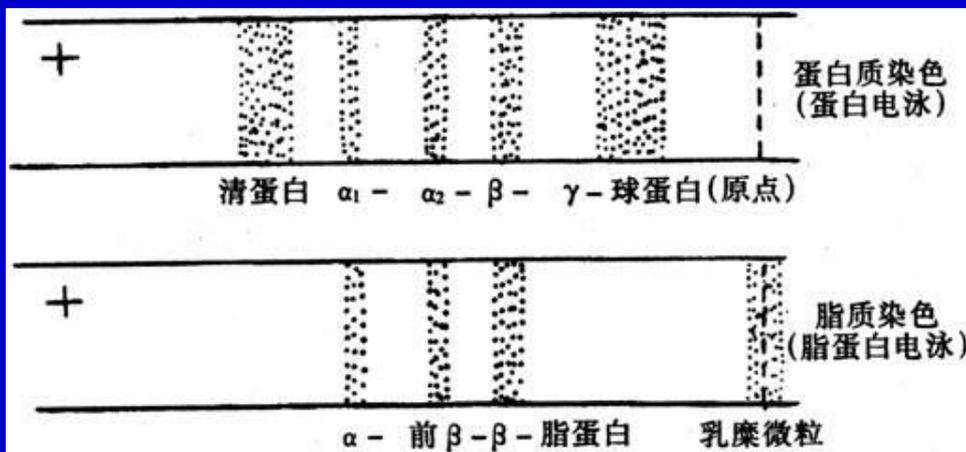
注：等电点不是氨基酸自身的PH，而是氨基酸静电荷为0的时候所处溶液的PH。

## 等电点的应用：氨基酸蛋白质电泳分离和沉淀

处于等电点的氨基酸呈电中性，与水的相互结合作用最小，因此，此时氨基酸的溶解度最小。当蛋白质混合物的 pH 被调到其中一种成分的等电点时，该蛋白质将大部分或全部沉淀下来。那些等电点高于或低于该 pH 的蛋白质仍保留在溶液中，可利用此性质进行蛋白质的分离沉淀。这样沉淀出来的蛋白质保持天然构象，能再溶解于水并具有天然的活性。

**氨基电泳：**带电颗粒在电场中移动的现象称为电泳。不同氨基酸混合液的pI不同，分子量大小不同，在电场中泳动速度不同，因此可以通过电泳将不同氨基酸彼此分开，起到**分离鉴定**的目的。

- 当 $pH=pI$ 时，氨基酸呈兼性离子，在电场中不移动。
- 当 $pH>pI$ 时，氨基酸带负电荷，在电场中向正极移动。
- 当 $pH<pI$ 时，氨基酸带正电荷，在电场中向负极移。



血浆蛋白和脂蛋白电泳对比图

### 3. 氨基酸的制备方法

#### (1) 蛋白质水解法：

天然蛋白质用酸、碱或酶催化水解，得到游离氨基酸溶液，然后通过等电析出使之结晶，再经精制而得到各种氨基酸。其中以酶法水解较为理想。

#### (2) 人工合成法：

一般只用于制备少数难以用其它方法制备的氨基酸，如色氨酸、甲硫氨酸。

#### (3) 生物发酵法：

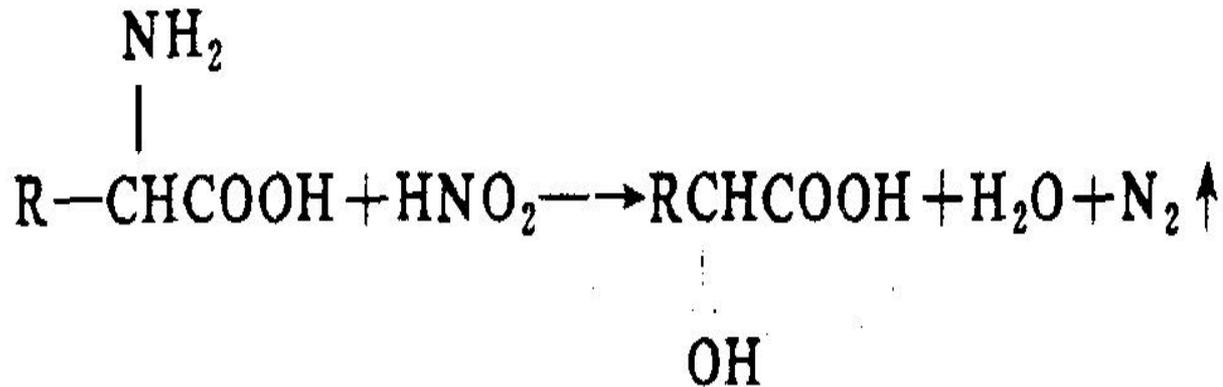
可以用来制备多种氨基酸，如谷氨酸、赖氨酸、4-氨基丁酸（GABA）等在生产上应用最多。

