

鸡蛋清中功能蛋白及活性肽的研究进展

于志鹏¹, 赵文竹^{1,*}, 刘静波^{2,*}

(1.渤海大学化学化工与食品安全学院, 辽宁锦州 121013;

2.吉林大学营养与功能食品研究室, 吉林长春 130062)

摘要: 蛋清中功能蛋白及活性肽具有多种生理活性, 对人类健康及疾病的预防和治疗方面的巨大潜力, 成为食品领域的研究热点之一。本文综述了蛋清蛋白中的主要功能蛋白的结构及功能, 生物活性肽研究进展, 并对蛋清蛋白及活性肽的研究进行展望, 以期为进一步深入的基础研究和应用开发提供参考。

关键词: 鸡蛋, 蛋白, 活性肽, 结构

Progress in the functional proteins and bioactive peptides of hen egg white

YU Zhi-peng¹, ZHAO Wen-zhu^{1,*}, LIU Jing-bo^{2,*}

(1.College of Chemistry, Chemical Engineering and Food Safety, Bohai University, Jinzhou 121013, China;

2.Lab of Nutrition and Functional Food, Jilin University, Changchun 130062, China)

Abstract: Proteins and bioactive peptides in egg white exert diverse biological activities, and are potential sources for human health and disease prevention and treatment, and become one of research content in the field of food. The current work reviewed the structure and function of proteins, research progress in bioactive peptide, and discussed its further research development, aimed to provide the references for the related research.

Key words: hen egg; protein; bioactive peptide; structure

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)07-0387-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.07.073

鸡蛋由蛋壳、蛋清和蛋黄三部分组成, 分别占鸡蛋质量的 9%~11%、60%~63% 和 28%~29%。鸡蛋主要成分为脂类、蛋白质和水分, 分别占总质量的 11%~12%、12%~16% 和 73%~76%, 同时还含有少量的维生素和矿物质。蛋清是一种由蛋白质和水组成的胶体物质, 其中 85%~89% 为水分, 9.7%~10.6% 为蛋白质, 0.4%~0.9% 为碳水化合物, 0.5%~0.6% 为矿质元素, 0.03% 为脂类和少量维生素等^[1-2]。蛋清中的蛋白质主要包括 54% 的卵清蛋白, 12% 的卵转铁蛋白, 11% 的卵类粘蛋白, 3.4% 的溶菌酶, 4.0% 的 G2 球蛋白, 4.0% 的 G3 球蛋白, 3.5% 的卵粘蛋白, 0.8% 的卵黄素蛋白, 1.0% 的卵糖蛋白, 0.5% 的卵巨球蛋白, 0.05% 半胱氨酸蛋白酶抑制剂, 1.5% 的卵抑制剂以及 0.05% 的抗生素蛋白^[3-4]。

1 鸡蛋清中的功能蛋白

1.1 卵清蛋白

卵清蛋白 (Ovalbumin) 是蛋清的主要蛋白质, 因糖和磷酸基与肽链相连而归类于磷脂糖蛋白, 单链

糖侧链与 Asn 的酰胺键以共价键形式连接, 分子量为 45000u, 其等电点为 pH 4.5。McReynolds 等通过 mRNA 测序分析卵清蛋白由 385 个氨基酸组成, Nisbet 等通过蛋白质测序也进一步证实该结论。蛋清中除存在卵清蛋白外, 还含有卵清蛋白基因相关蛋白 X 和卵清蛋白基因相关蛋白 Y, 氨基酸序列见图 1, 三种蛋白均存在糖基化 (N-乙酰葡萄糖胺), 二硫键 (-S-S-) 和巯基 (-SH)^[5]。卵清蛋白中二分之一氨基酸残基为疏水性, 三分之一的氨基酸残基带电荷, 并含有 6 个半胱氨酸残基 (Cys¹¹, Cys³⁰, Cys⁷³, Cys¹²⁰, Cys³⁶⁷, Cys³⁸²), 其中 Cys⁷³ 和 Cys¹²⁰ 形成二硫键 (-S-S-), 而 4 个巯基中 3 个在自然状态下反应较弱, 第四个巯基仅在蛋白变性状态下反应强烈^[6]。卵清蛋白具有两个磷酸化作用点, 分别位于 Ser 68 和 Ser 344, 卵清蛋白存在 3 种形式, 即含有两个磷酸基团的卵清蛋白 A1, 一个磷酸基团的卵清蛋白 A2 和零个磷酸基团的卵清蛋白 A3, 并且 3 种分子存在形式的比例为 81-84:14-16:2-4, 研究证实可通过离子交换色谱, 聚丙烯酰胺凝胶电泳和等电聚焦电泳将

