

# 食品生物化学电子教材

## ● 蛋白质

### 一、概述

#### 蛋白质概述

#### 1. 蛋白质在食品加工中的意义

蛋白质是食品中三大营养素之一蛋白质

对食品的色、香、味及组织结构等具有重要意义

一些蛋白质具有生物活性功能，是开发功能性食品原料之一

#### 2. 蛋白质的分子量及其测定方法

分子量：一万到一百万道顿（Dalton）之间或更大。

测定方法：渗透压法；超离心法；凝胶过滤法；聚丙烯酰胺凝胶电泳法。

#### 3. 蛋白质的元素组成

C: 50-55%

H: 6-8%

O: 20-23%

S: 0-4%

N: 15-18%

微量元素：P、Fe、Zn、Cu、I 等

#### 4. 蛋白质的分类

按分子形状分 纤维状蛋白质

球状蛋白质

按分子组成分 简单蛋白质

结合蛋白质

按蛋白质的溶解度分 清蛋白

谷蛋白

球蛋白

醇溶蛋白

#### 5. 食品中蛋白质来源

动物中蛋白质：如猪肉、鱼肉、鸡肉、乳

植物中蛋白质：如大豆、谷物

微生物中蛋白质：酵母

#### 氨基酸

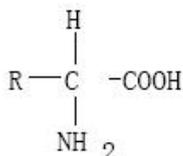
# 食品生物化学

## 一、氨基酸的一般性质

### 1. 氨基酸的结构

氨基酸是组成蛋白质分子的基本单位，有 20 种氨基酸通常存在于蛋白质水解物中，其他种氨基酸也存在于自然界，并具有生物功能。为了了解蛋白质的性质，必须首先了解氨基酸的结构性质。

氨基酸是带有氨基的有机酸，分子结构中至少含有一个伯氨基和一个羧基， $\alpha$ -氨基酸含有一个 $\alpha$ -碳原子、一个羧基、一个氢原子和一个侧链 R 基团。



R 是侧链基团，脯氨酸和羟基脯氨酸的 R 基团来自吡咯烷，它们并不符合一般结构。

### 2. 分类

(1) 具有非极性或疏水性侧链的氨基酸（丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸），在水中的溶解度较极性氨基酸小（表 5-2），其疏水程度随着脂肪族侧链的长度增加而增大。

(2) 带有极性、无电荷（亲水的）侧链的氨基酸含有中性、极性基团（极性基团处在疏水氨基酸和带电荷的氨基酸之间）能够与适合的分子例如水形成氢键。丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸的极性与它们所含的羟基有关，天冬酰胺、谷氨酰胺的极性同其酰胺基有关。而半胱氨酸则因含有巯基，所以属于极性氨基酸，甘氨酸有时也属于此类氨基酸。其中半胱氨酸和酪氨酸是这一类中具有最大极性基团的氨基酸，因为在 pH 值接近中性时，巯基和酚基可以产生部分电离。在蛋白质中，半胱氨酸通常以氧化态的形式存在，即胱氨酸。当两个半胱氨酸分子的巯基氧化时便形成一个二硫交联键，生成胱氨酸。天冬酰胺和谷氨酰胺在有酸或碱存在下容易水解并生成天冬氨酸和谷氨酸。

(3) 带正电荷侧链（在 pH 接近中性时）的氨基酸包括赖氨酸、精氨酸和组氨酸，它们分别具有 $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>、胍基和咪唑基（碱性）。这些基团的存在是使它们带有电荷的原因，组氨酸的咪唑基在 pH7 时，有 10%被质子化，而 pH6 时 50%质子化。

(4) 带有负电荷侧链的氨基酸（pH 接近中性时）包括天冬氨酸和谷氨酸。由于侧链为羧基（酸性），在中性 pH 条件下带一个净负电荷。

按 R 的极性分类

非极性氨基酸: Ala, Ile, Leu, Phe, Met, Trp, Val, Pro

极性氨基酸: 无电荷侧链氨基酸: Ser, Thr, Tyr, Asn, Gln, Cys, Gly

带正电荷侧链氨基酸: Lys, Arg, His

带负电荷侧链氨基酸: Asp, Glu

### 3. 氨基酸在水中的溶解度

表 5-1 氨基酸在水中的溶解度

氨基酸	溶解度 (g/l)	氨基酸	溶解度 (g/l)
丙氨酸	167.2	亮氨酸	21.7



## 食品生物化学

式存在时， $\alpha$ -氨基酸（-氨基、-羧基）用碱滴定可以释放出两个质子。氨基酸的等电点  $pI$  是指在溶液中净电荷为零时的  $pH$  值。 $pK_a$  值是上述两个反应的离解常数的负对数，即

$$pK_{a1} = -\log \frac{[H^+][R_0]}{[R^+]} \quad (5-1)$$

$$pK_{a2} = -\log \frac{[H^+][R^-]}{[R_0]} \quad (5-2)$$

在上列公式中， $K_{a1}$  和  $K_{a2}$  分别代表 $\alpha$ 碳原子上的-COOH 和  $N+H_3$  的表观离解常数， $R$  如果侧链基上有离解基团，其表观电离常数用  $K_{a3}$  表示。在中性  $pH$  范围， $\alpha$ -氨基和 $\alpha$ -羧基都处在离子化状态，因而当用酸滴定时， $-COO^-$  被质子化（ $-COOH$ ）；碱滴定时， $-NH_3^+$  发生去质子化。图 5-1 是典型氨基酸两性离子电化学滴定曲线。仅含 $\alpha$ -氨基和 $\alpha$ -羧基的氨基酸（侧链是不可离解的）的  $pK_{a1}$  的范围为 2.0~3.0， $pK_{a2}$  为 9.0 ~ 10.0（见表 5-3）。带有可离解  $R$  基侧链的氨基酸，例如 Lys, Arg, Asp, Glu, Cys 和 Tyr, 相当于三元酸，有 3 个  $pK_a$  值，因此滴定曲线比较复杂。绝大多数主要氨基酸的  $pK_a$  和  $pI$  值见表 5-3，氨基酸的羧基  $pK_{a1}$  值比脂肪族羧酸低（醋酸的  $pK_a$  为 4.74），因为氨基酸的带正电荷的氨基连接在邻近羧基的 $\alpha$ 碳原子上。

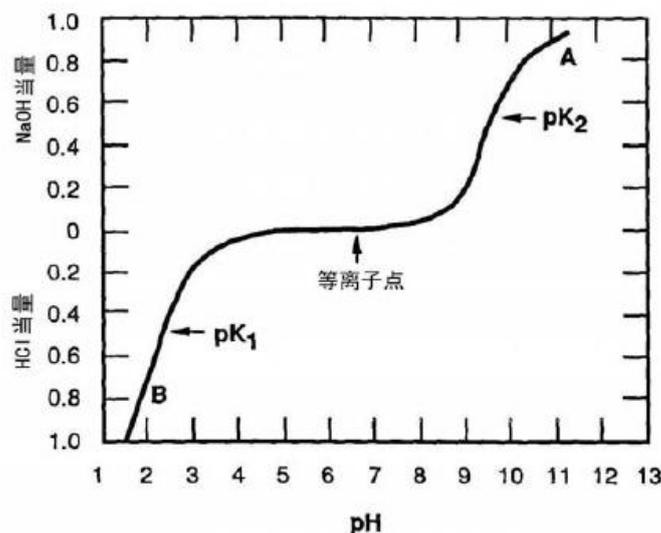


图 5-1 一种典型氨基酸滴定曲线

$pK_a$  是表观离解平衡常数的负对数， $pI$ （等电点）是电中性状态（净电荷为零）时的  $pH$  值。根据下列等式，利用氨基酸的  $pK_{a1}$ ,  $pK_{a2}$  和  $pK_{a3}$  值可估算等电点值：

不带电荷侧链的氨基酸  $pI = (pK_{a1} + pK_{a2}) / 2$

酸性氨基酸  $pI = (pK_{a1} + pK_{a3}) / 2$

碱性氨基酸  $pI = (pK_{a2} + pK_{a3}) / 2$

# 食品生物化学

在等电点以上的任何 pH 值，氨基酸带净负电荷，并因此在电场中将向正极移动。在低于等电点的任一 pH 值，氨基酸带有净正电荷，在电场中将向负极移动。在一定 pH 范围内，氨基酸溶液的 pH 离等电点愈远，氨基酸携带的净电荷愈多。

## 5. 氨基酸的疏水性

蛋白质在水中的溶解度同氨基酸侧链的极性基团（带电荷或不带电荷）和非极性（疏水）基团的分布状态有关，而且蛋白质和肽的结构、溶解性和结合脂肪的能力等许多物理化学性质，都受到组成氨基酸疏水性的影响。

### 疏水性概念

氨基酸以及肽和蛋白质的疏水程度可以根据氨基酸在水和弱极性溶剂例如乙醇中的相对溶解度来确定，将 1mol 氨基酸从水溶液中转移到乙醇溶液中，自由能的变化(即转移自由能)来计算。

氨基酸的疏水性是指氨基酸从乙醇转移至水中的自由能变化 $\Delta G_0$ 。

$$\Delta G_0 = -RT \ln S_{乙醇}/S_{水}$$

$S_{乙醇}$ -----氨基酸在乙醇中的溶解度

$S_{水}$ -----氨基酸在水中的溶解度

## 6. 氨基酸的光学性质及光谱

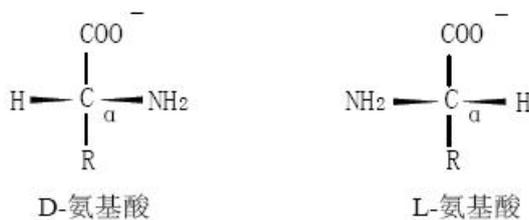
蛋白质温和水解（酸或酶法）产生的所有氨基酸除甘氨酸外，都具有旋光性，这种性质（手

性）是因为有不对称 $\alpha$ -碳原子存在，不对称碳原子轨道为  $sp^3$  杂化。根据碳原子上四种不同取

代基的正四面体位置，可以得到两种立体异构体（或对映体）。因此，用费歇尔法表示，按 D-

和 L-甘油醛类推，而不是按对线性偏振光的旋转方向确定。L-和 D-氨基酸的两种立体异构体可

用下式表示：



蛋白质分子中只有色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸等芳香族氨基酸是能够吸收紫外光的氨基酸，分别在波长 278、275 和 260nm 处出现最大吸收（表 5-2）。胱氨酸在 230nm 处有微弱吸收。所有参与蛋白质组成的氨基酸在接近 210nm 波长处都产生吸收，但是它们在可见光区域均没有吸收。

# 食品生物化学

氨基酸仅色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸能产生荧光（表 5-2），甚至蛋白质分子中的色氨酸也仍然会产生荧光（激发波长 280nm，在 348nm 波长处荧光最强）。这些氨基酸所处的环境极性对它们的紫外吸收和荧光性质有影响，因此常通过这些氨基酸的环境变化，对生色基团产生的微扰作用所引起的光谱变化来考察蛋白质构象的变化。

表 5-5 芳香族氨基酸的紫外吸收和荧光

氨基酸	最大吸收波长 ( $\lambda_{\max}$ , nm)	摩尔消光系数 ( $\text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ )	荧光最大发射波长 ( $\lambda_{\max}$ , nm)
苯丙氨酸	260	190	282 <sup>a</sup>
色氨酸	278	5500	348 <sup>b</sup>
酪氨酸	275	1340	304 <sup>b</sup>

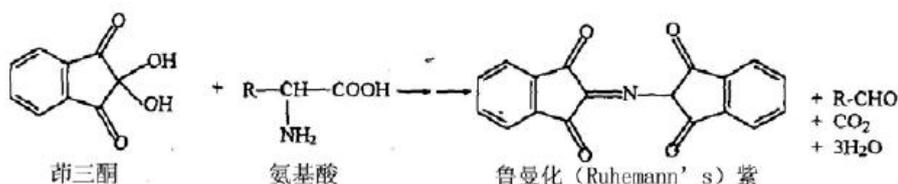
## 7. 氨基酸的化学反应

羧酸性质：成盐、成酯、成酰胺、脱羧、酰氯化

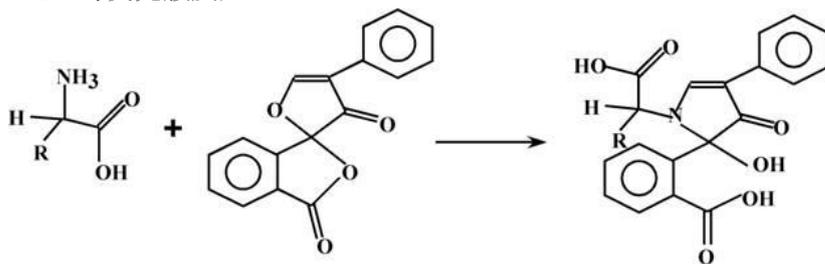
氨基性质：与 HCl 结合、脱氨、与 HNO<sub>3</sub> 作用

其他：

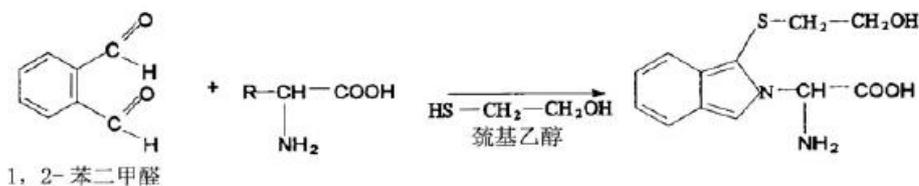
### (1) 与茚三酮反应



### (2) 与荧光胺反应



### (3) 与邻苯二甲醛反应



# 食品生物化学

## 蛋白质分子构象

### 一、概述

蛋白质与核酸、糖类一样，都属于生物大分子，它们和一般的合成大分子的最大差别可以归结为两点：特定结构和时空特性。本章只介绍蛋白质的结构层次。蛋白质的时空特性超出了本书的范围，这里不予阐述。蛋白质的层次结构，与另外三类生物分子核酸、糖类和脂类相比，了解最为清楚。

