

# 脂质中的蛋白质与多肽 及其对脂质品质的影响

潘林萍, 杨国龙\*, 毕艳兰, 马宇翔  
(河南工业大学粮油食品学院, 河南郑州 450052)

**摘要:**脂质中蛋白质和多肽的存在在一定程度上影响了脂质的品质。本文介绍了植物油和磷脂产品中蛋白质与多肽的分离和分析方法, 并对其在脂质氧化稳定性、食品安全性(主要是过敏性)方面的影响进行了详细的论述, 以期为脂质产品品质的提高提供参考。

**关键词:**蛋白质, 多肽, 脂质, 分离分析, 氧化稳定性, 过敏性

## Overview of protein and peptide in lipids and their effects on the quality of lipids

PAN Lin-ping, YANG Guo-long\*, BI Yan-lan, MA Yu-xiang

(School of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450052, China)

**Abstract:** The proteins and peptides presented in lipid matrixes might affect the quality of the lipids. This review discussed the separation and determination methodology of the proteins and peptides in the edible oils and phospholipids. The effects of the proteins and peptides on oil oxidation stability and food safety, allergenicity mainly, were also described in order to supply the reference to the improvement of the lipids quality.

**Key words:** proteins; peptides; lipids; separation and determination; oxidation stability; allergenicity

中图分类号: TS201.2<sup>+</sup>2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)03-0337-03

脂质可分为甘三酯和非甘三酯两大类。甘三酯即通常说的油脂, 能够提供能量, 赋予食品特殊的风味及口感, 是人们生活中不可或缺的重要物质。天然油脂以甘油三酯为主要成分, 同时含有甘一酯、甘二酯、磷脂、维生素 E、色素、植物甾醇等多种低含量成分。磷脂特别是大豆磷脂以其特有的保健功效, 近年来日益受到人们的关注和认可。但是, 在这些脂质的生产过程中, 原料中的部分蛋白质和多肽会转移到最终的产品中, 这部分的蛋白质和多肽含量较小<sup>[1,2]</sup>, 通常作为杂质而未引起重视。最近有研究表明, 一些脂类产品中蛋白质及多肽的存在对脂类产品的稳定性和安全性有一定的影响<sup>[3,4]</sup>。本文对脂质-油脂和磷脂中的蛋白质和多肽的分离分析及其对脂质品质的影响进行了概述。

## 1 脂质中蛋白质与多肽

### 1.1 脂质中蛋白质与多肽的分离

Hidalgo<sup>[1]</sup>等人对橄榄油中的蛋白质及多肽进行分离, 主要分离步骤如下: 油脂预冷却至 18℃ → 丙酮充

分溶解 → 低温静置 → 过滤 → 四氢呋喃及二氧六烷洗涤提取物 → 提取物干燥。在该实验条件下, 橄榄油中的蛋白质含量介于 7~51 μg/100g 范围内。

Carmen<sup>[2]</sup>等人利用溶剂沉淀的方法分离大豆磷脂中的蛋白质, 主要分离步骤如下: 溶剂预冷却 → 充分溶解磷脂 → 低温静置 → 高速离心分离 → 溶剂洗涤沉淀数次 → 烘干沉淀。分别考察了正己烷-丙酮、异丙醇-正己烷-水及氯仿-甲醇-水的分离效果, 在该实验条件下, 异丙醇-正己烷-水的分离效果最佳。

### 1.2 脂类物质中蛋白质及多肽的分析

目前蛋白质检测方法主要有: Bradford 法(考马斯亮蓝法)、Lowry 法(Folin-酚试剂法)、凯氏定氮法、紫外吸收法、BCA 法(二辛可宁酸法)及酶联免疫吸附实验(ELISA)法等<sup>[5]</sup>。

Georgalaki<sup>[6]</sup>利用非精炼的橄榄油考察了 Lowry 法和 Bradford 法对油脂中蛋白质定量的差异, 结果显示, Lowry 法测得的蛋白质的平均含量为 0.38 mg/mL, 明显高于 Bradford 法的定量结果 0.03 mg/mL。

Nedjma Zitouni<sup>[7]</sup>采用微量 Bradford 法考察精炼过程中蛋白质含量的变化。在该实验中, 未精炼的葵花籽油蛋白质含量为 13.6 μg/mL, 经过碱炼、预脱胶后降低到 11.56 μg/mL, 水洗、漂白脱胶后最终的精炼葵花油中蛋白含量为 1.63 μg/mL。该实验同时使用 SDS-PAGE 对葵花籽油中的致敏蛋白定性, 证明