收稿日期: 2014-07-14

作者简介: 于志鹏 (1984-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 蛋白质及活性肽的功能研究与产品开发。

* 通讯作者: 赵文竹 (1986-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 蛋白质及活性肽的功能研究与产品开发。

刘静波 (1962-) 女, 博士, 教授, 研究方向: 营养与功能食品。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31271907); 国家科技支撑课题 (2012BAD00B03)。

卵清蛋白存在的3种结构有效分离^[7]。Stein等通过高场核磁测定自然状态下的卵清蛋白二级结构中 α 螺旋含量为30%, β 折叠含量为32%;通过圆二色谱测定 α 螺旋含量为30%, β 折叠含量为40%,通过拉曼光谱测定卵清蛋白二级结构中 α 螺旋含量为25%, β 折叠含量为25%,这些结果的差异主要来源于测定条件,尤其是pH和离子强度。

1	MGSIGASMEFCDFVFEELRVHANEHIFPCPIALMSALAMVYLGAKDSTRQINKVYRF	60	P01012	OVAL_CHICK
1	MDISVYNNAKCFDVFENEMKVHVNELIYCLSLITALAMVYLGAGNTEZQMVKYLFH	0	P01013	OVALX_CHICK
1	MDISVYNNAKCFDVFENEMKVHVNELIYCLSLITALAMVYLGAGNTEZQMVKYLFH	60	P01014	OVALY_CHICK
61	DKLPQPGDSIEAQ@TSTVNVHSSLDLQIKTKPNVDFVSFSLASRLAEERYILPEYLQ	120	P01012	OVAL_CHICK
1	-----QIKDLVSSSTOLOTLVLVNAIY	0	P01013	OVALX_CHICK
61	DSITAGSGTDSQ@GSSEVYHNLKELLSEITRPHATYSLELADKLVDFTSVLEYSL	120	P01014	OVALY_CHICK
121	@VKLVRGGLPINFOTAADQARELINSWVSTNGIRNVLPQSSVSQTAMVLVNAIY	180	P01012	OVAL_CHICK
1	-----QIKDLVSSSTOLOTLVLVNAIY	24	P01013	OVALX_CHICK
121	@ARKFYTGVEEVNFTAAEEARGLINSWVERETNGIKDLVSSSIDFOTMTVFINTIY	180	P01014	OVALY_CHICK
161	FKGLWEAFKDEDTQAMPFRVTEQESFVQ@QIGLFRVMSASEKMLELFPASSTM	240	P01012	OVAL_CHICK
25	FKGKWTANDEQTRAMPFRVTEQESFVQ@QIGLFRVMSASEKMLELFPASSTM	84	P01013	OVALX_CHICK
161	FKGKWTANDEQTRAMPFRVTEQESFVQ@QIGLFRVMSASEKMLELFPASSTM	240	P01014	OVALY_CHICK
241	SMVLVLPDEVSGLERIEKINFEKLTETWTFSSNMEEKIKVYLPQMKIEEKVNLVSLMA	300	P01012	OVAL_CHICK
85	SMVLVLPDEVSGLERIEKINFEKLTETWTFSSNMEEKIKVYLPQMKIEEKVNLVSLMA	144	P01013	OVALX_CHICK
241	SMVLVLPDEVSGLERIEKINFEKLTETWTFSSNMEEKIKVYLPQMKIEEKVNLVSLMA	300	P01014	OVALY_CHICK
301	MGITVSSSANLSGSSAESLKISQAVHAAAEINEAGREVVSAAE--GVDAVSSEE	358	P01012	OVAL_CHICK
145	LQMTDLFIPANLTOISSAESLKISQAVHAAAEINEAGREVVSAAE--GVDAVSSEE	204	P01013	OVALX_CHICK
301	LQMTDLFIPANLTOISSAESLKISQAVHAAAEINEAGREVVSAAE--GVDAVSSEE	360	P01014	OVALY_CHICK
359	FRADHFLFLKIKHATNVLFFGRGVSE	386	P01012	OVAL_CHICK
205	FRADHFLFLKIKHATNVLFFGRGVSE	232	P01013	OVALX_CHICK
361	FRADHFLFLKIKHATNVLFFGRGVSE	388	P01014	OVALY_CHICK