前面已经提到蛋白质的肽链是由 20 种氨基酸单体随机组成的，因此蛋白质肽链结构的复杂程度就可想而知。另外，蛋白质的肽链如同其他合成高分子一样，分子链都很长。任何一种长链分子在伸展状态时，基本上都是处于较高的能态，只有使分子的内能降低，分子才能成为更稳定的状态。因而蛋白质的肽链就会自发地通过许多和 $\alpha$ -碳原子或肽平面键间的单键旋转，同时伴随着分子内大量的原子和基团间的相互作用，降低内能，折叠成为一些空间内较为稳定的立体结构。所以，蛋白质的结构并不只是描述蛋白质肽链中氨基酸的线性排列顺序。蛋白质的立体结构是分阶段形成的，在现已查明的蛋白质立体结构中存在不同类型规则的有序结构。在此基础上，提出了蛋白质的多层次立体结构学说。

蛋白质的结构层次可分为一、二、三和四级结构。蛋白质的二、三、四级结

构一般又统称为蛋白质的高级结构。关于蛋白质三维结构的研究，目前已经有 9000 多种蛋白质的资料，蛋白质四级结构水平的概念已经不能满足科学发展的需要。因此，蛋白质化学家又在四级结构水平的基础上增加了两种新的结构层次，即超二级结构(Supersecondary Structure)和结构域(Structure domain)。超二级结构是指几种二级结构的组合物存在于各种结构中。结构域的概念是指蛋白质分子中那些明显分开的球状部分。

### 二、概念

一级结构：又称化学结构，是指氨基酸在肽链中的排列顺序及二硫键的位置。

二级结构：是指由多肽链上主链骨架中各个肽段所形成的规则或无规则的空间排布(构象)。如 $\alpha$ 螺旋， $\beta$ -折叠。

超二级结构：指二级结构的基本结构单位相互聚集，形成有规律的二级结构的聚集体。

结构域：二级结构和超二级结构单元紧密相连，折叠成两个或多个在空间上可以明显区分的三级折叠区域(通常为球状)，如动物的免疫球蛋白 G(Ig G)含有 12 个结构域。

三级结构：指含 $\alpha$ 螺旋、 $\beta$ 弯曲和 $\beta$ 折叠或无规卷曲等二级结构的蛋白质，其线性多肽链进一步折叠成为紧密结构时的三维空间排列。

四级结构：蛋白质分子由两条或两条以上各自独立的具有三级结构的多肽组成，这些多肽链之间通过次级键相互缔合而形成的有序排列的空间结构，称为蛋白质四级结构。

二、三、四级结构统称为蛋白质的空间结构，也称为蛋白质的高级结构。

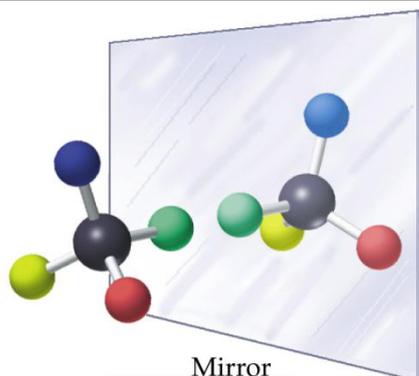
### 三、构象与构型的区别

构型：是指原子的空间排列，这种排列的改变会涉及共价键的生成或破坏，但与氢键无关。

如氨基酸的 D-型和 L-型。

立体异构体包括光学异构体和结构异构体。

# 食品生物化学



**构象：**是指分子内各原子或基团之间的立体关系。构象的改变是由于氢键的旋转而产生的，他不涉及共价键的变化，仅涉及到氢键等次级键的改变。

当单链旋转时，分子中的基团或原子可能形成不同的空间排布，这些不同的空间排列称为不同的构象。为了避免构象和构型的混淆，

1969年 IUPAC 规定，在描述蛋白质等生物大分子的空间结构是使用构象。

## 四、稳定蛋白质构象的作用力

蛋白质是一大类具有特定结构的生物大分子，它同任何分子一样，只有在分子内存在着某些特定的相互作用时，分子中一些原子或基团间的相对位置才能得到固定，呈现某种稳定的立体结构。另外，从热力学观点看，任何一种伸展的长链分子基本上都是处于不稳定的高能态。为了使蛋白质处于热力学稳定的天然构象，必须是使适合于该构象的各种相互作用达到最大，而其他不适宜的相互作用减低至最小，这样蛋白质的整个自由能将是一个最低值。

蛋白质形成二级、三级和四级结构，并使之保持稳定的相互作用力包括两类：① 蛋白质分子内固有的作用力，所产生的分子内相互作用(即范德华相互作用和空间相互作用)；② 周围溶剂影响所产生的分子内相互作用(包括氢键、静电和疏水相互作用)。

### 1. 空间张力

从理论上说，在没有空间位阻的情况下， $\phi$ 和 $\psi$ 可在 $360^\circ$ 内自由旋转。但氨基酸残基具有大小不同的侧链，由于侧链的空间位阻使 $\phi$ 和 $\psi$ 的转动受到很大限制，它们只能取一定的旋转自由度。正因为如此，多肽链的序列仅能有几个有限的构象。肽单位平面几何形状的变形或键的伸长与弯曲改变，都会引起分子自由能的增加。因此，多肽链的折叠必须避免键长和键角的畸变。

### 2. 范德华力

蛋白质中所有原子都在不断的运动，原子中的电子也在绕着原子核不停地运动。因此，一些原子的正负电荷在某一瞬间也可能有相对的偏移，形成瞬间偶极。这些诱导的瞬间偶极之间可能发生吸引和排斥相互作用，这种作用被称为色散力，作用力的大小与原子间的距离( $r$ )有关，吸引力与 $r^6$ 成反比，而相互间的排斥力与 $r^{12}$ 成反比。尽管这种色散力很弱(一般在 $-0.17 \sim -0.8\text{kJ/mol}$ 范围)，只在很短的距离内有作用，但是由于蛋白质分子内的原子数目是大量的，这种色散力也不容忽视(见表5-9)。就蛋白质而论，这种相互作用力同样与 $\alpha$ 碳原子周围扭转角( $\phi$ 和 $\psi$ )有关(图5-2)。距离大时不存在相互作用力，当距离小时可产生吸引力，距离更小时则产生排斥力。原子间存在的范德华吸引力包括偶极-偶极作用

# 食品生物化学

力（例如，肽键和丝氨酸是偶极相互作用力）、偶极-诱导偶极相互作用力和色散力，后者是最重要的一种力。

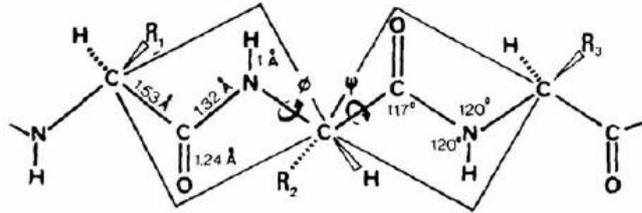


图 5-2  $\alpha$ -L-多肽链碎片的结构（反式构型）。原子间距离（Å）和键角度（°），矩形中的 6 个原子在同一平面上， $\phi$  和  $\psi$  表示围绕一个  $\alpha$  碳原子的可能扭转角，两个邻近  $\alpha$  碳原子的肽键各位于一个平面上， $R_1$ 、 $R_2$  和  $R_3$  处于反式位置（ $\phi = \psi = 180^\circ$ ）

### 3. 静电相互作用

蛋白质可看成是多聚电解质，因为氨基酸的侧链（例如天冬氨酸、谷氨酸、酪氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸、半胱氨酸）以及碳和氮末端氨基酸的可解离基团均参与酸碱平衡，肽键中的  $\alpha$  氨基和  $\alpha$  羧基在蛋白质的离子性中只占很小的一部分。

由于蛋白质氨基酸中可解离侧链基团很多（占残基总数的 30%~50%）。在中性 pH，天冬氨酸和甘氨酸残基带负电荷，而赖氨酸、精氨酸和组氨酸带正电荷；在碱性 pH，半胱氨酸和酪氨酸残基带负电荷。在中性 pH，蛋白质带净负电荷或净正电荷，取决于蛋白质分子中所带负电荷和正电荷残基的相对数目。蛋白质分子净电荷为零时的 pH 值定义为蛋白质的等电点 pI。等电点 pH 不同于等离子点（isoelectric point），等离子点是指不存在电解质时蛋白质溶液的 pH 值。蛋白质分子中大部分可解离基团，也就是说，除少数例外，几乎所有带电荷的基团都是位于蛋白质分子表面。在中性 pH，蛋白质分子带有净正电荷或净负电荷，因此可以预料，蛋白质分子中带有同种电荷的基团，会因静电排斥作用而导致蛋白质结构的不稳定性。同样也有理由认为，蛋白质分子中在某一特定关键部位上，带异种电荷的基团之间，由于相互的静电吸引作用，将对蛋白质结构的稳定性有着重要的贡献。事实上，在水溶液中，由于水有很高的介电常数，蛋白质的排斥力和吸引力强度已降低到了最小值，其静电相互作用能仅为  $\pm 5.8 \sim \pm 3.5 \text{ kJ/mol}$ 。因此，处在蛋白质分子表面的带电基团对蛋白质结构的稳定性没有显著的影响。

蛋白质的可解离基团的电离情况和局部环境的 pH 值有很大的关系，也和局部环境的介电性质有关。部分埋藏在蛋白质内部的带电荷基团，由于处在比水的介电常数低的环境中，通常能形成具有强相互作用能的盐桥。一般蛋白质的静电相互作用能在  $\pm 3.5 \sim \pm 460 \text{ kJ/mol}$  范围。

尽管静电相互作用不能作为蛋白质折叠的主要作用力，然而在水溶液介质中，带电荷基团仍然是暴露在蛋白质的表面，因此它们也确实影响蛋白质的折叠模式。

### 4. 氢键相互作用

氢键键合：氢键键合是指具有孤电子对的电负性原子（如 N、O 和 S）与一个氢原子的结合，氢原子本身同时又与另一个电负性原子共价结合。在蛋白质中，一个肽键的羰基和另一个肽键的 N-H 的氢形成氢键。氢键距离 O...H 约 1.75 Å，键能约为 8~40 kJ/mol，其大小取决于参与氢键的电负性原子的性质和键角。在蛋白质肽链骨架中存在着大量的羰基和亚胺

## 食品生物化学

基团,氨基酸残基的侧链中又有许多带有极性的基团,这些基团中某些可以作为氢原子的供体,另一些则作为氢原子的接受体,彼此相互作用形成氢键(图5-11)。在具有 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠结构的肽键中,其N-H和羰基C=O之间形成氢键的数量最多。

业已证明,蛋白质分子中存在大量氢键,由于每一氢键均能降低蛋白质的自由能(约-18.8KJ/mol),因此通常可以这样假定,氢键的作用不仅是作为蛋白质形成折叠结构的驱动力,而且同时又对稳定蛋白质的天然结构起重要影响。但是研究证实,这并非一个可靠的观点,因为生物体内存在着大量的水,而水分子可以与蛋白质分子中的N-H和羰基C=O竞争发生氢键键合。因此,这些基团之间不能自发地形成氢键,而且N-H和羰基C=O之间形成的氢键也不可能作为蛋白质形成 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠的驱动力。事实上 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠结构中氢键的相互作用,是另外一些有益的相互作用驱动这些次级氢键结构形成的结果。氢键的稳定与环境的介电常数有关。蛋白质分子中氨基酸残基的庞大侧链可阻止水与N-H和羰基C=O接近形成氢键,致使非极性残基相互作用产生了有限的低介电常数环境,从而使蛋白质二级结构的氢键得以稳定。