收稿日期: 2008-06-02 \* 通讯联系人

作者简介: 潘林萍(1983-), 女, 硕士研究生, 主要从事油脂化学方面的研究。

基金项目: 河南工业大学博士启动基金(150198)。

葵花油的致敏蛋白分子量为 6.7kDa。这种蛋白即使在精炼的葵花油中仍然存在,含量达到 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

Paschke<sup>[8]</sup>分别考察了精炼大豆油和非精炼大豆油中蛋白质的含量,利用溶剂沉淀的方法对油脂中的蛋白质进行沉淀,分别使用 Bradford 法及十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法(SDS-PAGE)进行蛋白质的定量和定性。该研究条件下,精炼大豆油中的蛋白质含量约为 35 $\mu\text{g}/\text{L}$ ,而非精炼大豆油中的蛋白质含量约为 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ ,是精炼大豆油的三倍。

Hidalgo<sup>[1]</sup>运用高效液相色谱(HPLC)进行氨基酸分析,对 34 种不同种类的橄榄油中的蛋白质进行定量。该实验中未精炼的橄榄油中蛋白质含量约为 17.96  $\pm$  10.62 $\mu\text{g}/100\text{g}$ ,精炼的橄榄油中蛋白质含量约为 12.60  $\pm$  3.71 $\mu\text{g}/100\text{g}$ ,二者并没有显著差异。该研究同时发现,经过物理精炼的橄榄油其蛋白质含量约为 8.57  $\pm$  0.33 $\mu\text{g}/100\text{g}$ ,显著低于化学精炼的橄榄油的测量值 14.61  $\pm$  2.58 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。

Paschke<sup>[8]</sup>同时考察了几种大豆磷脂中的蛋白质含量,结果发现,大豆磷脂中的蛋白质含量介于 2303 ~ 2689mg/kg 之间,远远高于大豆油。这一研究结果与 Awazuhara 用 Lowry 法定量的测定结果 2800mg/kg 较为接近。Müller 利用酶联免疫吸附实验(ELISA)进行了类似的研究,测出大豆磷脂中的蛋白质含量高于上述两组数据,约为 3100mg/kg。

Carmen<sup>[2]</sup>在实验中对比了 Bradford 法、氨基酸分析法及 BCA 等方法对几种磷脂中蛋白质定量效果的差异。结果表明,同等实验条件下,使用 BCA 法测得的蛋白质含量显著高于氨基酸分析法,而在一定范围内(7~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),Bradford 法测得的数据与氨基酸分析法较为接近。

脂类产品中分离出来的蛋白质含有微量的油脂和酚类化合物,会对 Lowry 法及 Bradford 法的定量产生一定的影响,使得测量数据偏高;ELISA 方法的定量结果与所采用的抗原或抗体有一定的关系;氨基酸分析法及凯氏定氮法是目前认为较为准确可靠的蛋白质定量方法,但方法费时。

## 2 蛋白质与多肽对脂质品质的影响

### 2.1 蛋白质及多肽对油脂氧化稳定性的影响

Hayes 及 Bookwalter 等人<sup>[9]</sup>对大豆粉及其衍生物的抗氧化能力进行研究,指出大豆中含有的少量氨基酸(可能为半胱氨酸)及多肽具有一定的抗氧化能力。

Alaiz 和 Hidalgo<sup>[10]</sup>认为,蛋白质与脂质氧化的产物反应后可以增强蛋白质的抗氧化能力,并利用牛血清蛋白对此进行研究,结果表明,在添加量为 10~50mg/kg 时,大豆油的氧化稳定性有所增强。

Rosario Zamora<sup>[11]</sup>将橄榄油中提取出的蛋白质(主要为分子量在 4600Da 的多肽)添加到精炼的大豆油中,测试该蛋白的抗氧化能力,该实验将大豆油加热到 60 $^{\circ}\text{C}$ ,避光保存 216h,利用硫代巴比妥酸值来检测油脂的氧化程度。在相同实验条件下,添加 20mg/kg 蛋白质的大豆油其硫代巴比妥酸值低于未添加的大豆油,表明这种蛋白能起到一定的抗氧化

作用,但并不显著。

Hidalgo<sup>[1]</sup>利用 Rancimat 法考察了油脂中多肽及蛋白质、维生素 E 等微量组分对油脂氧化稳定性的影响,研究表明,在该实验条件下,油脂中的蛋白质并未表现出明显的抗氧化性。