图1 蛋清中卵清蛋白的一级结构

Fig.1 Primary amino acid sequences of ovalbumin and related protein

注:卵清蛋白(P01012 OVAL_CHICK),
卵清蛋白X(P01013 OVALX_CHICK),
卵清蛋白Y(P01014 OVALY_CHICK),
来源 NCBI 数据库,图2同。

1965年,Smith等首次报道卵清蛋白在存储过程中会转变为更具有热稳定性的S-卵清蛋白,变性温度由卵清蛋白对应的84.5℃转变为92.5℃,两种形式(卵清蛋白和s-卵清蛋白)共存条件下变性温度变为88.5℃^[8]。研究表明,新鲜鸡蛋中s-卵清蛋白占整个卵清蛋白5%或更少的比例,而鸡蛋经6个月低温储存后,卵清蛋白中转化为s-卵清蛋白的比例高达81%,s-卵清蛋白的出现伴随着蛋清蛋白质流动性增强及出现稀释状,并且不利于蛋品的制作和加工,被认为是鸡蛋营养价值的降低及功能活性的损失。s-卵清蛋白在55℃和pH10的磷酸盐(100mmol/L)环境中很容易形成,而且温度和pH越高越有利于加速其转化速率。目前更多的研究表明卵清蛋白具有潜在的免疫活性,同时也是蛋清的主要过敏源^[8]。

1.2 卵转铁蛋白

卵转铁蛋白(Ovotransferrin)作为一种中性糖蛋白,主要分布在卵清中且占鸡蛋整个蛋白总量的12%,分子量为78000~80000u,等电点为pH6.0,含有686个氨基酸残基,其中15个二硫键(无游离巯基)。每个卵转铁蛋白分子能够可逆地结合并运输2个 Fe^{3+} ,同时伴随结合两个 CO_3^{2-} 或 HCO_3^- ,还可以与过渡金属紧密结合^[9]。卵转铁蛋白的一级结构与人体内的转铁蛋白具有51%的同源性,与乳铁蛋白具有49%的同源性,而且大部分的同源序列分布在卵清蛋白的C端。因此,卵转铁蛋白被作为铁强化含片,铁强化饮料及蛋白强化剂等主要营养成分^[10]。

目前,卵转铁蛋白的纯化方法主要利用液相色谱纯化包括阳离子交换色谱,阴离子交换色谱等,该方法能够避免蛋白变性进而保留更高的生物活性。研究表明三次连续离子交换色谱纯化卵转铁蛋白得率达到89%。卵转铁蛋白与血清中转铁蛋白具有相似的结构性质,主要是这些蛋白源于相同的基因,仅是相连接的碳水化合物有差别而已。X射线晶体分析表明卵转铁蛋白多肽链折叠为两个lobe(N端lobe和C段lobe)进而分为四个结构域,每个lobe由两个大小相似的结构域构成,即N端lobe由N1和N2结构域组成,C段lobe由C1和C2结构域组成,每个结构域约有160个氨基酸残基组成^[11]。这两个lobe通过非平行 β 纽带连接, β 纽带可以允许其空间结构展开与闭合,而每个铁结合位点均深藏于lobe内部。通过序列比对,这两个lobe具有相似的结构,大多数的二级结构元素相一致,主要区别在于弯曲区域的序列的插入与敲除。Apo-与holo-卵转铁蛋白的晶体结构如图2,表明通过 Fe^{3+} 的结合或释放将会影响卵转铁蛋白空间结构大的变化。