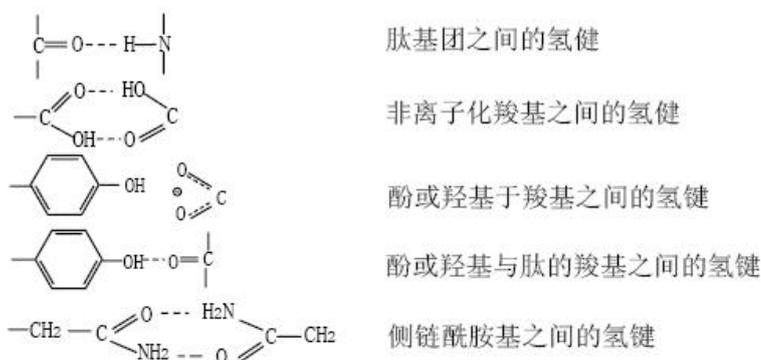


图5-11 蛋白质形成氢键的基团

### 5. 疏水相互作用

从上面的论述可以清楚的了解到,在水溶液中多肽链上的各种极性基团之间的静电相互作用和形成氢键,是不具有足够的能量驱动蛋白质折叠。蛋白质分子中的这些极性基团的相互作用是非常不稳定的,它们很容易和水作用,或是形成氢键,或是融合于水环境中。欲使其稳定就必须维持一个非极性环境。因此,在非极性基团间的这种疏水相互作用才是导致蛋白质折叠的主要驱动力。

在水溶液中,具有非极性侧链的氨基酸残基,不表现出和水或其他极性基团相互作用的能力和倾向。它们在水溶液中,与在非极性环境中相比,在热力学上显然是不利的。因为当非极性基团溶于水,自由能的变化( $\Delta G$ )是正值,体积变化( $\Delta V$ )和焓( $\Delta H$ )为负值。尽管 $\Delta H$ 是负的,根据 $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ ,则 $\Delta S$ 应是一个大的负值才能使 $\Delta G$ 为正值。可见一个非极性基团溶于水,熵减小( $\Delta S$ 为负值),这是一个热力学上不利的过程。由于熵减小引起了水在非极性基团周围形成笼形结构。 $\Delta G$ 为正值极大的限制了水同非极性基团间的相互作用,因此,非极性基团在水溶液中倾向于聚集,使它们直接与水的接触面积降到最小(参见第二章),同时,将非极性侧链周围多少有些规则的水分子变成可自由运动的游离的水分子,这样一个过程的自由能改变使 $\Delta G < 0$ 。在水溶液中,这种由于水的结构引起的非极性基团相互作用称之为疏水相互作用。

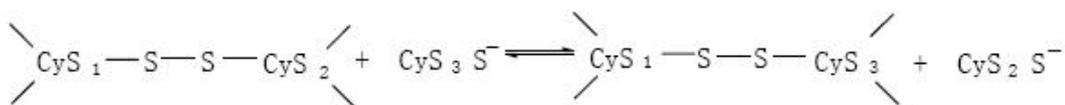
非极性基团的疏水相互作用,实际上是非极性基团溶于水的逆过程, $\Delta G < 0$ ,而 $\Delta H$ 和 $\Delta S$ 为

## 食品生物化学

正值。因此，疏水相互作用的本质是一种熵驱动的自发过程。与其他共价键相互作用不同，疏水相互作用是一个吸热过程，在高温下作用很强，低温下较弱。而且非极性残基侧链的聚集所产生的能量变化，比上述几种分子间的相互作用大得多。为此，疏水相互作用对于稳定蛋白质主体结构是非常重要的。在蛋白质二级结构的形成中，疏水相互作用不是至关重要的，但是在蛋白质三级结构的形成和稳定中，疏水作用是位于诸多因素的首位。

### 6. 二硫键

半胱氨酸残基侧链之间的共价交联可形成二硫键，它不但限制可能呈现的蛋白质结构数目，维持蛋白质结构的完整性，而且还有利于所形成的结构保持稳定。因此，对于大多数蛋白质，特别是在引起不可逆变性的条件下（极端 pH 或高温），凡每 100 个氨基酸中具有 5~7 个二硫交联键组成的蛋白质分子特别稳定。某些蛋白质含有半胱氨酸和胱氨酸残基，能够发生硫醇—二硫化物交换反应，这些反应可以在分子内或分子间发生。



二硫键也有不同的构型，因此形成二硫键的两个半胱氨酸残基所在的肽段的相对构象，也可因二硫键的构型不同而改变。这从另一个方面突出了二硫键在蛋白质结构中的重要性。有利于稳定多肽链的二级结构和三级结构的各种相互作用在图 5-12 中说明。

### 7. 配位键

一些蛋白质中除了肽链以外还含有一些金属，在分类上可称为金属蛋白。在蛋白质中已发现的金属有 Fe、Ca、Zn、Cu、Mn、Mo 等等。这是因为组成蛋白质的氨基酸中，可参与氢键的很多基团都能和一些金属形成配位键，例如色氨酸，丝氨酸以及一些酸性氨基酸残基的侧链。已知这些金属离子-蛋白质的相互作用有利于蛋白质四级结构的稳定。蛋白质—Ca<sup>2+</sup>-蛋白质一型的静电相互作用对维持酪蛋白胶束的稳定性起着重要作用。在某些情况下，金属-蛋白质复合物还可能产生生物活性，使它们具有一定的功能，像铁的运载或酶活性。通常，金属离子在蛋白质分子一定的位点上结合，过渡金属离子（Cr、Mn、Fe、Cu、Zn、Hg 等）可同时通过部分离子键与几种氨基酸的咪唑基和巯基结合。

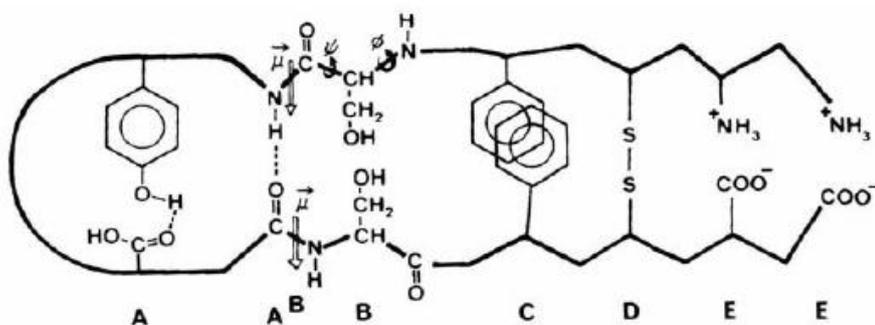


图 5—12 决定蛋白质二级、三级结构的键和相互作用

A 氢键；B 偶极相互作用；C 疏水相互作用；

D 二硫键；E 离子相互作用

# 食品生物化学

## 五、蛋白质分子构象研究进展

第一阶段：1959 年以前

1951 年鲍林 Pauling 和 Gorey 提出蛋白质立体化学原理和 $\alpha$ -螺旋模型，从而奠定了蛋白质空间结构研究理论基础。

第二阶段：1959 年以后 Kendrew 采用 X-射线结构分析法，揭示了肌红蛋白的二、三级结构，首次证实了 $\alpha$ -螺旋在蛋白质中存在。分析方法的应用：中子衍射、二维核磁共振法、圆二色法、激光拉曼光谱法等

### 蛋白质分子结构

#### 1. 蛋白质分子一级结构

##### (1) 概念

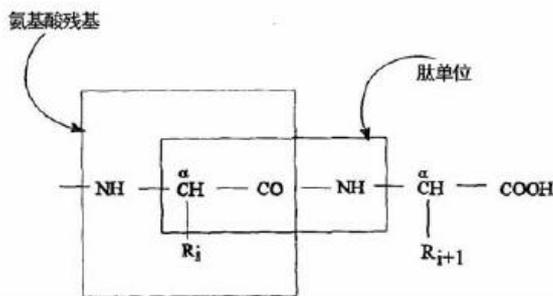
蛋白质的一级结构有时也称蛋白质的共价结构，一般而言，蛋白质的一级结构是指构成蛋白质肽链的氨基酸残基的线性排列顺序，有时也称为残基的序列。这一定义对只含氨基酸的简单蛋白质适用。但是在生物体内还有很多复合蛋白，它们除包含氨基酸外，还有其他的组成。对复合蛋白，完整的一级结构概念应该包括肽链以外的其他成分（例如糖蛋白上的糖链，脂蛋白中的脂质部分等）以及这些非肽链部分的连接方式和位点。蛋白质的一级结构是一个无空间概念的一维结构。

20~100（肠促胰液肽和胰高血糖素）

多数含 100~500 氨基酸残基

某些含几千个氨基酸残基

##### (2) 肽键的结构



##### (3) 肽单位特征

肽键不同于 C-N 单键和 C=N 双键；肽键具有部分单键性质；肽键有双键性质不能自由旋转；

肽键键长 0.132nm，比 C-N 单键（ $sp^3$  杂化，键长 0.147nm）短，比 C=N 双键（ $sp^2$  杂化，键长 0.127）长，由此可见肽键有双键性质不能自由旋转。

肽单位是刚性平面结构

肽平面上的 6 个原子都位于同一个平面。

两面角（dihedral angle）： $\Phi, \Psi$



# 食品生物化学

一对两面角 ( $\Phi$ ,  $\Psi$ ) 决定了相邻两个肽单位的相对位置。  
肽单位平面有一定的键长和键角。

## 2. 蛋白质分子的二级结构

### (1) 概念

是指由多肽链上主链骨架中各个肽段所形成的规则或无规则的空间排布 (构象)。

### (2) 二级结构类型

- 螺旋结构
- $\beta$ -折叠股和 $\beta$ -折叠片
- 回折 $\beta$ -发夹和 $\Omega$ 环
- 三股螺旋无规卷曲

### (3) 螺旋结构 Helical structure

是指多肽链主链骨架围绕一个轴一圈一圈地上升, 从而形成一个螺旋式的构象。

在一段连续的肽单位中, 如果所有的 $\alpha$ -碳原子其成对的二面角 ( $\Phi$ ,  $\Psi$ ) 都分别取相同的值, 这一段连续的肽单位的构象一般是螺旋构象。

### (4) 螺旋结构的种类 The classification of helices

按每一圈 AA 残基数分	整数螺旋按
	非整螺旋
按螺旋旋转方向分	右手螺旋
	左手螺旋
按氢键形成方式分	$\alpha$ -系螺旋
	$\gamma$ -系螺旋

#### $\alpha$ -螺旋特征:

- 每一圈包含 3.6 个残基,
- 螺距 0.54nm, 螺旋上升时, 每个残基延螺旋旋转  $100^\circ$
- 残基高 0.15nm, 螺距半径 0.23nm;
- 每一个 $\phi$ 角为 $-57^\circ$ , 每一个 $\psi$ 角为 $-47^\circ$ ;
- 相邻螺旋之间形成链内氢键;
- 氢键的取向与螺轴几乎平行。

#### 侧链 R 对 $\alpha$ -螺旋的影响:

在多肽链上, 连续存在带相同电荷极性基团的 AA 残基 (Asp, Glu, Lys), 则 $\alpha$ -螺旋不稳

定。如果这些残基分散存在, 就不影响 $\alpha$ -螺旋构象的稳定性。

当 Gly 残基在多肽链上连续存在时, 则 $\alpha$ -螺旋不能形成。

Pro 残基和羟脯氨酸残基存在时, 则不能形成 $\alpha$ -螺旋结构。

#### $3_{10}$ 螺旋:

- 每一圈含有三个氨基酸残基;
- 残基高度为 0.2nm, 螺旋半径为 0.19nm;
- $\phi=-49$ ,  $\psi=-26$  不稳定。

#### $\beta$ -折叠:

$\beta$ -折叠是肽链或肽段的一种相当伸展的结构。

# 食品生物化学

靠氢键维系而；

两条以上的肽链或一条肽链内两个以上的肽段共同参与；

平行排列；

避免相邻侧链之间的空间障碍；

在 $\beta$ -折叠的构象中，若干条肽链或一条肽链的若干肽段平行排列，相邻主链骨架之间靠氢键来维系（ $C=O\dots H-N$ ）。

为了在主链骨架之间形成最多氢键，避免相邻侧链间的空间障碍，锯齿状的主链骨架必须做一定的折叠（ $\Phi=139^\circ, \Psi=135^\circ$ ）。

与原子相连的侧链 R 交替地位于片层的上方或下方，它们均与片层相垂直。

平行 $\beta$ -折叠：

肽链或肽段的排列方向相同，都是从氨基端到羧基端。

反平行 $\beta$ -折叠：

肽链或肽段按正反方向交替的方式排列，即肽链或肽段排列时，氨基端到羧基端的方向一顺一反。

纤维蛋白： $\beta$ -折叠平行型式存在， $\beta$ -折叠的形成是依靠不同肽链之间的氢键。

球蛋白：平行和反平行近乎相等， $\beta$ -折叠的形成即可靠不同肽链之间的氢键，以依靠同一肽链的不同部分之间的氢键。

$\beta$ -转角：

在蛋白质分子中，肽链经常出现  $180^\circ$  的回折，回折部分就是 $\beta$ -转角（ $\beta$ -回转、 $\beta$ -弯曲、回折结构、发夹结构或 U 型转折）。用二面角 ( $\Phi_2\Psi_2, \Phi_3\Psi_3$ ) 表示  $\beta$ -转角 I 型  $\beta$ -转角 ( $-60^\circ, -30^\circ, -90^\circ, 0^\circ$ ) II 型  $\beta$ -转角 ( $-60^\circ, 120^\circ, 80^\circ, 0^\circ$ )