#### 4. AA的化学性质

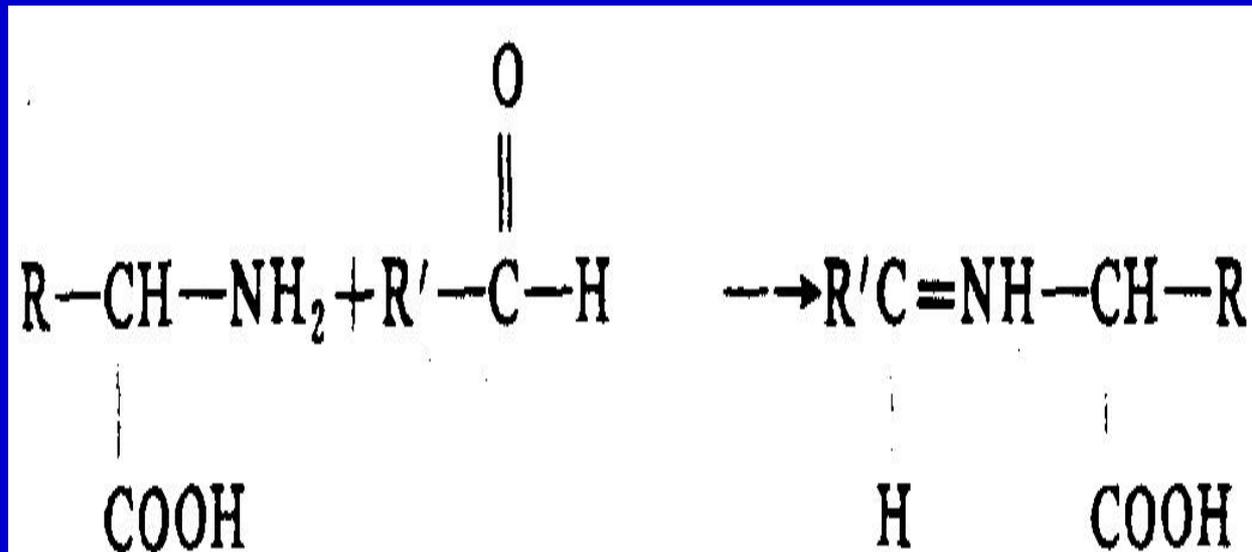
氨基酸上的各个官能团可进行多种反应，在这里介绍氨基、羧基及侧链的一些主要反应：

(1) 氨基上的反应 (3个)：

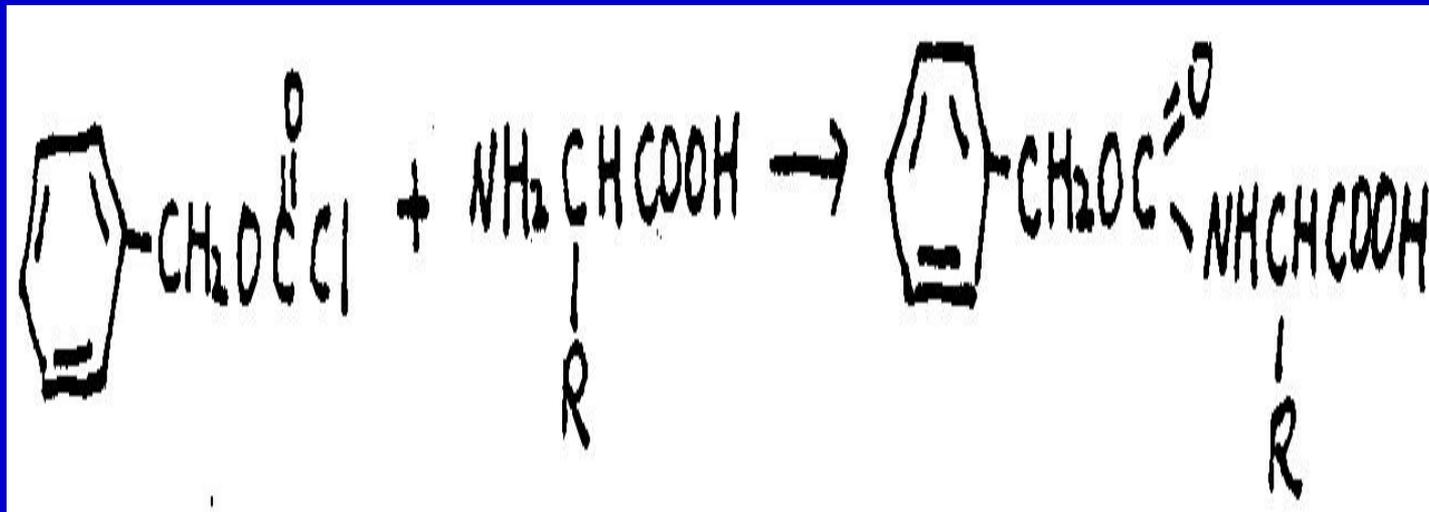
a.  $\alpha$ -AA 能与亚硝酸定量作用，产生氨气和羧基酸；测定 $N_2$ 体积就可以计算氨基酸含量。但脯氨酸、精氨酸、组氨酸、色氨酸中的氮不与 $HNO_2$ 作用。



b. 与醛类化合物反应：氨基与醛类化合物反应生成Schiff碱，而Schiff碱是美拉德反应中间产物，与褐变反应有关。



c. 酰基化反应：例如氨基可与苄氧基甲酰氯在弱碱性条件下反应：

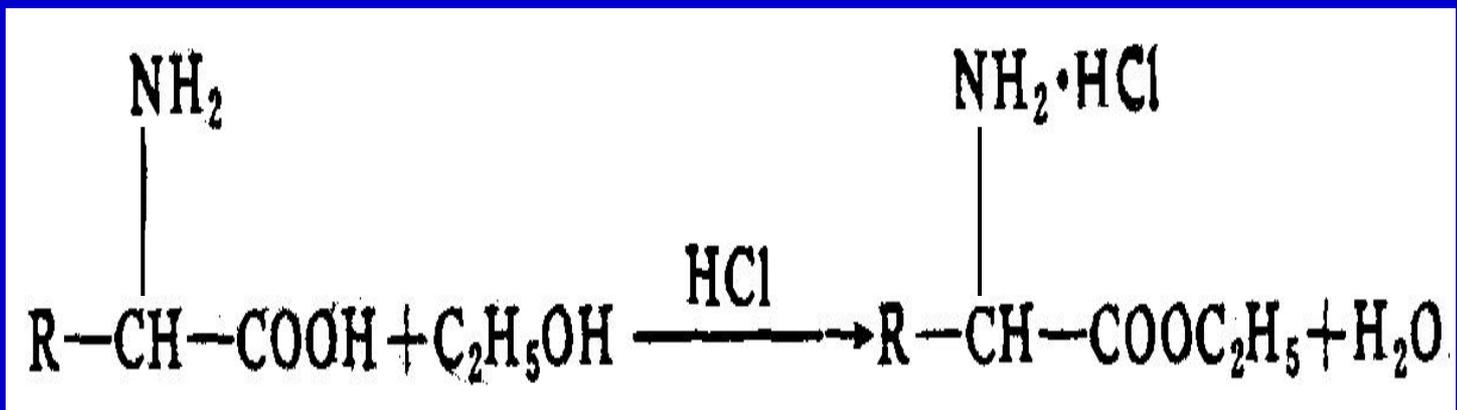


在合成肽的过程中可利用此反应保护氨基。

(2) 羧基上的反应 (2个) :

a. 成酯或成盐反应:

氨基酸在干燥HCl存在下与无水甲醇或乙醇作用生成甲酯或乙酯:



b. 脱羧反应:

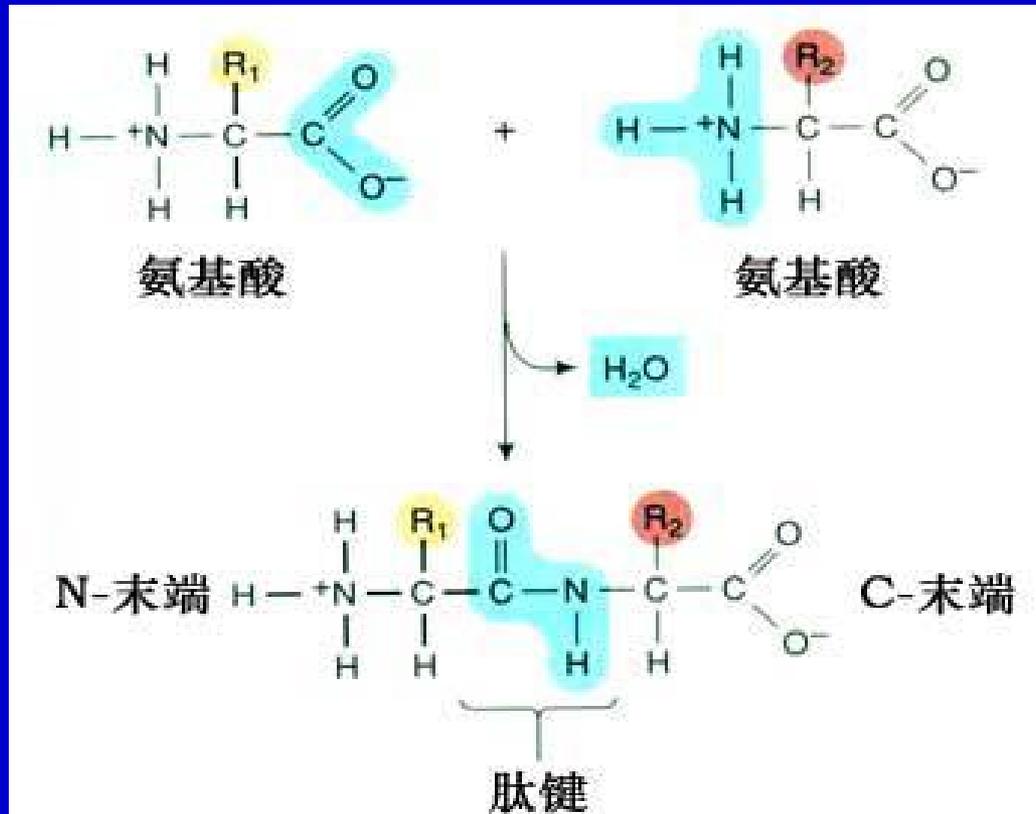
大肠杆菌中含有一种谷氨酸脱羧酶, 可使谷氨酸发生脱羧反应。



(3) 由氨基与羧基共同参加的反应 (2个) :

a. 形成肽键 (酰胺键) :

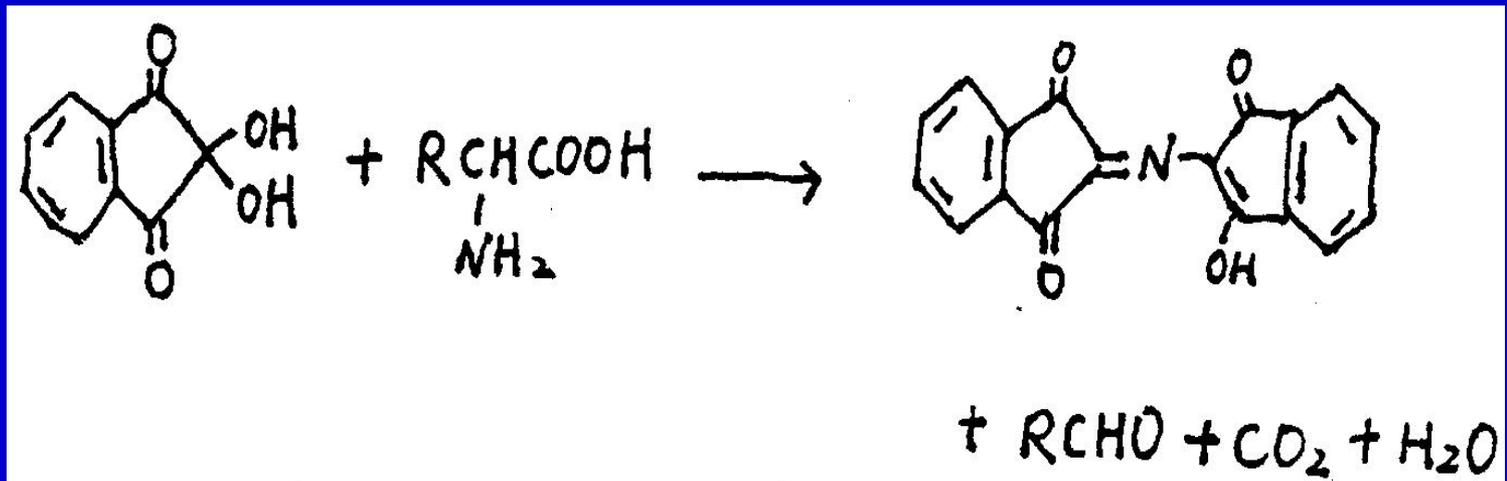
氨基酸之间的羧基和氨基缩合反应, 可以形成肽:



b. 与茚三酮反应:

在微酸性条件下茚三酮与氨基酸共热可发生下列反应, 终产物为蓝紫色化合物, 可用于氨基酸的定性、定量分析。

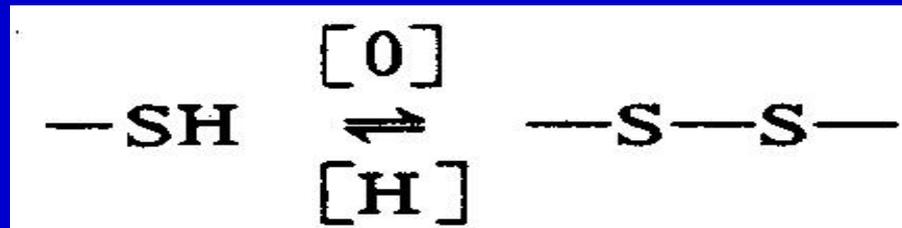
只有脯氨酸生成黄色化合物。



(4)  $\alpha$ -氨基酸的侧链R基反应:

a. R基上含有酚基, 可还原菲林试剂, 生成钼蓝和钨蓝, 可用于蛋白质的定量分析;