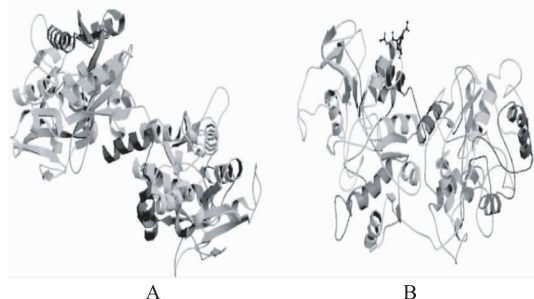


图2 卵清蛋白晶体结构

Fig.2 Crystal structure of ovalbumin

注:A为卵清蛋白的apo形态,B为卵清蛋白的holo形态。

通过考察卵转铁蛋白对不同革兰氏阳性菌和阴性菌生长影响实验,表明卵转铁蛋白具有体外抑菌活性,该活性主要依赖于卵转铁蛋白对 Fe^{3+} 较强的结合力,而 Fe^{3+} 是细菌生长的必要元素。卵转铁蛋白具有抑菌活性并不仅仅是因为能够从中间产物中移除 Fe^{3+} ,整个过程是一个极为复杂的体系,包括通过阳离子结构域OTAP-92与细菌膜结合方式等。OTAP-92由92个氨基酸残基构成,位于卵转铁蛋白N端lobe的N2结构域的109~200残基位置,其具有六个半胱氨酸残基构成的3个二硫键桥形成了双螺旋结构,这些结构为抑菌活性起到重要作用。事实上,卵转铁蛋白或是结合金属已饱和的卵转铁蛋白(如 Zn^{2+} 卵转铁蛋白)具有抑菌活性是由于其直接与细菌表面发生作用^[12]。研究表明卵转铁蛋白的apo和holo两种形式均具有抑菌活性,而且卵转铁蛋白还具有抑制真菌活性和抗病毒活性。卵转铁蛋白的抗菌性与目前广为认可的乳铁蛋白相似,并且在蛋清中的含量也远高于乳铁蛋白在乳制品中的含量,因此卵转铁蛋白可作为工业化的营养强化剂添加到食品或保健品中。

1.3 卵粘蛋白

卵粘蛋白(Ovomucin)是一种硫酸化蛋清糖蛋

白,占蛋清蛋白质量的 2%~4%,而且在浓厚蛋清分布含量比在稀薄蛋清中高 2~4 倍,除存在于蛋清中还存在于卵系和卵黄膜外层中。蛋清的凝胶性主要归因于卵粘蛋白,在鸡蛋保存过程中最明显的变化即蛋清的稀释主要是因为卵粘蛋白的降解^[13]。卵粘蛋白至少由两个亚单元构成,即 α -卵粘蛋白和 β -卵粘蛋白,这些亚单元含有不同的氨基酸组分及多糖含量。 α -卵粘蛋白的多肽链由 2807 个氨基酸残基组成,通过 SDS-PAGE 电泳分析其分子量为 180000 至 220000u, Watanabe 等计算其分子量约为 254000u,该结果略高于之前利用聚丙烯酰胺凝胶电泳测定结果。研究发现浓厚蛋清中 α -卵粘蛋白组分经凝胶过滤色谱纯化后再经交联葡聚糖凝胶色谱分析得到两条带,即为 α_1 -卵粘蛋白和 α_2 -卵粘蛋白,分子量分别为 150000u 和 220000u。 β -卵粘蛋白亚基单元依次经聚丙烯酰胺凝胶电泳和超高速离心方法测得其分子量分布在 400000~720000u,研究表明 β -卵粘蛋白的片段由 827 个氨基酸序列组成且分子量为 91836u,而 β -卵粘蛋白的全序列分析有待进一步研究^[14]。蛋清中包含两种形式的卵粘蛋白,分别为可溶性卵粘蛋白和不溶性卵粘蛋白。可溶性卵粘蛋白主要分布于蛋清中的浓厚蛋白和稀薄蛋白,而不溶性蛋白仅分布在浓厚蛋清中,而且可溶性蛋白和不溶性蛋白组分中的 α -卵粘蛋白和 β -卵粘蛋白亚基单元的组成比例是不同的。不溶性卵粘蛋白由 67% 的 α -卵粘蛋白和 33% 的 β -卵粘蛋白组成,可溶性卵粘蛋白由 87% 的 α -卵粘蛋白和 13% 的 β -卵粘蛋白组成。 α -卵粘蛋白和 β -卵粘蛋白中多糖组分分别占 15% 和 60%,由于不同卵粘蛋白亚基单元中多糖含量的差异以及卵粘蛋白中所含亚基单元比例的差异,卵粘蛋白的复合体中的多糖含量存在不同程度的差异,并且卵粘蛋白中的碳水化合物多以线性侧链的 3-6 寡糖为主^[15]。卵粘蛋白及其活性肽除了具有维持蛋清结构及粘度等物理功能,还对鸡新城疫病毒、牛轮状病毒和人流感病毒具有体外抑制活性,因此卵粘蛋白可作为抗病毒活性产品进行开发。