在 I 型 $\beta$ -转角中，中间肽平面的  $C=O$  基氧原子与相邻两个残基的侧链(图中的  $R_2$  和  $R_3$ ) 呈反式位置；而 II 型 $\beta$ -转角中，它们都在同一侧。只有第三个残基为甘氨酸即  $R_3$  为氢原子 II 型才能存在。

超二级结构

是指二级结构的基本单位相互聚集，形成有规律的二级结构的聚集体。

超二级结构是介于二级结构与结构域之间的结构层次，并充当三级结构的基本构件。如 $\alpha\alpha$ ,  $\beta\beta\beta$ ,  $\beta\alpha\beta$ 。

无规则卷曲构象的结构规则：

(1) 不同氨基酸残基的成对二面角存在于典型构象图的不同点上，因此产生许多不同的构象。

(2) 对外界理化因素的变化极为敏感。

(3) 在球状蛋白中，无规则卷曲的存在是蛋白质倾向于形成球状结构

胶原三股螺旋：

由三条肽链组成的三股螺旋。每条肽链形成一股左手螺旋，

三股左手螺旋绞合在一起形成一个右手的三股超螺旋，胶原三股螺旋结构实际上是一种

# 食品生物化学

三股超螺旋结构。没有 $\alpha$ -螺旋， $\beta$ -转角。

## 结构域

二级结构和超二级结构单元紧密相连，折叠成两个或多个在空间上可以明显区分的三级折叠区域（通常为球状），如动物的免疫球蛋白 G(Ig G)含有 12 个结构域。

与蛋白质亚基的区别：蛋白质分子间的结构域以共价键连接。

残基：40~400 个（100~200 常见）。许多酶活性中心位于结构域之间的裂隙中。

蛋白质分子的二级结构与一级结构的关系：

蛋白质的一级结构决定空间结构。

多肽链的二级结构是由蛋白质氨基酸顺序决定的，也可以说，可种氨基酸残基在形成二级结构时具有不同的倾向或能力。

从 氨基酸残基顺序推测蛋白质二级结构区段。

处于折叠状态的蛋白质其空间结构是有多肽氨基酸序列所决定的。

## 3. 三级结构

指含 $\alpha$ 螺旋、 $\beta$ 弯曲和 $\beta$ 折叠或无规卷曲等二级结构的蛋白质，其线性多肽链进一步折叠成为紧密结构时的三维空间排列。

单链蛋白质：三级结构就是分子本身的特征立体结构。

多链蛋白质：三级结构是各组成链（亚基）的主链和侧链的空间排布。

### 特征：

在球状蛋白质分子中，一条多肽链往往是通过一部分 $\alpha$ -螺旋、一部分 $\beta$ -折叠、一部分 $\beta$ -转角和一部分无规则卷曲形成紧密的球状构象。

在球状蛋白质分子中，大多数非极性侧链总是埋在分子的内部，形成疏水核；而大多数极性侧链总是暴露在分子的表面上，形成一亲水区。极性基团的种类、数目与排布决定了蛋白质的功能。

在蛋白质分子的表面，往往有一个内陷的空穴(裂隙、凹槽、袋)。此空穴往往是疏水区，能够容纳一个或两个小分子配体，或大分子配体的一部分。

## 4. 蛋白质分子的四级结构

### The quaternary structure of protein

许多球蛋白都是以单位为功能单位的，但是在生命体系中许多复合蛋白以集合体形式在发挥作用，如多亚基蛋白、多酶复合体、核蛋白体，病毒外壳等。这些球蛋白通过非共价键彼此缔合在一起，这些聚集体就称为蛋白质的四级结构。

蛋白质分子由两条或两条以上各自独立的具有三级结构的多肽组成，这些多肽链之间通过次级键相互缔合而形成的有序排列的空间结构，称为蛋白质四级结构。

蛋白质亚基：是一条多肽链。

寡聚蛋白质：由少数亚基聚合而成的蛋白质

多聚蛋白质：由几十个，甚至上千个亚基聚合而成的蛋白质。

四级结构的狭义定义：是指寡聚蛋白质中的种类、数目、空间排布以及亚基之间的相互作用。

**四级结构的广义定义：由相同或不同球蛋白分子所构成的聚合体。**

# 食品生物化学

## 蛋白质的变性

### 1. 天然蛋白质的概念

#### The concept of natural protein

在体内条件下，具有呈现全部生物功能所需要的精确构象的蛋白质变性的现象。

### 2. 蛋白质变性的概念

#### The concept of protein denaturation

蛋白质变性定义：由于外界因素的作用，使天然蛋白质分子的构象发生了异常变化，从而

导致生物活性的丧失以及物理、化学性质的异常变化，不包括一级结构上肽键的断裂。

蛋白质变性本质：蛋白质分子次级键的破坏引起的二级、三级、四级结构的变化。

变性后的蛋白质称为变性蛋白质。

蛋白质变性对其结构和功能的影响：

由于疏水基团暴露在分子表面，引起溶解度降低。

改变对水结合的能力。

失去生物活性（例如酶或免疫活性）。

由于肽键的暴露，容易受到蛋白酶的 attack，使之增加了蛋白质对酶水解的敏感性。

特征粘度增大。

不能结晶。

### 3. 变性的热力学

蛋白质变性是生理条件下形成的折叠结构转变为非生理条件下的伸展结构的现象。

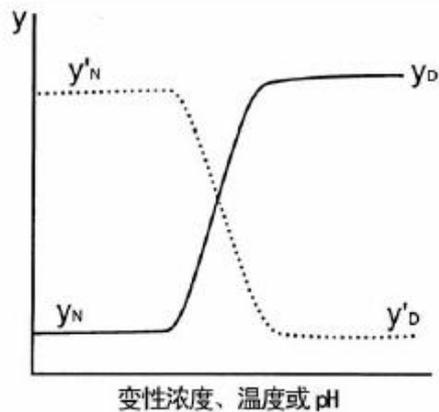


图 5—14 典型的蛋白质变性曲线

$y$  是与蛋白质变性有关的蛋白质分子的任何物理化学性质； $Y_N$  和  $Y_D$  是天然和变性蛋白质的  $y$  值天然蛋白质 (PN) 变性蛋白质 (PD)

平衡常数( $k_D$ )可以写成:

热力学参数 $\Delta G^0$ 、 $\Delta H_D$ 、 $\Delta S_D$ 和 $\Delta C_D^0$ :

# 食品生物化学

$$\frac{\delta(\ln k_D)}{\delta(T)} = \frac{\Delta H_D}{RT^2}$$

$$\Delta H_D = -R \frac{\delta \ln k_D}{\delta(1/T)}$$

$\Delta G_0$  是标准自由能变化（即等摩尔反应物中天然蛋白质体系的自由能与变化后平衡时，同一体系的自由能之差），

R 表示气体常数，

T 表示绝对温度，

$\Delta H$  是恒压下焓的变化，

$\Delta S_0$  是熵变，

$\Delta C_p^0$  表示恒压下热容的变化。

$\Delta C_p^0$  值大，表明  $\Delta H_D$  和  $\Delta S_D$  主要取决于温度，核糖核酸酶、胰凝乳蛋白酶原和肌红蛋白的  $\Delta H_D$  和  $\Delta S_D$  是正值， $\Delta G_0$  值相对较小。核糖核酸酶因伸展而焓增大，表明天然状态比变性状态的自由能低，熵增大相当于伴随伸展的无序状态。在变性时， $\Delta C_p^0$  增大与脂肪族、芳香族非极性基团向水溶液中转移以及缔合水的结构被破坏有关。

蛋白质变性的热力学参数

表 5-11 蛋白质变性的热力学参数

蛋白质和变性条件	最大稳定性温度 (°C)	$\Delta G^0$ (KJ/mol)	$\Delta H^0$ (KJ/mol)	$\Delta S^0$ (KJ/mol)	°C	$\Delta C_p^0$ (KJ/mol)	°C
核糖核酸酶							
伸展 (30°C)							
PH1.13		-4.6	251	836		8.7	
PH2.5	-9	3.8	238	773		8.3	
PH3.15		12.9	222	690		3	
胰凝乳蛋白酶原 (25°C)							
PH3	10						
肌红蛋白 (25°C)		30.5	163	439		10.9	
PH9	<0						
$\beta$ 乳球蛋白 (25°C)		56.8	176	397		5.9	
PH3.5mol/ml							
尿酸	35						
		2.5	-88	-301		9	

## 4. 蛋白质变性现象

The phenomena of protein denaturation



# 食品生物化学

## 物理性质的改变

凝集、沉淀

流动双折射

粘度增加

旋光值改变

紫外、荧光光谱发生变化

## 化学性质的改变

酶水解速度增加

分子内部基团暴露

## 生物性能的改变

抗原性改变

生物功能丧失

## 5. 可逆变性

### Conformational adaptability of protein

除去变性因素之后，在适当的条件下蛋白质构象可以由变性态恢复到天然态。

如：核糖核酸酶用 8mol/L 的尿素和 $\beta$ -巯基乙醇作用时，由于分子中的二硫键被还原，酶的空间结构也随之破坏，酶即变性失活。但是，用透析法除去这些试剂后，变性的酶蛋白质就自动氧化恢复原来的空间结构，酶的活性也随之恢复。

## 6. 不可逆变性

### The protein denaturation

除去变性因素之后，在适当的条件下蛋白质构象由变性态不能恢复到天然态。

如：鸡蛋，大豆蛋白质。

## 7. 蛋白质变性测定方法

### The methods of determination on protein denaturation

测定蛋白质的比活性

以天然蛋白质作对照，测定蛋白质物理性质的变化。

测定蛋白质化学性质的变化

观察蛋白质的溶解度变化

测定蛋白质的抗原性是否改变

## 8. 影响蛋白质变性的因素

物理因素

### 1) 热变性

伴随热变性，蛋白质的伸展程度相当大。例如，天然血清清蛋白分子是椭圆形的，长、宽比为 3: 1，经过热变性后变为 5: 5。

变性速率取决于温度，当温度上升 10℃，速率可增加 600 倍左右。

热变性的敏感性取决于多种因素：蛋白质的性质、蛋白质浓度、水活性、pH、离子强度和离子种类等。

蛋白质在有水存在时易变性。

# 食品生物化学

热变性产生的其他影响：

二硫键的断裂有时会释放出硫化氢。

丝氨酸脱水，或谷氨酰胺和天冬酰胺的脱氨反应。

在分子内或分子间形成新的共价交联键，如 $\gamma$ -谷氨酰基- $\epsilon$ -N-赖氨酸。

熔化温度  $T_m$  或变性温度  $T_d$ ：

蛋白质溶液在逐渐加热到临界温度以上时，蛋白质的构象从天然状态到变性状态有一个显著地转变，这个转变的中点温度称为熔化温度  $T_m$  或变性温度  $T_d$ 。

此时天然状态与变性状态浓度比为 1。

温度引起蛋白质变性的机制：

非共价键相互作用的去稳作用放热反应；疏水相互作用；吸热反应。

蛋白质的最适稳定温度，是使蛋白质具有最低自由能。在蛋白质分子中极性相互作用超过非极性相互作用时，则蛋白质在冻结温度或低于冻结温度比在较高温度时稳定。

下图是一些实际例子。

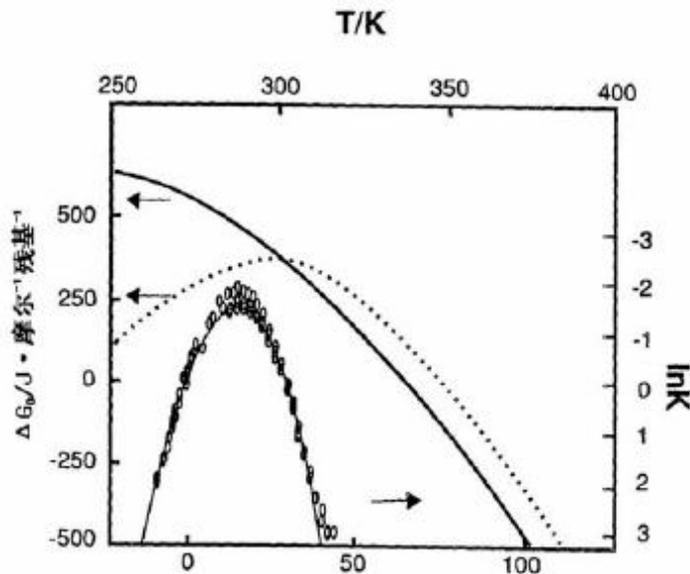


图 5-16 蛋白质稳定性 ( $\Delta G^\circ$ ) 与温度的关系

肌红蛋白 (···)      核糖核酸酶 (—)

T<sub>2</sub>噬菌体突变株溶菌酶 (○)