b. R基上含有巯基 (-S-H), 在氧化剂存在下生成二硫键 (-S-S-), 在还原剂存在下亦可重新变为一SH基等。



c. R基上含有羟基 (-OH), 可以发生磷酸化。

## 5. 8种必需氨基酸

在20种氨基酸中，有八种在人体内不能合成，而只能有食物供给的氨基酸，称之为必需氨基酸。

它们分别是：

缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸（又称蛋氨酸）、色氨酸、苏氨酸、赖氨酸。

含必需氨基酸多的蛋白质，营养价值越高。

一般动物蛋白质中必需氨基酸的含量比植物蛋白质高，所以动物蛋白质比植物蛋白质好。

### (三)、蛋白质的分类及性质

#### 1. 蛋白质的分类

蛋白质根据其化学组成和溶解度分为三大类：即单纯蛋白质、结合蛋白质和衍生蛋白质。

(1) 单纯蛋白质：仅含氨基酸的一类蛋白质。

a. 清蛋白(白蛋白)：它们是分子量很低的蛋白质，能溶于中性无盐的水中。例如蛋清蛋白、血清蛋白、牛乳中的乳清蛋白、谷物中的麦谷蛋白和豆科种子中的豆白蛋白等即是。

## b. 球蛋白：

一般不溶于水，但可溶于稀酸、稀碱及中性盐溶液，如牛乳中的乳清球蛋白、血清球蛋白，肉中的肌球蛋白和肌动蛋白与大豆中的大豆球蛋白即是。

## c. 谷蛋白：

不溶于水、乙醇及盐溶液中，能溶于很稀的酸和碱溶液中。例如小麦中的谷蛋白和水稻中的米谷蛋白即是。



d. 醇溶谷蛋白：

不溶于水及中性有机溶剂中，能溶于50%-90%酒精中。

例如玉米醇溶谷蛋白。

e. 硬蛋白：

不溶于水和中性溶剂，能抵抗酶的水解。这是一种具有结构功能和结合功能的纤维状蛋白。例如肌肉中的胶原蛋白、肌腱中的弹性蛋白和毛发及角蹄中的角蛋白。

## (2) 结合蛋白质

指包含单纯蛋白质与非蛋白质成分，如碳水化合物、油脂、核酸或金属离子等结合而成的蛋白质。

### a. 脂蛋白：

为油脂与蛋白质结合的复合物，具有极好的乳化能力，存在于牛乳和蛋黄中。与蛋白质结合的油脂有甘油三脂、磷脂、胆固醇及其衍生物。有些蛋白质如视紫红蛋白能与细胞的生物膜相结合，与生物膜的脂双层结合的部分为富含疏水氨基酸的肽段，它们呈 $\alpha$ -螺旋结构，这类蛋白质称为膜蛋白。

## b. 糖蛋白：

糖蛋白是碳水化合物与蛋白质结合的复合物。

这些碳水化合物是氨基葡萄糖、氨基半乳糖、半乳糖、甘露糖、海藻糖等中的一种或多种，与蛋白质间的共价键或羟基生成配糖体。糖蛋白可溶于碱性溶液。

哺乳动物的粘性分泌物、血浆蛋白、卵粘蛋白及大豆某些部位中之蛋白质都属于糖蛋白。

c. 核蛋白:

由核酸与蛋白质结合而成的复合物。存在细胞核及核糖体中。



#### d. 磷蛋白：

为许多主要食物中一种很重要的蛋白质。磷酸基团是与丝氨酸或苏氨酸中的羟基结合，如牛乳中的酪蛋白和鸡蛋黄中的磷蛋白即是。



### (3) 衍生蛋白质

衍生蛋白质是用化学方法或酶学方法处理蛋白质得到的一类衍生物。

根据其变化程度可分为：

一级衍生物：一级衍生物的改性程度较小、不溶于水，如凝乳酶凝结的酪蛋白。

二级衍生物：二级衍生物改性程度较大，包括胨和肽，这些降解产物因在大小和溶解度上有所不同，溶于水、加热不凝集，在许多食品加工过程中如干酪成熟时易生成肽这类降解产物。

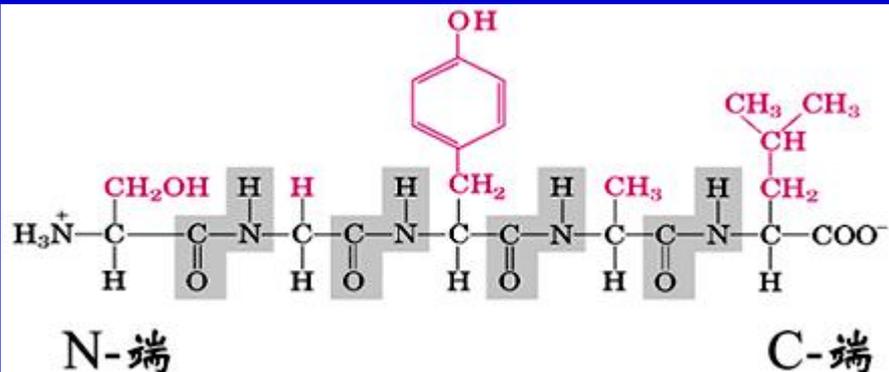
## 2. 蛋白质的结构

蛋白质是以AA为基本结构单位构成的结构复杂高分子化合物。其结构分为低级结构（一级结构）和高级结构（二、三、四级结构）：

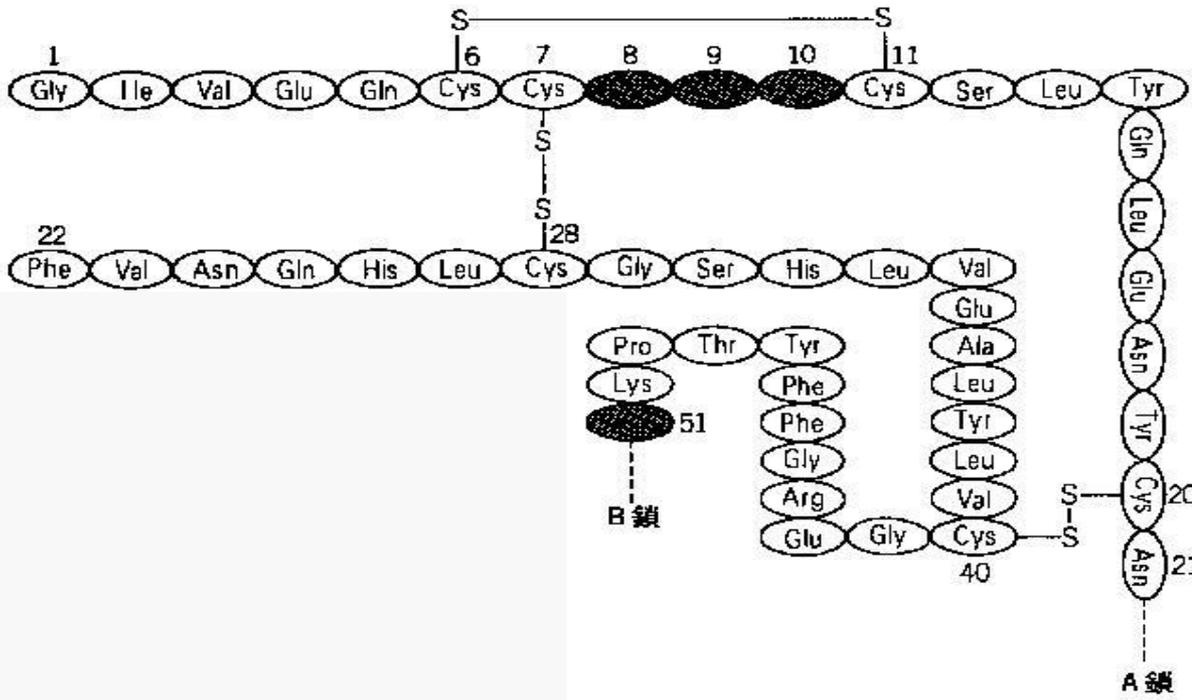
### （1）一级结构：

是氨基酸通过肽键（酰胺键）组成的肽链中，氨基酸残基的种类、数目、排列顺序为蛋白质的一级结构。

在多肽链中带有氨基的一端称作N端，而带有羧基的一端称作C端。



## 胰岛素的一级结构



## (2) 二级结构:

指多肽链借助氢键排列成沿一个方向、具有周期性结构的构象，并不考虑侧链的构象和片段间的关系。Pr的二级结构主要有 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠，氢键起着稳定构象的作用。