### 2.2 蛋白质与多肽对脂质安全性的影响

联合国粮农组织(FAO)于 1995 年报道的八类过敏食物分别为牛奶、鸡蛋、鱼、甲壳类、大豆、花生、核果类以及小麦,约占所有食物过敏原的 90% 以上。食物中能使机体产生过敏反应的抗原分子称为食物过敏原,它们大多为蛋白质。作为重要的油料作物,花生、大豆在食品业有着非常广泛的应用,然而由它们引发的过敏反应却最为常见。已有研究证实,大豆中的主要致敏原为 Glym Bd30K、Glym Bd28K 和  $\beta$ -7s 伴大豆球蛋白,花生中的主要过敏原为 Ara h1(豌豆球蛋白)和 Ara h2(羽扇豆球蛋白)。在脂类产品的制备过程中,部分的蛋白质与多肽从油料中转移到油脂中,使产品中含有一定量的过敏原。

Morenet-Vautrin 等<sup>[12]</sup>利用四例花生油恶化湿疹性皮炎的病例来证实花生油可以引发直接的过敏反应,并对四名花生过敏症患者进行了双盲安慰剂对照的食物激发测试(DBPCFC),在花生油的考察剂量为 5mL 的条件下,四名患者的 DBPCFC 测试均显阳性,表明该实验条件可以引发患者的过敏性反应。

Hourihane 等<sup>[13]</sup>用未精炼花生油 and 全精炼花生油对 60 位花生过敏症患者进行 DBPCFC 测试,其结果却与 Moneret-Vautrin 有较大差异。在该实验中,60 位患者对全精炼花生油并没有产生过敏性反应,只有 6 位患者对未精炼的花生油发生过敏性反应。因此 Hourihane 等人认为,精炼的花生油并不存在过敏性的威胁。

Bush<sup>[14]</sup>等人用精炼大豆油和冷榨花生油对花生过敏症患者进行 DBPCFC 测试,在考察剂量为 15mL 的条件下,所有患者都没有出现过敏现象。

Taylor<sup>[15]</sup>利用市售大豆油对 28 位过敏症患者进行 DBPCFC 测试,结果表明,这些大豆油并未引发患者的过敏性反应。因此 Taylor 等人称浸出大豆油经过脱色、脱臭后并不会导致过敏症者的反应,但是压榨油的致敏性尚不清楚。

油脂的精炼程度及方式直接关系着精炼油脂中致敏蛋白的含量,Teuber<sup>[16]</sup>利用实验证明,冷榨油脂中的致敏蛋白含量最高。目前对植物油,特别是花生油及大豆油能否导致过敏性反应尚无定论,已有的研究由于油脂精炼程度的差异、患者对过敏原耐受程度不同以及油脂的食用方式不同等原因,导致结论各不相同。

## 3 结论

脂类物质中蛋白质及多肽虽然含量低,但却对脂类产品的稳定性和安全性产生一定的影响。虽然蛋白质的定量是生物化学中最常用、最基本的分析方法之一,但是对脂类物质中蛋白质的准确定量和检测却存在一定的难度,尚无标准方法见诸报端。此外对脂类产品中致敏蛋白的含量、引发过敏反应

的最小致敏量等研究目前尚未深入开展。建立稳定的蛋白质检测方法还不仅能够监测脂类产品加工过程中蛋白质及多肽含量的变化,从而有助于改善生产工艺,同时有助于增强产品的安全性,防范可能存在的致敏风险。