1.4 溶菌酶

溶菌酶(Lysozyme)广泛存在于人类及动物体内的分泌腺、体液和组织中。溶菌酶又称为胞壁质酶或 N-胞壁质聚糖水解酶,作为水解酶主要裂解细胞壁多糖的糖苷键形成糖肽,水解位点是 N-乙酰胞壁酸的 1 位碳原子和 N-乙酰葡萄糖胺的 4 位碳原子间的 β -1.4 糖苷键^[16]。鸡蛋清中含有极高的溶菌酶,约占整个鸡蛋清的 3.5%,含量为 2500~3500 μ g/mL,鸭蛋清中溶菌酶含量为 1000~1300 μ g/mL,鹅蛋清中溶菌酶含量为 500~700 μ g/mL。禽蛋清中溶菌酶含量均高于牛乳中含量,因此市场上出现的溶菌酶主要从蛋清中提取纯化获得的产品,然而溶菌酶在禽类体内的作用尚未阐明。溶菌酶是一种碱性蛋白质,含有 129 个氨基酸残基,分子量为 14300u,其等电点位于 10~11 范围,同时是第一个获得全序列信息及三维结构的蛋白质^[17]。溶菌酶由两个结构域(N 端结构域和 C 端结构域)组成,这两个结构域由

α -螺旋长链连接,并且在 α -螺旋长链区域内存在酶的活性位点。溶菌酶 N 端结构域为 44~88 氨基酸残基位置,该结构域内含有一部分 α -螺旋和绝大部分的 β -折叠结构,而 C 端结构域为 1~39 氨基酸残基和 89~129 氨基酸残基两部分组成,该结构域的二级结构主要为 α -螺旋结构。溶菌酶分子形成内部疏水性和外部亲水性的构型,表面分布大量的极性基团而疏水性集团内嵌于酶分子内部^[18]。溶菌酶分子构象迁移主要来自于两个结构域相互运动,通过两个结构域的空间位置的相对转变进而实现底物能够自由进入并与活性位点结合发挥催化作用^[17,19]。

溶菌酶具有高等电点特性,因此可以与卵粘蛋白、卵转铁蛋白、卵清蛋白和糖蛋白中带负电荷的唾液酸键合。这些能够与溶菌酶键合的组分均含有多糖物质。溶菌酶自身具有较高的稳定性,肽链中的四个二硫键使得这个小蛋白分子结构非常稳定,其中两个二硫键用于维持酶活性,另外两个二硫键则与酶的热稳定性息息相关,在高温 100℃ 条件下活性仍能维持 1~2min。溶菌酶在酸性溶液中(pH3.0~4.0)也有相似的高稳定性,然而溶菌酶对硫醇极为敏感,很容易发生钝化。因此在 60℃ 条件下,鸡蛋中的溶菌酶因与此条件下卵清蛋白中的游离巯基发生反应导致其活性丧失^[20]。溶菌酶单体具有显著的抑菌活性,尤其对革兰氏阳性菌的抑制尤为显著,并已被应用于食品及药品当中,同时有文献证明溶菌酶可作为免疫调节和免疫激活剂^[3]。

1.5 黄素蛋白

黄素蛋白(Flavoprotein)又称核黄素结合蛋白,该蛋白在蛋清和蛋黄中均有分布,约占蛋清蛋白质量的 0.8%。蛋清中黄素蛋白是由 219 个氨基酸残基组成的多肽单链,并且 N 端氨基酸残基为焦谷氨酸,焦谷氨酸作为 N 端氨基酸残基现象极为少见,其中 30% 氨基酸构成 6 个 α -螺旋结构(A~F),约有近 15% 氨基酸残基形成 4 个 β -折叠结构(a~d)。4 个 α -螺旋结构(A~D)与 4 个 β -折叠结构(a~d)形成与核黄素结合的位点,而另外两个 α -螺旋结构(E~F)则围绕在蛋白的磷酸化位点的区域,该区域为 186~197 氨基酸残基。黄素蛋白主要包括两个结构域,即 N 端结构域和 C 端结构域,N 端结构域分子量较大位于 1~170 氨基酸残基区域,核黄素结合位点也分布在该区域。C 端结构域相对分子量较小,该区域位于 171~219 氨基酸残基且存在大量负电荷氨基酸,包含 8 个磷酸丝氨酸残基和 10 个谷氨酰胺残基。磷酸丝氨酸残基构建了黄素蛋白的紧密的结构:Ser¹⁸⁵-Glu-Ser(p)-Ser(p)-Glu-Glu-Ser(p)-Ser(p)-Ser(p)-Met-Ser(p)-Ser(p)-Ser(p)-Ser(p)-Glu-Glu²⁰⁰。黄素蛋白共含有 18 个半胱氨酸残基形成的 9 个二硫键桥使得蛋白质构型和活性更加稳定,其中 8 个二硫键桥位于磷酸化活性位点区域,第 9 个二硫键桥则用于连接黄素蛋白的两个结构域。