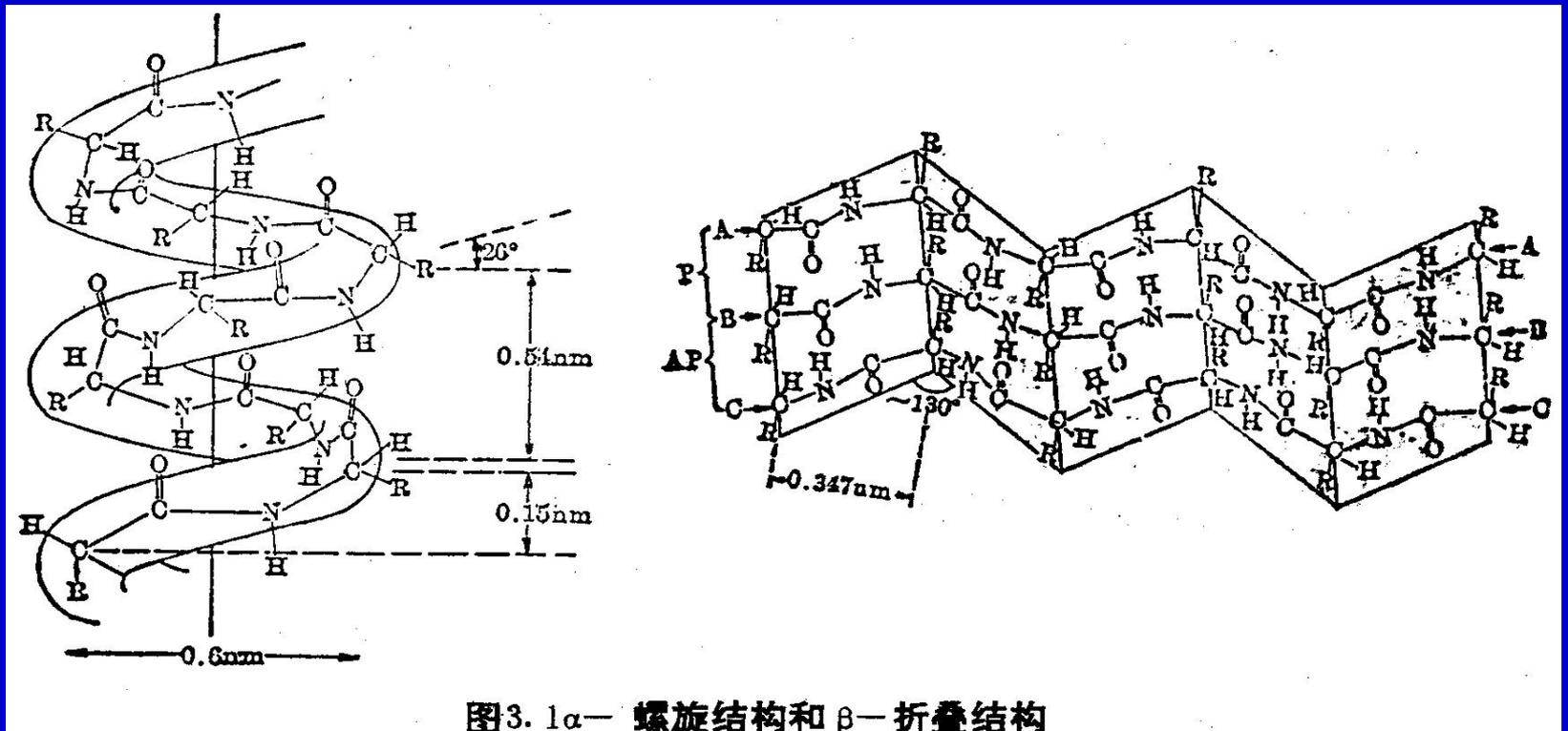


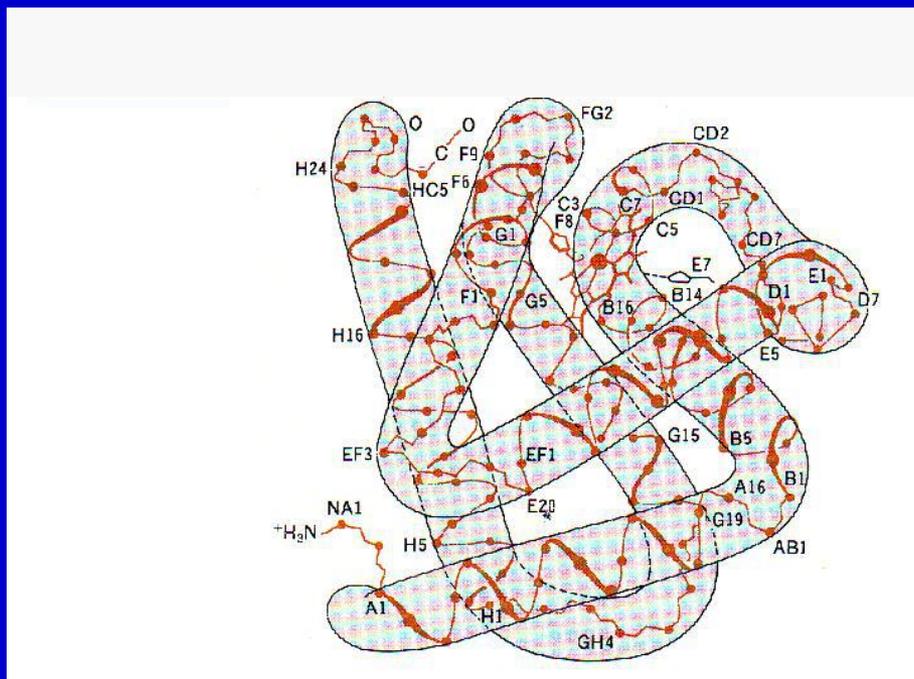
图3.1  $\alpha$ -螺旋结构和 $\beta$ -折叠结构

### (3) 三级结构:

是指肽链借助各种作用力在二级结构基础上, 进一步折叠卷曲形成紧密的复杂球形分子的结构, 同时包括了主链和侧链所有原子和原子团的空间排布关系。表面亲水, 内部疏水。