氨基酸的组成对蛋白质的热稳定性影响：

含有较多疏水氨基酸残基（尤其是缬氨酸，异亮氨酸、亮氨酸和苯丙氨酸）的蛋白质，对热的稳定性高于亲水性较强的蛋白质。

天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、色氨酸和酪氨酸的残基百分数与热变性温度呈正相关 ( $r=0.98$ )。

丙氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸等氨基酸的残基百分数则是与热变性温度呈负相关 ( $r=-0.975$ )。

其他氨基酸对蛋白质的  $T_d$  影响甚少。

# 食品生物化学

蛋白质的立体结构对热稳定性影响：

单体球状蛋白在大多数情况下热变性是可逆的，许多单体酶加热到变性温度以上，甚至在 100℃短时间保留，然后立即冷却至室温，它们也能完全恢复原有活性。而有的蛋白质在 90~100℃加热较长时间，则发生不可逆变性。

水对蛋白质的热变性的影响：

水能促进蛋白质的热变性。

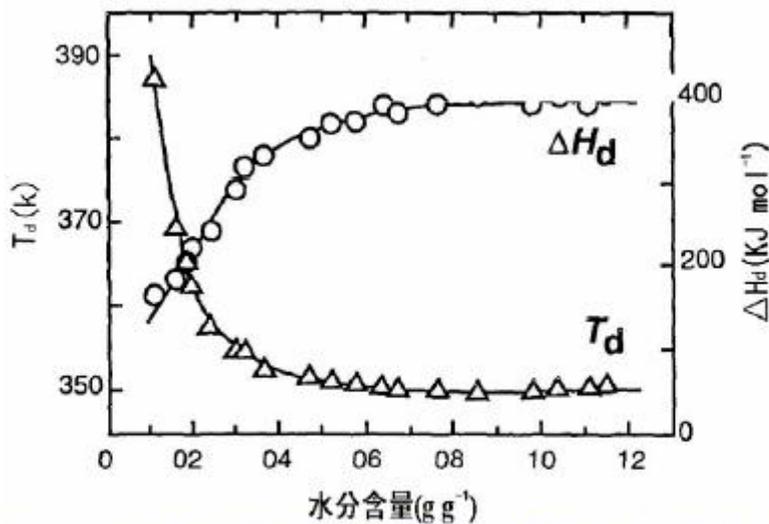


图 5-17 水分含量对卵清蛋白的变性温度下 $T_d$ 和变性热焓 $\Delta H_d$ 的影响

蛋白质水合作用对于热稳定性的影响，主要与蛋白质的动力学相关。在干燥状态，蛋白质具有一个静止的结构，多肽链序列的运动受到了限制。当向干燥蛋白质中添加水时，水渗透到蛋白质表面的不规则空隙或进入蛋白质的小毛细管，并发生水合作用，引起蛋白质溶胀。水的加入，增加了多肽链的淌度和分子的柔顺性，这时蛋白质分子处于动力学上更有利的熔融结构。当加热时，蛋白质的这种动力学柔顺性结构，相对于干燥状态，则可提供给水更多的几率接近盐桥和肽链的氢键，结果  $T_d$  降低。

## 2) 低温

某些蛋白质经过低温处理后发生可逆变性，例如有些酶（L-苏氨酸脱氨酶）在室温下比较稳定，而在 0℃时不稳定。

某些蛋白质（11S 大豆蛋白、麦醇溶蛋白、卵蛋白和乳蛋白）在低温或冷冻时发生聚集和沉淀。当温度回升至室温，可再次溶解。

## 3) 机械处理

揉捏、振动或搅打等高速机械剪切，都能引起蛋白质变性。

剪切速率愈高，蛋白质变性程度则愈大。同时受到高温和高剪切力处理的蛋白质，则发生不可逆变性。

## 4) 静液压

热力学原因造成的蛋白质构象改变。

不同于热变性，当压力很高时，一般在 25℃即能发生变性；而热变性需要在 0.1M Pa 压力

# 食品生物化学

下，温度为 40~80℃ 范围才能发生变性。

光学性质表明大多数蛋白质在 100~1200MPa 压力范围作用下才会产生变性。

蛋白质的柔顺性和可压缩性是压力诱导蛋白质变性的主要原因。

静液压不易引起纤维状结构的蛋白质变性。

球状蛋白质因压力作用产生变性原因：蛋白质伸展而使空隙不复存在；非极性氨基酸残基因蛋白质的伸展而暴露，并产生水合作用。

压力引起的蛋白质变性是高度可逆的。比如酶。

## 5) 辐射

因波长和能量大小而异。

紫外辐射可被芳香族氨基酸残基(色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸)所吸收，导致蛋白质构象的改变，如果能量水平很高，还可使二硫交联键断裂。

$\gamma$ 辐射和其他电离辐射能改变蛋白质的构象，同时还会氧化氨基酸残基、使共价键断裂、离子化、形成蛋白质自由基、重组、聚合，这些反应大多通过水的辐解作用传递。

## 6) 界面

在水和空气，水和非水溶液或固相等界面吸附的蛋白质分子，一般发生不可逆变性。

蛋白质大分子向界面扩散并开始变性，在这一过程中，蛋白质可能与界面高能水分子相互作用，许多蛋白质-蛋白质之间的氢键将同时遭到破坏，使结构发生“微伸展”。由于许多疏水基团和水相接触，使部分伸展的蛋白质被水化和活化，处于不稳定状态。蛋白质在界面进一步伸展和扩展，亲水和疏水残基力图分别在水相和非水相中取向，因此界面吸附引起蛋白质变性，某些主要靠二硫交联键稳定其结构的蛋白质不易被界面吸附。

## (2) 化学因素

### 1) pH

蛋白质所处介质的 pH 对变性过程有很大的影响，蛋白质在等电点时最稳定，表 5-13 为几种蛋白质的等电点，在中性 pH 环境中，除少数几个蛋白质带有正电荷外，大多数蛋白质都带有负电荷。

表 5-13 几种蛋白质的等电点 (PI)

蛋白质	等电点	蛋白质	等电点
胃蛋白酶	1.0	血红蛋白	6.7
K-酪蛋白 B	4.1-4.5	$\alpha$ -糜蛋白酶	8.3
卵清蛋白	4.6	$\alpha$ -糜蛋白酶原	9.1
大豆球蛋白	4.6	核糖核酸酶	9.5
血清蛋白	4.7	细胞色素 c	10.7
$\beta$ -乳球蛋白	5.2	溶菌酶	11.0
$\beta$ -酪蛋白 A	5.3		

蛋白质分子在极端碱性 pH 环境下，比在极端酸性 pH 时更易伸长，因为碱性条件有利于部

分埋藏在蛋白质分子内的羧基，酚羟基，巯基离子化，结果使多肽链拆开，离子化基团自身暴

# 食品生物化学

露在水环境中。

pH 引起的变性大多数是可逆的，然而，在某些情况下，部分肽键水解，天冬酰胺、谷氨

酰胺脱酰胺，碱性条件下二硫键的破坏，或者聚集等都将引起蛋白质不可逆变性。

## 2) 金属

碱金属(例如  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$ )只能有限度地与蛋白质起作用，而  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  略微活泼些。过渡金属例如  $\text{Cu}$ 、 $\text{Fe}$ 、 $\text{Hg}$  和  $\text{Ag}$  等离子很容易与蛋白质发生作用，其中许多能与巯基形成稳定的复合物。

$\text{Ca}^{2+}$ (还有  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$ )可成为某些蛋白质分子或分子缔合物的组成部分。一般用透析法或

螯合剂可从蛋白质分子中除去金属离子，但这将明显降低这类蛋白质对热和蛋白酶的稳定性。

## 3) 有机溶剂

改变介质的介电常数，从而使保持蛋白质稳定的静电作用力发生变化。

非极性有机溶剂渗入疏水区，可破坏疏水相互作用，促使蛋白质变性，这类溶剂的变性行为也可能是因为它们和水产生相互作用引起的。

某些溶剂例如 2-氯乙醇，能增加 $\alpha$ -螺旋构象的数量，这种作用也可看成是一种变性方式(二级，三级和四级结构改变)，例如卵清蛋白在水溶液介质中有 31%的 $\alpha$ -螺旋，而在 2-氯乙醇中达到 85%。

## 4) 有机化合物水溶液

某些有机化合物例如尿素和盐酸胍的高浓度(4~8mol/L)水溶液能断裂氢键，从而使蛋白质发生不同程度的变性。同时，还可通过增大疏水氨基酸残基在水相中的溶解度，降低疏水相互作用。

尿素和盐酸胍引起的变性包括两种机制：

第一种机制是变性蛋白质能与尿素和盐酸胍优先结合，形成变性蛋白质-变性剂复合物，当复合物被除去，从而引起  $\text{N} \rightarrow \text{D}$  反应平衡向右移动。随着变性剂浓度的增加，天然状态的蛋

白质不断转变为复合物，最终导致蛋白质完全变性。

由于变性剂与变性蛋白的结合是非常弱的。因此，只有高浓度的变性剂才能引起蛋白质完全变性。

第二种机制是尿素与盐酸胍对疏水氨基酸残基的增溶作用。因为尿素和盐酸胍具有形成氢键的能力，当它们在高浓度时，可以破坏水的氢键结构，结果尿素和盐酸胍就成为非极性残基

的较好溶剂，使之蛋白质分子内部的疏水残基伸展和溶解性增加。

尿素和盐酸胍引起的变性通常是可逆的，但是，在某些情况下，由于一部分尿素可以转变为氰酸盐和氨，而蛋白质的氨基能够与氰酸盐反应改变了蛋白质的电荷分布。因此，尿素引起的蛋白质变性有时很难完全复性。

还原剂(半胱氨酸、抗坏血酸、 $\beta$ -巯基乙醇、二硫苏糖醇)可以还原二硫交联键，因而能改变蛋白质的构象。

## 5) 表面活性剂

表面活性剂例如十二烷基磺酸钠(SDS)是一种很强的变性剂。

# 食品生物化学

SDS 浓度在 3~8m mol/L 范围可引起大多数球状蛋白质变性。由于 SDS 可以在蛋白质的疏水和亲水环境之间起着乳化介质的介作用,且能优先与变性蛋白质强烈地结合,因此,破坏了蛋白质的疏水相互作用,促使天然蛋白质伸展,非极性基团暴露于水介质中,导致了天然与变性蛋白质之间的平衡移动。

不可逆变性,与尿素和盐酸胍引起的变性不一样。球状蛋白质经 SDS 变性后,呈现 $\alpha$ -螺旋棒状结构,而不是以无规卷曲状态存在。

## 6) 离液盐

### 易溶盐对蛋白质稳定性的影响:

a 在低盐浓度时,离子与蛋白质之间为非特异性静电相互作用。当盐的异种电荷离子中和了蛋白质的电荷时,有利于蛋白质的结构稳定,这种作用与盐的性质无关,只依赖于离子强度。一般离子强度 $\leq 0.2$  时即可完全中和蛋白质的电荷。

b 在较高浓度 ( $>1\text{mol/L}$ ), 盐具有特殊离子效应,影响蛋白质结构的稳定性。

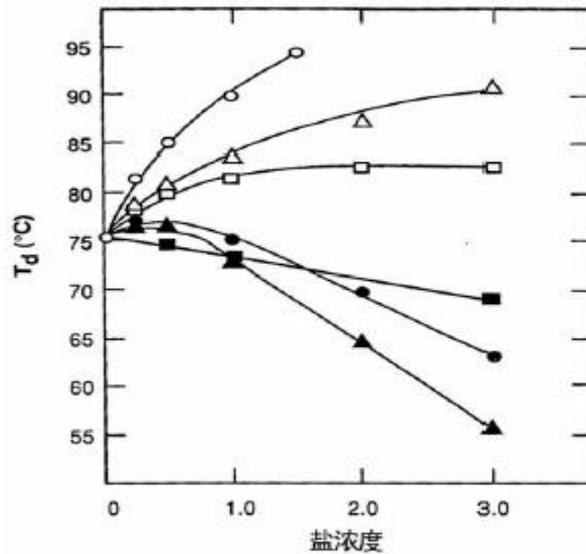


图 5-19 pH 7 时各种钠盐对  $\beta$ -乳球蛋白变性温度的影响

○ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、△ NaCl、□ NaBr、  
● NaClO<sub>4</sub>、▲ NaSCN、■ 尿素

各种阴离子在离子强度相同时,对蛋白质(包括 DNA)结构稳定性的影响顺序如下:

$\text{F}^- < \text{SO}_4^{2-} < \text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^- < \text{ClO}_4^- < \text{SCN}^- < \text{Cl}_3\text{CCOO}^-$ ,

这个顺序称为 Hofmeister 序列(感胶离子序)或离液序列(chaotropic series)。

顺序中左侧的离子能稳定蛋白质的天然构象;而右侧的离子则使蛋白质分子伸展、解离,为去稳定剂。

蛋白质功能性质

# 食品生物化学

## 1. 蛋白质的功能性质概念

### The concept of functional properties of proteins

在食品加工、保藏、制备和消费期间影响蛋白质在食品体系中的性能的那些蛋白质的物理和化学性质。

食品蛋白质的功能性质分为两大类：

- ①流体动力学性质：水吸收和保持、溶胀性、粘附性、粘度、沉淀、胶凝。通常与蛋白质的大小、形状和柔顺性有关。
- ②表面性质：与蛋白质的湿润性、分散性、溶解度、表面张力、乳化作用、蛋白质的起泡特性，以及脂肪和风味的结合等有关的性质。