黄素蛋白中多糖含量约为 14%,主要为海藻糖,甘露糖,半乳糖,乙酰葡萄糖胺和唾液酸。尽管两个 N-糖苷位点(Asn-36 和 Asn-147)都存在于保守的五

肽中,保守五肽中的四个氨基酸已经确定,然而所含多糖分子不同而存在差异,连接到 Asn-36(CHO-36)多糖分子所含的支链度明显低于连接到 Asn-147(CHO-147)支链度,而且蛋清中黄素蛋白和蛋黄中核黄素蛋白所相连的多糖分子是完全不同的,这与蛋白合成在不同的组织存在一定的关系。核黄素能够以 1:1 比例与 apo- 黄素蛋白紧密结合,解离常数为 1.3×10^{-9} ,而且核黄素一旦与蛋白结合后结构极其稳定。蛋清中黄素蛋白与核黄素的结合饱和率为 35~50%,而蛋黄中黄素蛋白与核黄素的结合饱和率几乎为 100%。

1.6 抗生物素蛋白

抗生物素蛋白(Antibiotic protein)约占蛋清蛋白组分的 0.05%,含量达到 50mg/L,是一种碱性且高稳定性蛋白质,pH7~9 条件下变性温度为 85℃,等电点约为 10.5,最多连接 4 个生物素分子,与生物素结合后变得更加稳定,变性温度升高到 132℃。抗生物素蛋白与生物素结合后化学稳定性明显增强,在尿素浓度为 9mol/L 或 7mol/L 的盐酸条件下仍保持原有活性。抗生物素蛋白具有 4 个亚单位,每个亚单位由 128 个氨基酸残基组成,每个亚单位的理论分子量为 14340u,因此抗生物素蛋白的理论分子量为 57400u,而实际测定分子量为 67000u,主要是未考虑抗生物素蛋白的糖基化。抗生物素蛋白四聚体晶体结构为分子对称构型,蛋清中的抗生物素蛋白的糖基化位点位于第 17 个氨基酸残基的 Asn。通过傅立叶红外光谱和拉曼红外光谱分析抗生物素蛋白的 apo- 和 hol- 构型的三维结构表明蛋白与生物素结合后对蛋白的三维结构几乎没有影响。

2 鸡蛋清中的活性肽

自上个世纪 50 年代初,随着分离和检测技术的迅速发展,活性肽这一研究领域进入了崭新的快速发展时期。活性肽因其兼具化学合成和化学修饰等特点吸引越来越多的农业工程、生物工程、化学工程及其交叉领域研究人员的研究兴趣。国内外研究者研究发现禽蛋蛋白质酶解产物具有降血压,抗氧化,抗菌,促进矿物质吸收和免疫调节作用。蛋清活性肽研究最早始于 1995 年,Fujita^[21]等人证明卵清蛋白的酶解产物具有抑制血管紧张素转化酶的活性,从此开启了人们对鸡蛋蛋白活性肽的关注。You^[22]等人对蛋清中溶菌酶蛋白及其酶解产物进行了实验,发现溶菌酶酶解产物具有抗氧化等多种生物活性,并初步对酶解产物进行离子交换色谱纯化获得 7 个组分,对各个组分的活性进行测定,利用质谱测定组分 2 和组分 6 中所含活性肽的序列为 KRHGLDNY, RHGLDNYRGY, KRHGLDNYRGY, KKIVSDGNGM, HGLDNY, YGIL, AKKIVSD GNGM, ATNRNTDGSTDYGILQ, AKKIVSDGNGM。Miguel^[23]等人利用胃蛋白酶裂解 3h 后进行活性测定,发现酶解产物具有抗氧化活性,同时检测到该酶解产物还具有血管紧张素转化酶抑制活性。Wu^[24]等人利用蛋白质组学技术分析不同来源鸡蛋蛋白的差异性,并对蛋清肽的生物酶解制备,纯化和结构鉴定开展