稳定蛋白质三级结构的作用力有氢键、离子键、二硫键和范德华力。

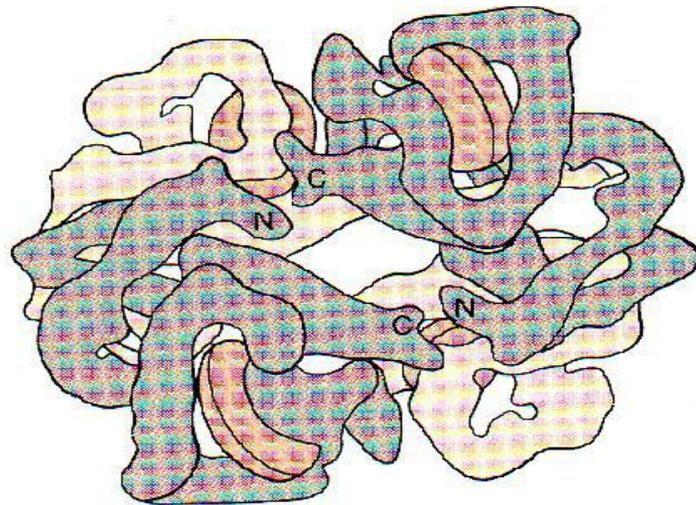
#### 肌球素的三级结构



#### (4) 四级结构:

蛋白质的四级结构是二条或多条肽链之间以特殊方式结合，形成有生物活性的蛋白质；其中每条肽链都有自己的、二、三级结构，这些肽链称为亚基，它们可以相同，也可以不同。

#### 四级结构



$\alpha$ ,  $\beta$  サブユニットが2つずつ、合計4つのサブユニットからできている。 $(\alpha\beta)$ を単位として考えると、互いに対称的配置になっている。

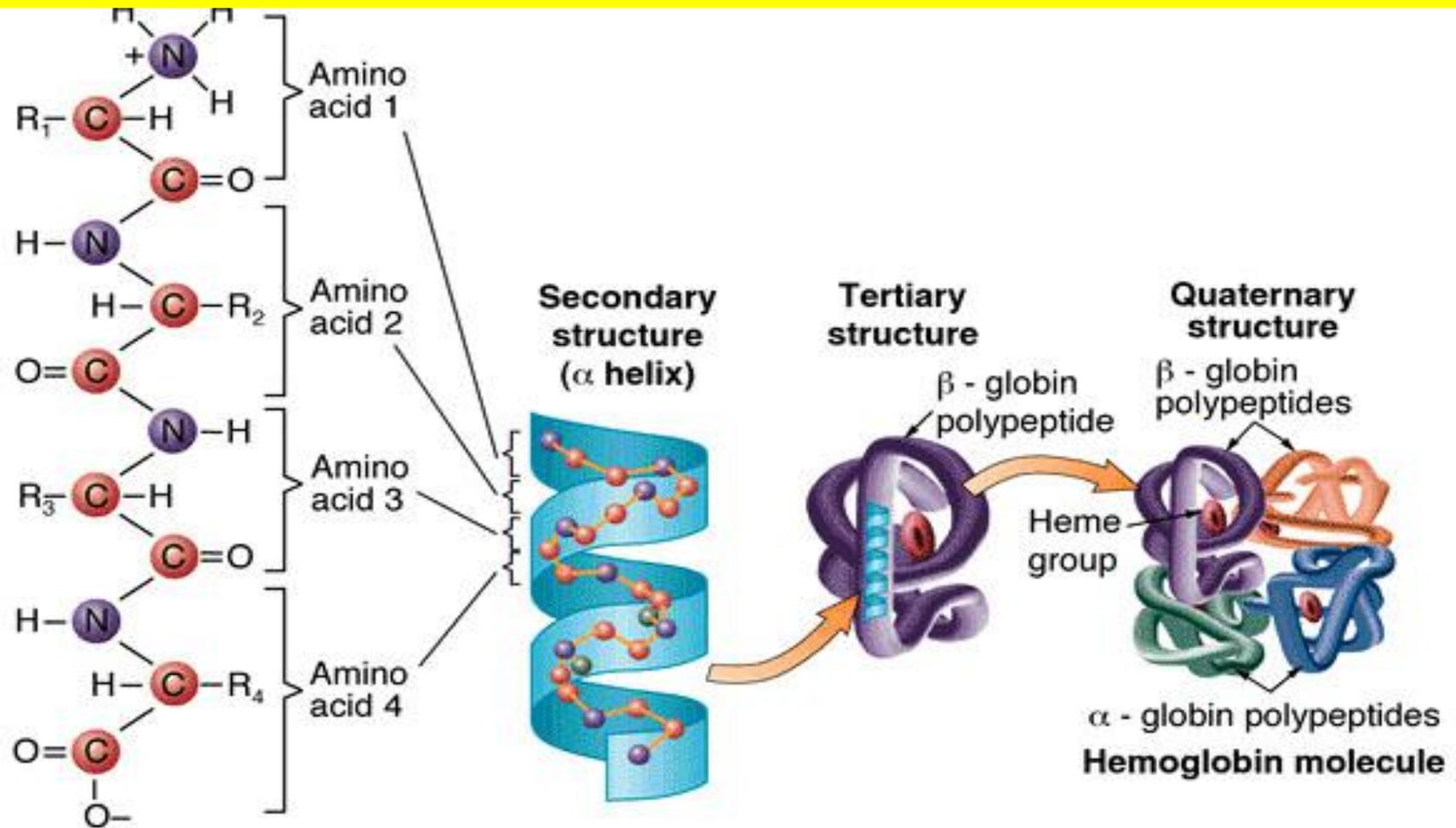
# 蛋白质的各种结构的关系

一级结构

二级结构

三级结构

四级结构



### 3. 蛋白质的物理化学性质

#### (1) 蛋白质的酸碱性质

蛋白质是两性电解质，分子内既有游离氨基，又有游离羧基，同时又侧链基团如COOH、咪唑基、胍基等。在一定条件下，这些基团解离为带电基团，从而使蛋白质带电，所带电荷的性质和数量与可解离基团有关，也与溶液的pH值有关。

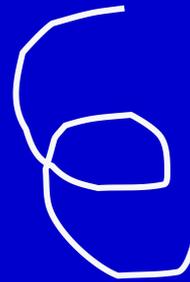
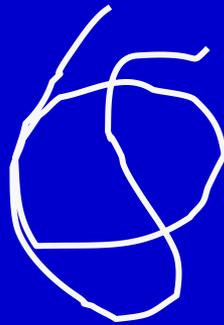
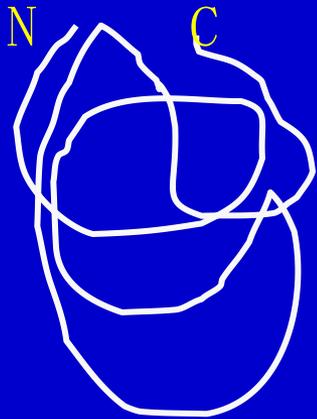
蛋白质在某pH值时其所带电荷数为零，此时它所在溶液的pH就是它的等电点pI。当  $pH > pI$  时蛋白质为阴离子，在电场中可向阳极移动；而当  $pH < pI$  时蛋白质作为阳离子，在电场中向阴极移动。