## 2. 食品蛋白质在食品体系中的功能作用

### Functional roles of food proteins in food systems

表 5-2 食品蛋白质在食品体系中的功能作用

功能	食品	蛋白质类型
溶解性	饮料	乳清蛋白
粘度	汤、调味汁	明胶
持水性	香肠、蛋糕	肌肉蛋白，鸡蛋蛋白
胶凝作用	肉和奶酪	肌肉蛋白和乳蛋白
粘结-粘合	肉、香肠、面条	肌肉蛋白，鸡蛋蛋白
弹性	肉和面包	肌肉蛋白，谷物蛋白
乳化	香肠、蛋糕	肌肉蛋白，鸡蛋蛋白
泡沫	冰淇淋、蛋糕	肌肉蛋白，乳清蛋白
脂肪和风味的结合	油炸面圈	谷物蛋白

## 3. 蛋白质的水合性质

### Hydration properties of proteins

#### (1) 概念 Concept

蛋白质分子中带电基团、主链肽基团、Asn、Gln 的酰胺基、Ser、Thr 和非极性残基团与水分子相互结合的性质。

#### (2) 蛋白质结合水的能力

### The hydration capacities of proteins

当干蛋白质粉与相对湿度为 90%-95% 的水蒸汽达到平衡时每克蛋白质所结合的水的克数。



# 食品生物化学

## (3) 氨基酸残基的水合能力

### Hydration capacities of amino acid residues

---

氨基酸残基	水合能力/ (molH <sub>2</sub> O/mol 残基)
-------	------------------------------------

---

#### 极性氨基酸

Asn	2
Gln	2
Ser,The	3
Trp	2
Asp(非离子化)	2
Glu (非离子化)	2
Tyr	3
Arg (非离子化)	3
Lys (非离子化)	4

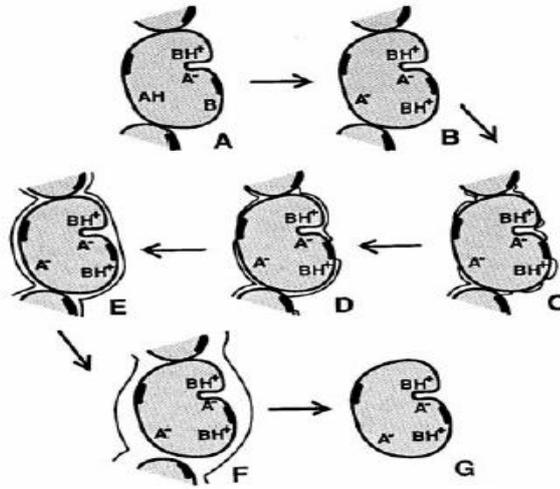
---

## (4)蛋白质水合过程

### The process involved in hydration of proteins



# 食品生物化学



A.未水合蛋白；B.带电基团的初始水合；C.在接近极性和带电部位形成水簇；D.在极性表面完成水合作用；E.非极性小区的水合形成单分子层覆盖；F.蛋白质-缔合水与体相水桥；G.完成流体动力学作用

## (5)各种蛋白质的水合能力

表 5-3 氨基酸残基的水合能力

氨基酸残基	水合能力/ (molH <sub>2</sub> O/mol 残基)
Asp	6
Glu	7
Tyr-	7
Arg+	3
His+	4
Lys+	4
非极性残基	
Ala	1
Gly	1
Phe	0
Val,Ile,Leu,Met	1

# 食品生物化学

## (6)影响蛋白质结合水的环境因素

### The factors affecting hydration capacities of protein

蛋白质浓度、pH、温度、时间、离子强度、盐的种类和体系中的其他成分等因素都影响蛋白质的构象，影响蛋白质-蛋白质和蛋白质-水之间的相互作用，这些相互关系决定着蛋白质的大多数功能性质。蛋白质的总吸水率随蛋白质浓度的增加而增加。

pH 值的变化影响蛋白质分子的解离和净电荷量，因而可改变蛋白质分子间的相互吸引力和排斥力，及其与水缔合的能力。在等电点 pH 时，蛋白质-蛋白质相互作用最强，蛋白质的水合作用的溶胀最小。例如，宰后僵直前的生牛肉（或牛肉匀浆）pH 从 6.5 下降至接近 5.0（等电点），其持水容量显著减少（图 5-23），并导致肉的汁液减少和嫩度降低。低于或高于蛋白质的等电点 pH 时，由于净电荷和排斥力的增加导致蛋白质溶胀并结合更多的水。在 pH9~10 时，许多蛋白质结合的水量均大于其他任何 pH 值的情况，这是由于疏水基和酪氨酸残基离子化的结果，当 pH>10 时赖氨酸残基的ε-氨基上的正电荷丢失，从而使蛋白质结合水的能力下降。

蛋白质结合水的能力一般随温度升高而降低，这是因为降低了氢键作用和离子基团结合水的能力，使蛋白质结合水的能力下降。蛋白质加热时发生变性和聚集，后者可以减少蛋白质的表面面积和极性氨基酸对水结合的有效性，因此，凡是变性后聚集的蛋白质结合水的能力因蛋白质之间相互作用而下降。另一方面，结合很紧密的蛋白质在加热时，发生解离和伸展，原来被遮掩的肽键和极性侧链暴露在表面，从而提高了极性侧链结合水的能力，一般变性蛋白质结合水的能力比天然蛋白质高约 1/10。例如乳清蛋白加热时可产生不可逆胶凝，如果将凝胶干燥，可增加不溶性蛋白质网络内的毛细管作用，因而使蛋白质的吸水能力显著增强。此外，干蛋白颗粒的大小、表面空隙和内空隙也同样影响吸水速率和吸水程度。必须指出，大多数蛋白质变性后在水中的溶解度降低。

离子的种类和浓度对蛋白质的吸水性、溶胀和溶解度也有很大影响。盐类和氨基酸侧链基团通常同水发生竞争性结合。在低盐浓度（<0.2mol/L）时，蛋白质的水合作用增强，这是由于盐离子与蛋白质分子的带电基团发生微弱结合的原因，但是这样低的浓度不会对蛋白质带电基团的水合壳层带来影响。实质上增加的结合水量是来自与蛋白质结合离子的缔合水。高盐浓度时，水和盐之间的相互作用超过水和蛋白质之间的相互作用，因而可引起蛋白质“脱水。”

## 4. 溶解度

### Solubility of protein

蛋白质的许多功能特性都与蛋白质的溶解度有关，特别是增稠、起泡、乳化和胶凝作用。目前不溶性蛋白质在食品中的应用非常有限。

溶解度特性数据不但对于确定天然资源中蛋白质分离提纯的最适条件很有用，而且也为蛋白质的应用可能性提供了一项重要指标。因为不溶性程度，是评价蛋白质变性和聚集作用



# 食品生物化学

最实用的标准，蛋白质在处于最初变性和部分聚集状态时，常常会损害胶凝和乳化作用及形成泡沫的能力。此外，溶解度也是评价蛋白质饮料的一个主要特性。

蛋白质在中性或等电点 pH 值时的溶解性通常是在制备和加工一种蛋白质过程中必须首先测定的功能性质。这类试验的目的是测定氮溶解指数 (NSI) 和找出溶解度同 pH、离子强度或热处理的关系。

Bigelow 认为，蛋白质的溶解度与氨基酸残基的平均疏水性 ( $\Delta G_0 = \Sigma \Delta G_0' / n$ ) 和电荷频率 [ $\sigma = (n^+ + n^-) / n$ ] 有关，平均疏水性愈小和电荷频率愈大，蛋白质的溶解度愈大。

蛋白质溶解性评价方法：

WSP：水溶性蛋白质

WDP：水可分散蛋白质

PDI：蛋白质分散性指标

NSI：氮溶解指数

## (1) pH 和溶解度

蛋白质溶解度与 pH (0.2mol/L NaCl 溶液) 的函数关系

## (2) 离子强度和溶解度

盐溶效应 (Salting in effect)

盐析效应 (Salting out effect)

离子强度对蛋白质溶解度的影响可表示为：

在低盐浓度时： $\log S = K_s \mu$

在高盐浓度时： $\log S = -K_s \mu + \log S_0$  或  $\log(S/S_0) = \beta - K C_s$

式中：

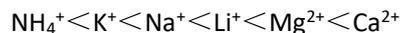
$S_0$  是离子强度为零时的溶解度，

$\mu$  为离子强度，

$C_s$  为盐的摩尔浓度，

$\beta$  为常数， $K_s$  为盐析常数

在相同  $\mu$  值时，各种离子对蛋白质溶解度的影响遵从感胶离子序 (Hofmeister 系列)，阴离子提高蛋白质的溶解度的排列顺序如下： $SO_4^{2-} < F^- < CH_3COO^- < Cl^- < Br^- < NO_3^- < I^- < ClO_4^- < SCN^-$  阳离子降低蛋白质溶解度的顺序：



## (3) 温度和溶解度

0℃ 到 40~50℃，溶解度随温度上升而增加

>40~50℃ 时，溶解度随温度上升减小

## 5. 蛋白质的界面性质

### Interfacial properties of proteins

#### (1) 概念

是指蛋白质能自发地适移至汽-水界面或油-水界面的性质。

#### (2) 具有界面性质的蛋白质必要条件

能否快速地吸附至界面

能否快速地展开并在界上面再定向

能否形成经受热和机械运动的膜

#### (4) 乳化性质 Emulsifying Properties



# 食品生物化学

测定乳化性质的方法：

液滴大小分布

乳化活力

乳化能力

乳化稳定性

测定乳状液滴大小方法：

光学显微镜法

电子显微镜法

光散射法

Counter 计数器

①乳化能力是指在乳状液相转变前每克蛋白质所能乳化的油的体积。

②乳状液稳定性

影响蛋白质乳化作用的因素

蛋白质的溶解度

pH=PI 溶解度减少时，降低其乳化作用

pH>PI 溶解度增加，增加其他乳化作用

血清清蛋白、明胶、蛋清蛋白在 pH=PI，具有较高的溶解度，此时，乳化作用增加与蛋白质表面疏水性存在正相关。

适当热诱导蛋白质变性，可增强其乳化作用。

(5)起泡性 Foaming properties

①蛋白质的起泡性质

是指它汽-液界面形成坚韧的薄膜使大量气泡并入和稳定的能力。

②蛋白质的起泡力

是指蛋白质能产生的界面面积的量。

$$\text{膨胀率} = \frac{\text{泡沫体积} - \text{起始液体的体积}}{\text{起始的体积}} \times 100\%$$

$$\text{膨胀力} = \frac{\text{并入气体的体积}}{\text{液体的体积}} \times 100\%$$



# 食品生物化学

蛋白质 起泡力

牛血清清蛋白	280
乳清分离蛋白	600
鸡蛋蛋清	240
卵清蛋白	40
牛血浆	260
$\beta$ -乳球蛋白	480
血纤维蛋白原	360
大豆蛋白（酶水解）	500
明胶（酸法加工猪皮明胶）	760

④蛋白质作为起泡剂的必要条件  
必须快速地吸附至气---水界面  
必须易在界面上展开和重排  
必须在界面上形成一层粘合性膜

⑤蛋白质分子的性质与起泡性的关系

溶解度	快速扩散直界面
疏水性（或两亲性） 分子（或链段）的柔性 具有相互作用活性的链段 带电基团的配置 极性基团的配置	带电、极性和非极性残基的分布促进界面相互作用 推进在界面上展开 具体不同功能链端的配置促进在气、水和界面相的相互作用 在邻近气泡之间的电荷排斥 防止气泡和紧密靠近：水合作用、渗透和空间效应（受此性质和蛋白质膜的成分的影响）

⑥影响蛋白质起泡性质的环境因素

pH  
盐  
糖  
脂



# 食品生物化学

蛋白质浓度

温度

## 6. 与风味物质结合

### (1) 蛋白质与风味之间的相互作用

干蛋白粉:

范德华力

氢键

蛋白粉空隙

物理截留

共价键

静电力

液态或高水分食品中蛋白质:

非极性配位体与蛋白质表面的疏水性小区相互作用

通过氢键相互作用

静电相互作用

醛类化合物通过共价键结合至赖氨酸残基上

### (2) 影响蛋白质与风味结合的因素

水

温度

盐

pH

化学改性

## 7. 粘度

蛋白质溶液流体特征:

假塑性流体

### (1) 蛋白质切变稀释的原因

分子朝着流动方向逐渐取向, 使磨擦阻力减少。

蛋白质的水合范围沿着流动方向形变。

氢键和其他键的断裂导致蛋白质聚集体或网络结构的解离。

### (2) 影响蛋白质流体粘度特性因素

蛋白质被分散的分子或颗粒的表观直径。

蛋白质---溶剂的相互作用。

蛋白质---蛋白质相互作用。

## 8. 凝胶化作用 Gelation

### (1) 凝胶化作用概念

将发生变性的无规则聚集反应和蛋白质-蛋白质的相互作用大于蛋白质-溶剂的相互作用引起的聚集反应。是指变性的蛋白质分子聚集并形成有序的蛋白质网络结构过程。

### (2) 凝胶化作用机制

溶胶状态-----似凝胶状态-----有序的网络结构状态



# 食品生物化学

## (3)凝胶化的相互作用

- 氢键
- 疏水相互作用
- 静电相互作用
- 金属离子的交联相互作用
- 二硫键

## (4)影响蛋白质凝胶化作用的因素

- 溶液的 pH
- 蛋白质的浓度
- 金属离子

## (5)蛋白质凝胶化作用在食品加工中的应用

- 果冻
- 豆腐
- 香肠
- 重组肉制品

## 9.组织化(Texturization)

### (1) 概念:

#### 蛋白质的组织化

是使可溶性植物蛋白或乳蛋白形成具咀嚼性和良好持水性的薄膜或纤维状产品，且在以后的水合或加热处理中能保持良好的性能。

组织化的蛋白质可以作为肉的代用品或替代物，还可以用于对动物蛋白进行重组组织化(例如对牛肉或禽肉的重整加工)。

### (2) 常见的蛋白质组织化方法:

#### 1) 热凝固和薄膜形成

大豆蛋白的浓溶液在平滑的金属表面热凝结，生成水合蛋白薄膜，或将其在 95℃加热数小时，此时由于水分蒸发和热凝结也能在表面形成一层薄的蛋白膜，腐竹就是采用上述方法加工而成的。

#### 2) 热塑性挤压:

植物蛋白通过热塑性挤压得到干燥的纤维多孔状颗粒或小块，复水后咀嚼性好。

热塑性挤压的方法：将含水 10~30%的蛋白质-多糖的混合物通过一个圆筒，在高压、高温和强剪切的作用下转化为粘稠状物，然后迅速通过圆筒而进入常压环境，水分迅速蒸发后冷却就形成了高度膨胀、干燥的多孔结构。它在 60℃可以吸收 2~4 倍的水，变为纤维状海绵和具有口嚼性的弹性结构，并在杀菌条件下稳定。

应用：肉丸、汉堡包的肉糜、肉的替代物、填充物等，还可以用于血液、鱼肉及其它农副产品的组织化。

#### 3) 纤维的形成:

PH>10，高浓度的蛋白溶液通过静电斥力而分子离解并充分伸展。

将溶液在高压下通过一个有许多小孔的喷头，此时伸展的蛋白分子沿流出方向定向排列

# 食品生物化学

成行并延长；液体从喷头出来进入 NaCl 的酸性溶液中，由于等电点的盐析效应，使蛋白质发生凝结，并通过氢键、离子键、二硫键等形成水合蛋白纤维；再通过滚筒转动拉直蛋白纤维，增加纤维的机械阻力和嚼嚼性，降低持水容量；通过滚筒加热除去部分水分，提高蛋白的粘着力和韧性；然后加入色素、脂肪、风味物质等形成纤维束；经粘合、切割、压缩等工序制成人造肉或加工食品。

## 10. 面团的形成(Dough formation)

### (1) 面团的形成：

小麦胚乳中面筋蛋白质在有水存在下室温混和、揉捏能够形成强内聚力和粘弹性糊状物。

这是小麦面粉转化为面包面团，并经发酵烘烤形成面包的基础。小麦面粉中其它的成分如

淀粉、糖、脂类、可溶性蛋白等，都有利于面筋蛋白形成面团网络结构和构成面包质地。

### (2) 面团形成的本质：

面筋蛋白主要由麦谷蛋白和麦醇溶蛋白组成，面团的特性与它们密切相关。

<1>在面包制作过程中麦谷蛋白和麦醇溶蛋白的平衡非常重要。大分子的麦谷蛋白与面包的强度有关，它的含量过高会抑制发酵过程中残留 CO<sub>2</sub> 的膨胀，抑制面团的鼓起；麦醇溶蛋白含量过高会导致过度的膨胀，产生的面筋膜易破裂和易渗透，面团塌陷。

<2>在面团中加入极性脂类、变性球蛋白有利于麦谷蛋白和麦醇溶蛋白的相互作用，提高面筋的网络结构，而中性脂肪、球蛋白则不利面团结构。

### <3>面筋蛋白的氨基酸组成：

可离解氨基酸少

含有大量的谷氨酰胺、羟基氨基酸

含有-SH 氨基酸能形成双硫键

加入还原剂破坏-S-S-，则可破坏面团的内聚结构，但加入 KBrO<sub>3</sub> 氧化剂则有利于面团弹性和韧性。

## 蛋白质的营养性质

### Nutritional properties of proteins

#### 1. 蛋白质的质量

##### The quality of protein

必须氨基酸：赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苏氨酸、缬氨酸

限制性氨基酸：Lys、Thr、Trp

##### AA. 消化率 (digestibility, D)

是人体从食品蛋白质吸收的氮占摄入的氮的比例。

#### 2. 影响食品消化率的因素

##### The factors affecting digestibility

蛋白质的构象

抗营养因子

加工条件

# 食品生物化学

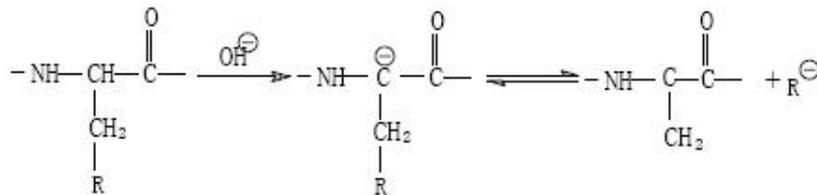
## 5.7 在食品加工中蛋白质的物理、化学和营养变化

### 1. 加热处理对蛋白质的影响

- 蛋白质的一些功能性质发生变化
- 破坏食品组织中酶有利食品的品质
- 促进蛋白质消化
- 破坏抗营养因子
- 引起氨基酸脱硫、脱酰胺异构化

蛋白质交联:

碱性 pH (或者接近中性) 热处理生成赖氨丙氨酸, 羊毛硫氨酸、鸟氨丙氨酸, 并交联, 发生缩合反应生。半胱氨酸或磷酸丝氨酸残基经β-消去反应形成脱氢丙氨酸。

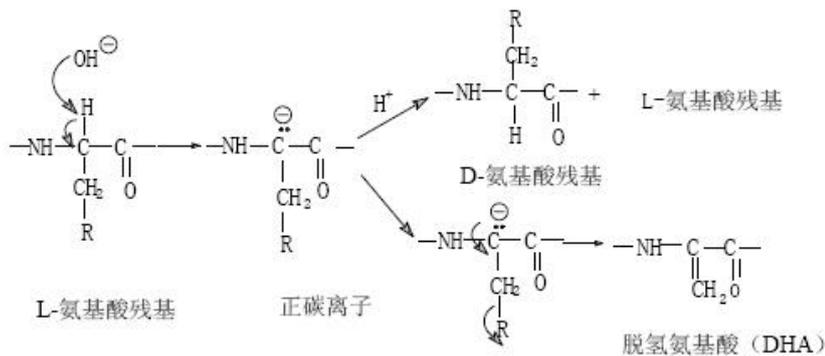


R=SH或OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>.

色氨酸发生异构化:

T>200°C, 碱性条件下。

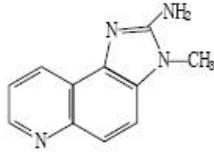
β-消去反应和形成负碳离子的过程, 负碳离子经质子化可随机形成 L 或 D 型氨基酸的外消旋混合物。



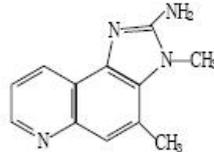
剧烈热处理引起蛋白质生成环状衍生物



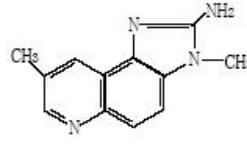
# 食品生物化学



2-氨基-3-甲基咪唑-  
(4, 5-f) 喹啉  
(IQ)



2-氨基-3, 4-二甲基咪唑-  
(4, 5-f) 喹啉  
(MeIQ)



2-氨基-3, 8-二甲基咪唑-  
(4, 5-f) 喹啉  
(MeIQx)

蛋白质和脂类反应：

赖氨酸、谷氨酰胺与天冬酰胺形成共价交联， $\gamma$  辐射引起蛋白质发生聚合。 $H_2O_2$  引起酪氨酸发生氧化性交联。



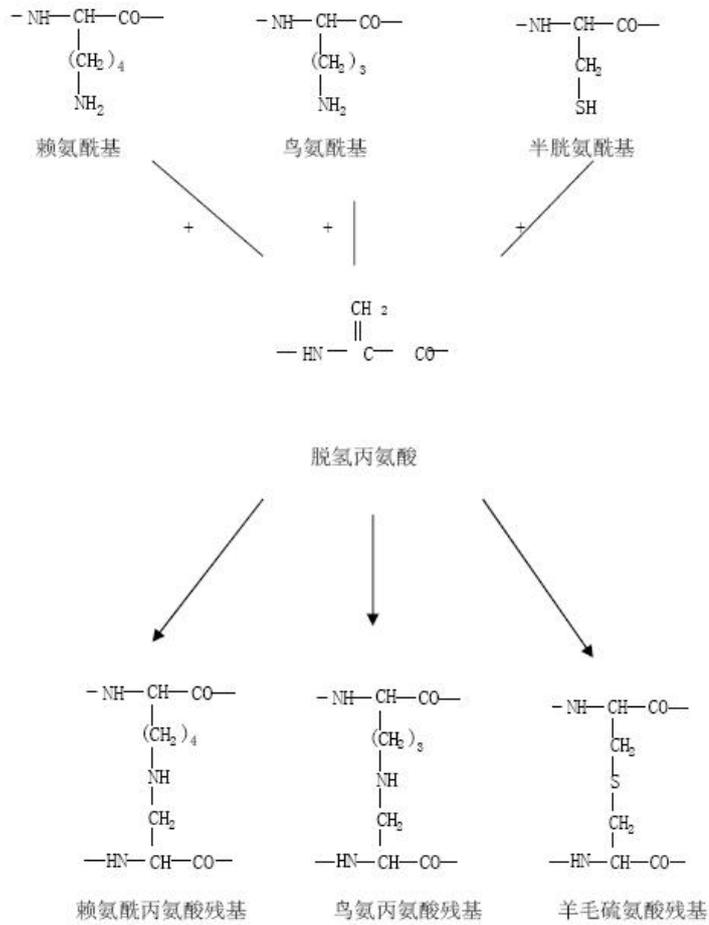
天然蛋白质    脂类自由基                  脂类过氧化物

## 2. 加工时蛋白质之间相互作用

DHA 与赖氨酸、鸟氨酸、半胱氨酸形成交联。



# 食品生物化学



### 3. 蛋白质与氧化剂之间的相互作用

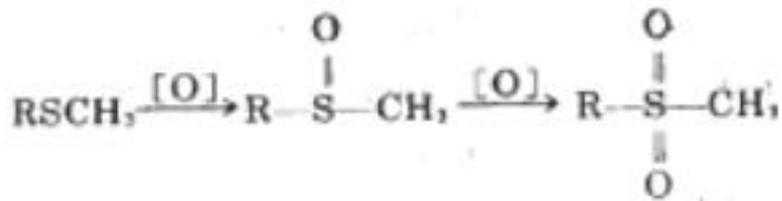
食品常用氧化剂:

$\text{H}_2\text{O}_2$

过氧苯甲酰

次氯酸钠

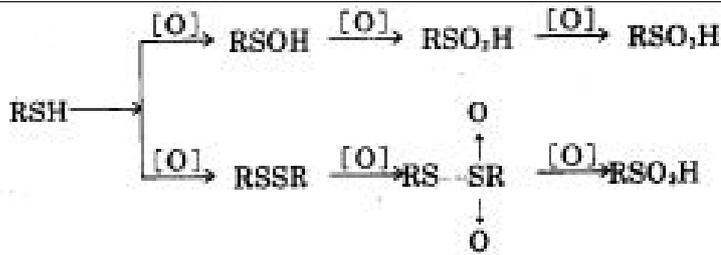
#### (1) 蛋氨酸的氧化



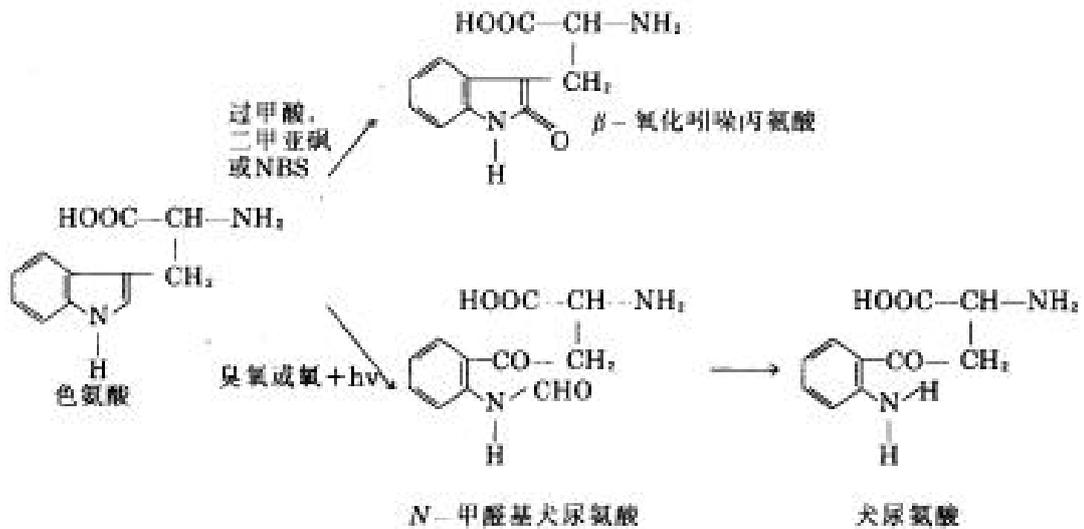
#### (2) 半胱氨酸的氧化



# 食品生物化学



### (3) 色氨酸的氧化



## 蛋白质的测定

### Measurement of protein

#### 1. 概述

食物名称	蛋白质含量	食物名称	蛋白质含量
猪肉 (肥瘦)	9.5	稻米	8.3
牛肉 (肥瘦)	20.1	小麦粉 (标准)	9.9
羊肉 (肥瘦)	11.1	小米	9.7
马肉	19.6	玉米	8.5
驴肉	18.6	大豆	36.3
兔肉	21.2	大白菜	1.1
牛乳	3.3	油菜 (秋)	1.2
乳粉 (全)	26.2	油菜 (春)	2.6
鸡	3.3	菠菜	2.4
鸭	26.2	黄瓜	0.8
鸡蛋	21.5	苹果	0.4



## 食品生物化学

大黄鱼	16.5	桃	0.8
小黄鱼	14.7	柑橘	0.9
带鱼	17.6	鸭梨	0.1
鲈鱼	16.7		
鲤鱼	18.1		
	21.4		
	17.3		

### 一些蛋白质的含氮量

蛋白质	氮(克)	蛋白质	氮(克)
肌动蛋白(兔肌肉)	16.7	谷蛋白	17.6
清蛋白(牛血)	16.07	血红蛋白(马)	16.8
清蛋白(鸡蛋白)	15.9	胰岛素A(牛肉)	15.88
$\alpha$ -淀粉酶	16.23	$\beta$ -乳球蛋白(牛乳)	15.64
抗生物素蛋白(鸡蛋白)	14.80	溶菌酶(鸡蛋白)	18.80
	15.63	肌球蛋白(兔肌肉)	16.70
全酪蛋白(牛乳)		木瓜蛋白酶(木瓜)	17.15
胶原(蛋白)(牛皮)	18.70	核糖核酸酶(牛胰)	17.51
伴清蛋白(鸡蛋白)	16.6	鲑精蛋白(鲑精液)	31.5
百明胶(小牛皮)	18.1	胰蛋白酶(牛胰)	16.95
麦醇溶蛋白(小麦)	17.66	色氨酸合成酶	17.5
球蛋白(南瓜籽)	18.55	玉米醇溶蛋白(玉米)	16.2
胰岛血糖素(猪)	17.29		

## 2.蛋白质定量法定

### (1) 利用蛋白质共性的方法:

氮法

双缩脲法

物理法

### (2) 利用特定氨基酸残基法:

染料结合法

福林-酚试剂法

## 新蛋白质资源

### 一、大豆蛋白和其它油籽蛋白

在油籽作物中以大豆蛋白最为重要，一是因为它的种植面积非常大，二是它的必需氨基酸组成与动物蛋白十分接近。

1.脱脂豆粉：大豆→脱皮→压浸去油脂→蛋白质和碳水化合物→加热灭活抗营养因子（胰蛋白酶抑制物和血球凝集素）→脱脂豆粉（蛋白质含量约为50%）。

2.浓缩大豆蛋白：脱脂豆粉→用pH4.5水或含一定浓度乙醇的水浸提处理→除去低聚糖(胀气

# 食品生物化学

因子和降低胰蛋白酶抑制物的量 →蛋白质的含量在 70%左右。由于浸提使脱脂豆粉中相当量的蛋白质损失。

## 3 大豆蛋白分离物(大豆分离蛋白):

脱脂豆粉→用 pH10 的稀碱浸提→分离出残渣后溶液→酸化至等电点→沉淀→中和→干燥→大豆分离蛋白(蛋白质量超过 90%以上,基本不含抗营养因子),在水中的溶解度也比前二者高,但回收率较浓缩蛋白低得多。脱脂豆粉和浓缩蛋白适用于热塑性挤压,而分离蛋白不仅适用于热塑性挤压,也适用于纤维形成,但成本要高。

## 二、单细胞蛋白(SCP)

单细胞蛋白一般是指以微生物中的蛋白质作为食物蛋白,其优点是单细胞蛋白的生产一般不受气候、地域条件的限制,生长繁殖快,产量高,易控制,可以利用“三废”作为培养基质,它们主要有酵母蛋白,细菌蛋白,藻类和真菌。

### <1>酵母蛋白:

酵母来源:产脲假丝酵和啤酒酵母

它们的蛋白质的含量超过了干重的一半,缺乏含硫氨基酸,其生物价可因添加甲硫氨酸而增加;但由于含有较高量的核酸,若摄入过量则会形成尿酸的血浆液水平升高,造成代谢紊乱。一般它们可作为动物饲料蛋白用,也可经化学分离提取蛋白或去掉核酸后供人食用。

生产底物:碳水化合物。

### <2>细菌蛋白:

生产细菌蛋白:杆菌属、丝菌属、假单胞菌属。

细菌蛋白的生产一般是以碳氢化合物或甲醇作为底物,它们的蛋白含量占干重的 3 / 4 以上,缺乏含硫氨基酸;存在着核酸含量过高的问题,一般不直接食用。

应用:饲料蛋白或经过加工以用作为食用蛋白原料。

### <3>真菌:

蘑菇是食用最广的一种食用真菌,它的蛋白质含量较低(不超过干重 30%,鲜蘑菇中蛋白质约 4%),其蛋白质也不是完全蛋白。

### <4>藻类:

以小球藻和螺旋藻最引人注目,二者蛋白含量分别为 50%、60%(干重),必需氨基酸中除

含硫氨基酸较少外,其它必需氨基酸丰富。

作为食物蛋白时存在两个缺点:

①日食用量超过 100g 时有恶心、呕吐、腹痛等现象;

②细胞壁不易破坏,消化吸收率低。若破壁及去掉色素则可提高其消化吸收率。

## 三、叶蛋白

植物的叶片是进行光合作用及合成蛋白质的场所,许多禾谷类、豆类作物的叶片中约含 2-4%Pr。

新鲜叶片切碎压榨取汁,所得汁液中含有 10%固形物;加热汁液至 90℃时可形成蛋白凝块,经洗涤、干燥后凝块中约含 60%的蛋白质、10%的脂类、10%矿物质和其它物质(维生素、色素),可直接用作商品饲料来增加禽类的皮肉部、蛋黄的色泽。若经过脱色处理后会改善其适口性,添加到谷类食物中提高谷类食物中赖氨酸的不足。

## 四、鱼蛋白

鱼蛋白可作为食物蛋白和饲料蛋白。生鱼磨粉后,用有机溶剂浸提除掉脂类和水分,再经适当的研磨制成颗粒即为无臭味的浓缩鱼蛋白,其蛋白质含量达 75%以上。若同时脱



# 食品生物化学

骨、去内脏处理做成的则是去内脏浓缩鱼蛋白，蛋白质含量达93%以上。鱼蛋白的必需氨基酸组成与鸡蛋蛋白、酪蛋白相似，但是它的一些功能性质如溶解性、分散性、吸湿性等不好，所以不太适用于食品加工。必须经过一些特殊的加工处理后方可在食品中应用，如组织化、水解等。

## 小结

1. 氨基酸是带有氨基的有机酸，分子结构中至少含有一个伯氨基和一个羧基， $\alpha$ -氨基酸含有一个 $\alpha$ -碳原子、一个羧基、一个氢原子和一个侧链R基团。
2. 肽键的特点：肽键的C-N键具有40%的双键特性，而C=O键有40%左右的单键性质，这是由于电子的非定域作用结果导致产生的共振稳定结构，使之肽键的C-N键具有部分双键性质。
3. 一级结构：又称化学结构，是指氨基酸在肽链中的排列顺序及二硫键的位置。
4. 二级结构：是指由多肽链上主链骨架中各个肽段所形成的规则或无规则的空间排布（构象）。如 $\alpha$ 螺旋， $\beta$ -折叠。
5. 超二级结构：指二级结构的基本结构单位相互聚集，形成有规律的二级结构的聚集体。
6. 结构域：二级结构和超二级结构单元紧密相连，折叠成两个或多个在空间上可以明显区分的三级折叠区域（通常为球状），如动物的免疫球蛋白G(IgG)含有12个结构域。
7. 三级结构：指含 $\alpha$ 螺旋、 $\beta$ 弯曲和 $\beta$ 折叠或无规卷曲等二级结构的蛋白质，其线性多肽链进一步折叠成为紧密结构时的三维空间排列。
8. 四级结构：蛋白质分子由两条或两条以上各自独立的具有三级结构的多肽组成，这些多肽链之间通过次级键相互缔合而形成的有序排列的空间结构，称为蛋白质四级结构。
9. 构型：是指原子的空间排列，这种排列的改变会涉及共价键的生成或破坏，但与氢键无关。
10. 构象：是指分子内各原子或基团之间的立体关系。构象的改变是由于氢键的旋转而产生的，他不涉及共价键的变化，仅涉及到氢键等次级键的改变。
11. 维持和稳定蛋白质结构的作用力主要有空间张力、范德华力、静电相互作用、氢键相互作用、疏水相互作用、二硫键、配位键、蛋白质构象的稳定性和适应性。
12. 蛋白质变性是指蛋白质构象的改变（即二级、三级或四级结构的较大变化），但并不伴随一级结构中的肽键断裂。
13. 蛋白质变性因素有热、低温、机械处理、静液压、辐射、界面、pH、金属、有机溶剂、有机化合物水溶液、表面活性剂、离液盐。
14. 蛋白质-水相互作用是通过蛋白质的肽键（偶极-偶极或氢键），或氨基酸侧链（离子的极性甚至非极性基团）同水分子之间的相互作用来实现的。
15. 影响水合性质的环境因素：在等电点pH时，蛋白质-蛋白质相互作用最强，蛋白质的水合作用的溶胀最小。蛋白质结合水的能力一般随温度升高而降低，离子的种类和浓度对蛋白质的吸水性、溶胀和溶解度也有很大影响。
16. 影响蛋白质溶解性的因素有氨基酸组成与疏水性、pH、离子强度 $\mu$ 、温度、有机溶剂。
17. 按蛋白质的溶解度分类有清蛋白、球蛋白、醇溶谷蛋白、谷蛋白。
18. 蛋白质作为理想的表面活性剂必须具有3个属性：①快速吸附到界面的能力；②在达到界面后迅速伸展和取向；③一旦达到界面，即与邻近分子相互作用形成具有强内聚力和粘弹

## 食品生物化学

性的膜，能耐受热和机械的作用。

19.影响蛋白质乳化作用的因素有:①蛋白质溶解度在 25%~80%范围和乳化容量或乳状液稳定性之间通常存在正相关。②pH 影响蛋白质的乳化性质。③加热通常可降低被界面吸附的蛋白质膜的粘度和刚性，结果使乳状液稳定性降低。

20. 影响泡沫形成和稳定性的环境因素：① pH ②盐类 ③糖类 ④蛋白质浓度 ⑤温度。

21. 蛋白质定量法有利用蛋白质共性的方法：定氮法、双缩脲法、物理法。利用特定氨基酸残基法：染料结合法、福林—酚试剂法

22.凯氏定氮法原理

样品中含氮有机化合物经浓硫酸加消化，硫酸使有机物脱水；同时有机物炭化生成炭；炭将硫酸还原为  $\text{SO}_2$ ，C 则变为  $\text{CO}_2$ ； $\text{SO}_2$  使氮还原为氨，本身则氧化为  $\text{SO}_3$ ；在反应过程中生成的氢，又加速氨的形成；生成物中水和  $\text{SO}_2$  逸去，氨与硫酸结合生硫酸铵留在溶液中，蒸馏：硫酸铵在碱性条件下，释放出氨。吸收与滴定。

23.新蛋白质资源

(1)大豆蛋白和其它油籽蛋白：脱脂豆粉；浓缩大豆蛋白；大豆蛋白分离物(大豆分离蛋白)。

(2)单细胞蛋白(SCP):酵母蛋白;细菌蛋白;真菌蛋白;藻类蛋白。

(3)叶蛋白

(4)鱼蛋白