了研究^[25-27],并对构效关系进行了系统的研究^[28-29],重点研究了二肽和三肽的一级结构与体外活性的关系。Chi^[30]等人对卵清蛋白的功能性进行了修饰,并优化了生物酶解制备卵清蛋白活性肽的条件及色谱分离方法^[31],表明酶解产物具有一定的生理活性^[32]。Yu^[33-36]等人利用色谱结合蛋白质组学技术对蛋清蛋白酶解产物进行高效分离和结构鉴定共获得 19 个活性肽序列,并证明活性肽具有抗糖尿病和降血压等功效,同时为禽蛋资源活性肽的快速筛选提供了一个参考。

3 展望

蛋清蛋白及活性肽的功能受到越来越多地关注,2011~2013 年蛋加工领域获得的国家自然科学基金资助的项目总计 9 项,主要侧重:蛋清蛋白凝胶特性、致敏性及相应机理研究;蛋白/肽构效关系机制研究;传统蛋制品加工中的基础研究;蛋清肽的结构与吸收关系研究。更多的研究开始侧重于对鸡蛋蛋白及活性肽。鉴于鸡蛋蛋白及活性肽对人体营养及生理调节的重要作用,建立鸡蛋各种功能蛋白提取纯化的工业化路线将有利于推广其在日常饮食中应用,一者拓宽了禽蛋产业的加工链,提高了产品的附加值,改变目前产品相对单一和低值化现状;再者也有效解决了人体所需的功能活性组分的原料来源且该原料相对容易获得。鸡蛋功能蛋白及活性肽的研究目前还停留在基础研究阶段,基础研究成果顺利工业化转化将成为未来研究的热点和难点。

参考文献

- [1] Mine Y, Dsilva I. Bioactive peptides in hen eggs [M]. Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination, Second Edition, 2008: 439-458.
- [2] You S J, Udenigwe C C, Aluko R E, et al. Multifunctional peptides from egg white lysozyme [J]. Food Research International, 2010, 43: 848-855.
- [3] Mine Y. Recent advances in egg protein functionality in the food system [J]. Worlds Poultry Science Journal, 2002, 58: 31-39.
- [4] Nys Y, Sauveur B. The nutritional value of eggs [J]. Productions Animales, 2004, 17: 385-393.
- [5] Fujita H, Usui H, Kurahashi K, et al. Isolation and characterization of ovokinin, a bradykinin B1 agonist peptide derived from ovalbumin [J]. Peptides, 1995, 16: 785-90.
- [6] Nisbet A D, Saundry R H, Moir A J G, et al. The complete amino-acid-sequence of hen ovalbumin [J]. European Journal of Biochemistry, 1981, 115: 335-345.
- [7] Yang M, Mine Y. Novel T-cell epitopes of ovalbumin in BALB/c mouse: Potential for peptide-immunotherapy [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, 378: 203-208.
- [8] Zambrowicz A, Zelazko M, Trziszka T. Hen egg proteins: precursors of bioactive peptides [J]. Medycyna Weterynaryjna, 2011, 67: 157-161.
- [9] Kurokawa H, Dewan J C, Mikami B, et al. Crystal structure of hen apo-ovotransferrin-Both lobes adopt an open conformation

upon loss of iron[J].Journal of Biological Chemistry,1999,274:28445-28452.

[10] Lee N K, Ahn D U, Park K K, et al. Inhibitory Effect on Angiotensin - converting Enzyme (ACE) and Optimization for Production of Ovotransferrin Hydrolysates[J].Korean Journal for Food Science of Animal Resources,2010,30:286-290.

[11] Wu J, Acerolopez A. Ovotransferrin: Structure, bioactivities, and preparation [J] . Food Research International, 2012, 46: 480-487.

[12] Moon S H, Lee J H, Lee Y J, et al. Antioxidant, Antimicrobial, and Cytotoxic Activities of Ovotransferrin from Egg White[J].Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2012,32:612-617.

[13] Ferreira M, Oliveira F A R, Jost R. Application of microfiltration to egg white depleted in ovomucin[J].International Journal of Food Science and Technology,1999,34:27-32.

[14] Omana D A, Wang J P, Wu J P. Ovomucin - a glycoprotein with promising potential [J] . Trends in Food Science & Technology,2010,21:455-463.

[15] Offengenden M, Fentabil M A, Wu J P. N - glycosylation of ovomucin from hen egg white[J].Glycoconjugate Journal,2011,28:113-123.

[16] Cegielskaradziejewska R, Lesniewski G, Szablewski T, et al. Physico - chemical properties and antibacterial activity of modified egg white - lysozyme [J] . European Food Research and Technology,2010,231:959-964.