## (2) 蛋白质的水解

蛋白质经过酸、碱或酶催化水解后，经过一系列中间产物，最后生成氨基酸，中间产物主要是蛋白胨和各种肽。

状态：蛋白质 → 蛋白胨 → 小肽 → 二肽 → 氨基酸

大小：>10kDa      10kDa      <10kDa      0.2KDa      0.1kDa



## 蛋白质的水解类型及特点：

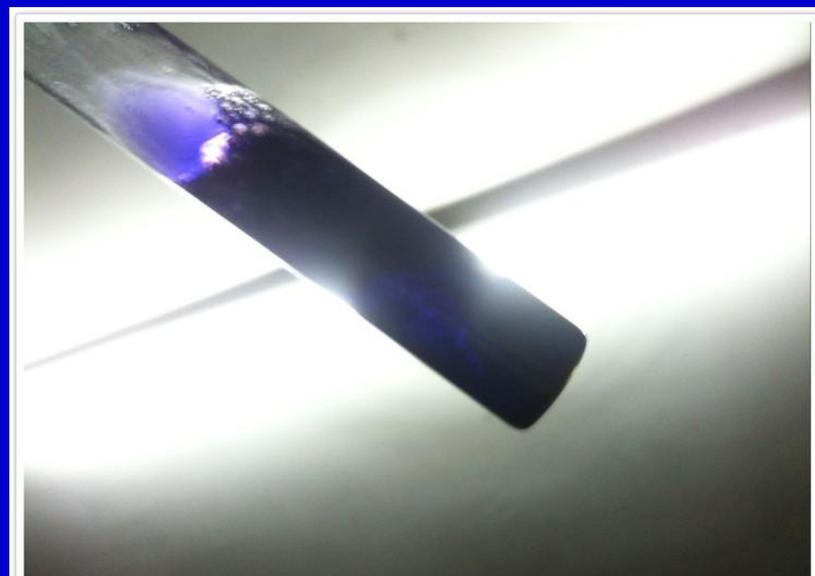
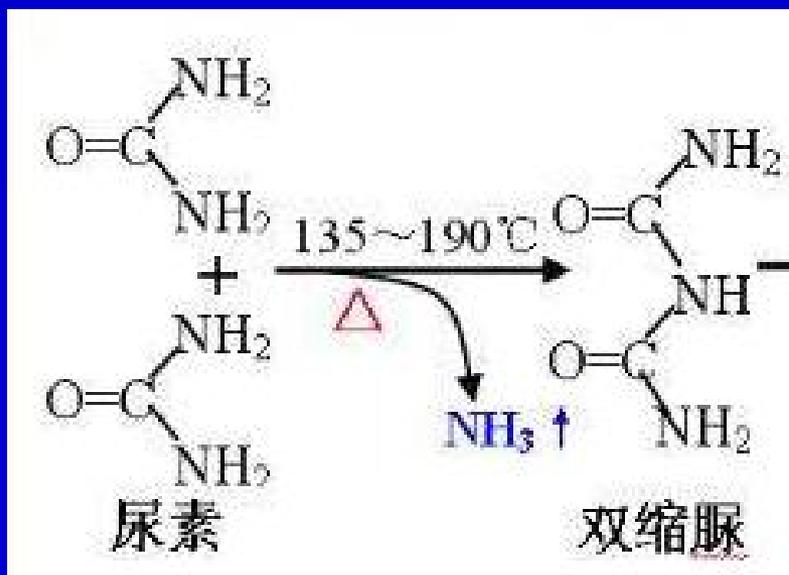
碱水解：可以使胱氨酸、半胱氨酸、精氨酸破坏，并引起氨基酸的外消旋化；

酸水解：可破坏色氨酸；

酶水解：它的反应条件温和，副反应少，对氨基酸破坏少。但需要一系列酶作用才能使一种蛋白质完全水解成游离氨基酸。

### (3) 蛋白质的颜色反应

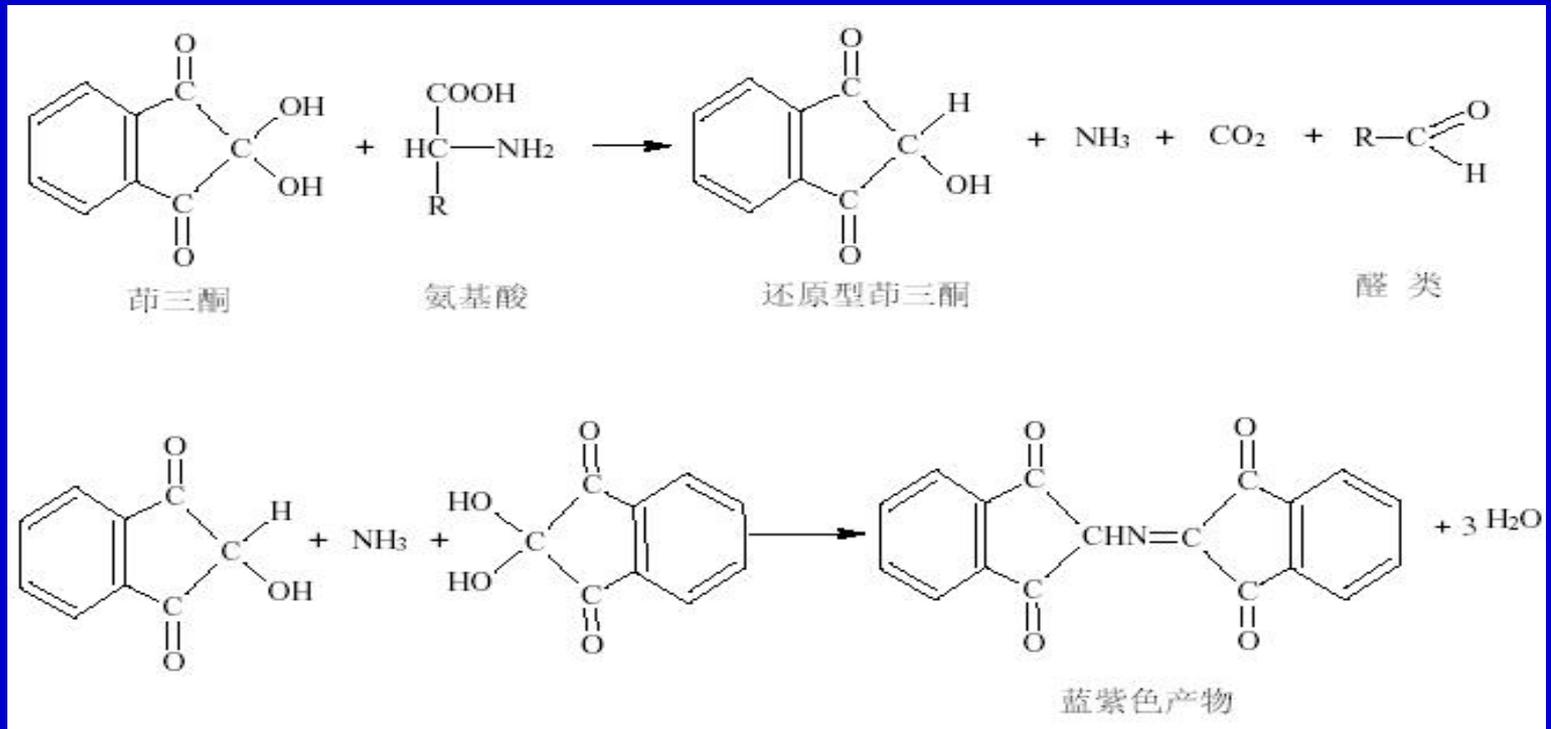
双缩脲反应：双缩脲是由两分子尿素缩合而成的化合物。将尿素加热到180度，则两分子尿素缩合成一分子双缩脲，并放出一分子氨。双缩脲在碱性溶液中能与硫酸铜反应产生红紫色络合物，此反应称为双缩脲反应。