[17] Jimenezsaiz R, Martos G, Carrillo W, et al. Susceptibility of lysozyme to in-vitro digestion and immunoreactivity of its digests [J].Food Chemistry,2011,127:1719-1726.

[18] Daeschel M A, Zhao Y. Lysozyme and its antimicrobial application in foods and beverages[J].Abstracts of Papers of the American Chemical Society,2009,237:67-67.

[19] Kerkaert B, Mestdagh F, Meulenaer B. Detection of hen ' s egg white lysozyme in food: Comparison between a sensitive HPLC and a commercial ELISA method[J].Food Chemistry,2010,120:580-584.

[20] Guimaraes G C, Rojas E E G, Coelho M C, et al. Adsorption kinetics and thermodynamic parameters of egg white proteins[J].European Food Research and Technology,2011,232:985-993.

[21] Fujita H, Sasaki R, Yoshikawa M. Potentiation of the antihypertensive activity of orally administered ovokinin, a vasorelaxing peptide derived from ovalbumin, by emulsification in egg phosphatidylcholine [J] . Bioscience Biotechnology and Biochemistry,1995,59:2344-2345.

[22] You S J, Udenigwe C C, Aluko R E, et al. Multifunctional peptides from egg white lysozyme [J] . Food Research International,2010,43:848-855.

[23] Davalos A, Miguel M, Bartolome B, et al. Antioxidant activity

of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis[J].Journal of Food Protection,2004,67:1939-1944.

[24] Wang J, Liang Y, Omana D A, et al. Proteomics Analysis of Egg White Proteins from Different Egg Varieties [J] . Journal of Agricultural and Food Chemistry,2012,60:272-282.

[25] Wu J P, Aluko R E, Muir A D. Improved method for direct high - performance liquid chromatography assay of angiotensin - converting enzyme - catalyzed reactions [J] . Journal of Chromatography A,2002,950:125-130.

[26] Wu J P, Aluko R E, Muir A D. Purification of angiotensin I - converting enzyme - inhibitory peptides from the enzymatic hydrolysate of defatted canola meal [J] . Food Chemistry, 2008, 111:942-950.

[27] Wu J, Acerolopez A. Ovotransferrin: Structure, bioactivities, and preparation [J] . Food Research International, 2012, 46: 480-487.

[28] Wu J P, Aluko R E. Quantitative structure - activity relationship study of bitter di - and tri - peptides including relationship with angiotensin I - converting enzyme inhibitory activity[J].Journal of Peptide Science,2007,13:63-69.

[29] Wu J P, Aluko R E, Nakai S. Structural requirements of angiotensin I - converting enzyme inhibitory peptides: Quantitative structure - activity relationship study of di - and tripeptides [J] . Journal of Agricultural and Food Chemistry,2006,54:732-738.

[30] Lv L, Chi Y J. Improvement of functional properties of ovalbumin phosphorylated by dry - heating in the presence of pyrophosphate [J] . European Food Research and Technology, 2012,235:981-987.

[31] Chen C, Chi Y J. Antioxidant, ace inhibitory activities and functional properties of egg white protein hydrolysate[J].Journal of Food Biochemistry,2012,36:383-394.

[32] Chen C, Chi Y J, Lv L. Purification and identification of antioxidant peptides from egg white protein hydrolysate[J].Amino Acids,2012,43:457-466.

[33] Yu Z P, Zhao W Z, Liu J B, et al. QIGLF, a novel angiotensin I - converting enzyme - inhibitory peptide from egg white protein [J].Journal of the Science of Food and Agriculture,2011,91:921-926.

[34] Yu Z P, Liu B Q, Zhao W Z, et al. Primary and secondary structure of novel ACE - inhibitory peptides from egg white protein [J].Food Chemistry,2012,133:315-322.

[35] Yu Z P, Yin Y G, Zhao W Z, et al. Characterization of ACE - Inhibitory Peptide Associated with Antioxidant and Anticoagulation Properties[J].Journal of Food Science,2011,76: C1149-C1155.

[36] Yu Z P, Yin Y G, Zhao W Z, et al. Anti - diabetic activity peptides from albumin against alpha - glucosidase and alpha - amylase[J].Food Chemistry,2012,135(3):2078-2085.

membrane for affinity purification of biopolymers and immunoadsorption[J].Journal of Membrane Science,2002,197(1):185-197.

(上接第386页)

润土凝胶的制备及吸附性能研究[J].化工新型材料,2014,42(2):130-132.

[57] Yang L, Hsiao W, Chen P. Chitosan - cellulose composite