双缩脲试剂：指能与双缩脲或具有两个以上肽键的化合物发生红紫色显色反应的试剂，主要是指NaOH和CuSO<sub>4</sub>两种溶液。

由于蛋白质具有类似双缩脲的结构，因此也能与双缩脲试剂反应，生成红紫色的络合物。凡是具有二个以上肽键的化合物都能发生这种反应，而二肽和游离氨基酸不发生该反应。蛋白质或肽分子在碱性环境内与CuSO<sub>4</sub>形成紫色化合物。用此反应对蛋白质进行定性分析。

b. 茛三酮反应：也是蛋白质的一个颜色反应，在中性条件下蛋白质或多肽也能同茛三酮试剂发生颜色反应，生成兰色或紫红色化合物。茛三酮试剂与胺盐、氨基酸均能反应。



### c. 黄色反应:

在蛋白质溶液中加入浓硝酸，蛋白质沉淀析出后，再加热则变成黄色沉淀。这一反应是含有芳香族AA（苯丙、色、酪）的蛋白质所特有的颜色反应。如皮肤、指甲、毛发等遇到浓硝酸会呈黄色。

#### d. 费林反应:

含有酪氨酸的蛋白质因酪氨酸的酚基能育费林试剂中的磷钼酸和磷钨酸反应，还原成蓝色化合物。利用这一反应定量测定蛋白质。



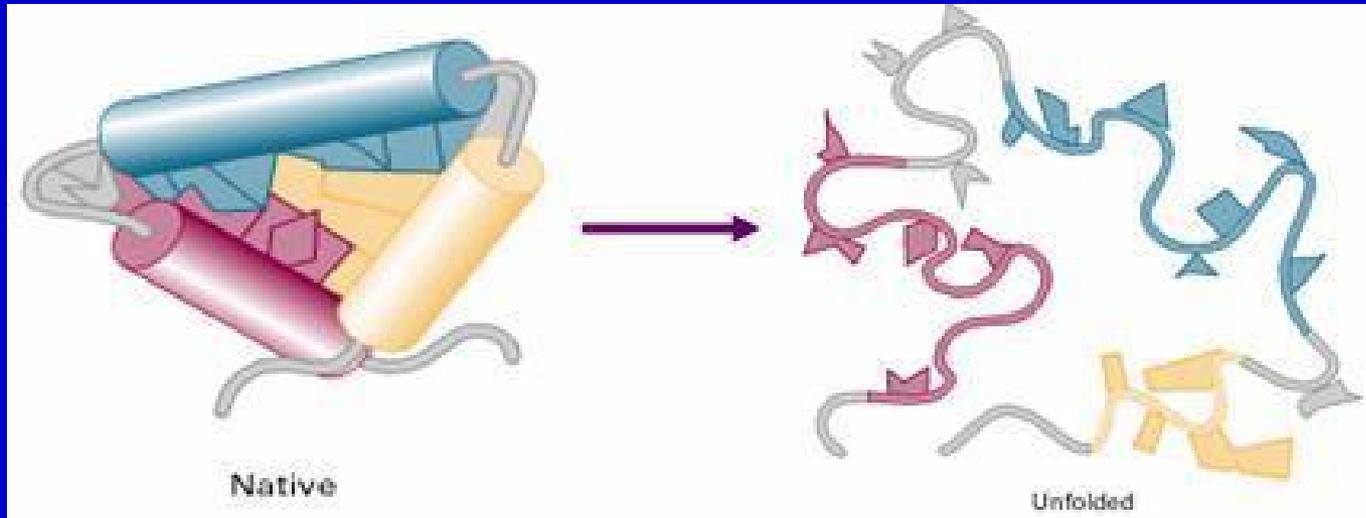
## 4. 蛋白质的变性

蛋白质的二、三、四级结构的构象不稳定，在某些物理或化学因素作用下，发生不同程度的改变称为变性。

变性是指蛋白质高级结构发生改变，而肽键不断裂。变性后的蛋白质某些性质发生变化，主要包括：

- ① 疏水性基团暴露，水中溶解性降低；
- ② 某些蛋白质的生物活性丧失；
- ③ 肽键暴露出，易被酶攻击而水解；
- ④ 蛋白质结合水的能力发生了变化；
- ⑤ 蛋白质结晶能力丧失。

## 蛋白质的变性



正常结构

随机结构

## 蛋白质变性的因素：

### (1) 物理因素

#### a. 加热：

加热是引起蛋白质变性的**最常见因素**，蛋白质热变性后结构伸展变形。多数蛋白质70度左右都会，且不可逆。

#### b. 低温：

低温处理可导致某些蛋白质变性。低温造成的变性一般是**可逆的**，温度恢复的一定时候，蛋白质性质也发生恢复，称为**复性**，在生物医药领域有很多应用。

c. 机械处理：

有些机械处理如揉捏、搅打等，由于剪切力的作用使蛋白质分子伸展，破坏了其中的 $\alpha$ —螺旋，使蛋白质网络发生改变而导致变性。面团的揉制就是典型的例子。

d. 其它因素：

如高压、辐射等处理均能导致蛋白的变性。

## (2) 化学因素

### a. 酸、碱因素：

大多数在特定的pH值范围（4-10）内是稳定的，但在极端pH条下，Pr分子内部的可解离基团，受强烈的静电排斥作用而使分子伸展、变性。

### b. 金属离子：

$\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 离子是Pr分子中的组成部分，对稳定Pr构象起着重要作用。除去 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 会大大地降低Pr对热、酶的稳定性；而 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Ag}^{+}$ 等易与Pr分子中的-SH形成稳定的化合物，而降低蛋白质的稳定性。

c. 有机溶剂：

有机溶剂可通过降低Pr分子间的静电斥力，导致其变性；或是进入蛋白质的疏水性区域，破坏蛋白质分子的疏水相互作用。这些作用力的改变均导致了蛋白质构象的改变，从而产生了变性。

d. 有机化合物：

**表面活性剂**如十二烷基磺酸钠(SDS)能在蛋白质的疏水区和亲水区间起作用，不仅破坏疏水相互作用，还能促使天然蛋白分子伸展，所以是一种很强的变性剂。