### 参考文献:

- [1] Hidalgo F J, Alaiz M, Zamora R. Low molecular weight polypeptides in virgin and refined olive oils [J]. J Am Oil Chem Soc, 2002, 79(7): 685~689.
- [2] Carmen M-H, Sylvie B, Laure F M-G. Characterization and quantification of proteins in lecithins [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(23): 8607~8613.
- [3] Hidalgo F J, Zamora R. Peptides and proteins in edible oils: stability, allergenicity, and new processing trends [J]. Trend Food Sci Technol, 2006, 17(1): 56~63.
- [4] Crevel R W R, Kerkhoff M A T, Koning M M G. Allergenicity of refined vegetable oils [J]. Food and Chem Toxic, 2000, 38(4): 385~393.
- [5] 王家政, 范明. 蛋白质技术手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [6] Georgalaki M D, Sotiropoulos T G, Xenakis A. The presence of oxidizing enzyme activities in virgin olive oil [J]. J Am Oil Chem Soc, 1998, 75(2): 155~159.
- [7] Zitouni N, Errahali Y, Metche M, et al. Influence of refining steps on trace allergenic protein content in sunflower oil [J]. J Allergy Clin Immunol, 2000, 106(5): 962~967.
- [8] Paschke A, Zunker K, Wigotzki M, et al. Determination of the IgE-binding activity of soy lecithin and refined and non-refined soybean oils [J]. J Chromatography B, 2001, 756: 249~254.
- [9] Hayes R E, Bookwalter G N, Bagley E B. Antioxidant activity of soybean flour and derivatives—a review [J]. J Food Sci, 1977, 42(6): 1527~1532.
- [10] Alaiz M, Hidalgo F J. Antioxidative activity of nonenzymatically browned proteins produced in oxidized lipid/protein reactions [J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(13): 1365~1369.
- [11] Zamora R, Alazi M, Hidalgo F J. Influence of cultivar and fruit ripening on olive (olea europaea) fruit protein content, composition, and antioxidant activity [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49(21): 4267~4270.
- [12] Morenet-Vautrin D A, Rance F, Kanny G, Olsewski A, et al. Food allergy to peanuts in France – Evaluation of 142 observations [J]. Clin Exp Allergy, 1998, 28(9): 1113~1119.
- [13] Hourihane J O' B, Bedwani S J, Dean T P, Warner J O. Randomized, double blind, crossover challenge study of allergenicity of peanut oils in subjects allergic to peanuts [J]. British Med J, 1997, 314: 1084~1088.
- [14] Bush R K, Taylor S L, Nordlee J A, et al. Soybean oil is not allergenic to soybean sensitive individuals [J]. Allergy Clin Immunol, 1985, 76(3): 242.
- [15] Taylor S L, Nordlee J A, Sicherer S H, et al. Soybean oil is not allergenic to soybean allergic individuals [J]. J Allergy Clin Immunol, 2003, 113(2S1): s99.
- [16] Teuber S S, Brown R L, Haapanen L A D, et al. Allergenicity of gourmet oils processed by different methods [J]. J Allergy Clin Immunol, 1997, 99(4): 502~507.
- [17] Cheftel J C, Thiebaud M, Dumay E. High pressure – low temperature processing of food; a review [A]. In: Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology II [M]. ed by Roland Winter Springer, 2003.
- [18] Schubring R, Meyer C, Boguslawski S, Knorr D. Impact of high pressure assisted thawing on the quality of fillets from various fish species [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2003, 4(3): 257~267.
- [19] Takai R, Kozhima T, Suzuki T. Low temperature thawing by using high-pressure [A]. In: Proceedings of the 17th International Conference on Food Science and Technology [C]. Montreal, France, 1991, 4: 1951~1955.
- [20] Urrutia Benet G, Chapleau N, Lille M, et al. Quality related aspects of high pressure low temperature processed whole potatoes [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2006(7): 32~39.
- [21] 周家春. 食品工业新技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004, 10: 395~398.
- [22] 李勇. 食品冷冻加工技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004, 12: 60~62.
- [23] 李汴生, 曾庆孝. 食品的低温高压处理技术及其研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(1): 59~64.
- [24] 刘云宏, 朱文学, 董铁有, 张仲欣. 食品高压杀菌技术 [J]. 食品科学, 2005, 26(增刊): 155~158.
- [25] Luscher C, Schlöter O, Knorr D. High pressure – low temperature processing of foods: impact on cell membranes, texture, color and visual appearance of potato tissue [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2005(6): 59~71.
- [26] LeBail A, Chevalier D, Mussa D M, et al. High pressure freezing and thawing of foods: a review [J]. International Journal of Refrigeration, 2002(25): 504~513.
- [27] Otero L, Ousegui A, Urrutia Benet G, et al. Modelling industrial scale high-pressure-low-temperature processes [J]. Journal of Food Engineering, 2007(83): 136~141.

(上接第 336 页)

location of ice crystals in pork frozen by high-pressure assisted freezing as compared to classical methods [J]. Meat Science, 1998, 50(3): 303~313.

[13] Cheftel J C, Thiebaud M, Dumay E. High pressure – low temperature processing of food; a review [A]. In: Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology II [M]. ed by Roland Winter Springer, 2003.

[14] Cheftel J C, Thiebaud M, Dumay E. Pressure – assisted freezing and thawing of foods: a review of recent studies [J]. High Pressure Research, 2002, 22: 601~611.

[15] LeBail A, Chevalier D, Mussa D M, Ghoul M. High pressure freezing and thawing of foods: a review [J]. Intern. J. Refrigeration, 2002, 25: 504~513.

[16] Schubring R, Meyer C, Boguslawski S, Knorr D. Impact of high pressure assisted thawing on the quality of fillets from various fish species [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2003, 4(3): 257~267.

[17] Takai R, Kozhima T, Suzuki T. Low temperature thawing by using high-pressure [A]. In: Proceedings of the 17th International Conference on Food Science and Technology [C]. Montreal, France, 1991, 4: 1951~1955.

[18] Urrutia Benet G, Chapleau N, Lille M, et al. Quality related

aspects of high pressure low temperature processed whole potatoes [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2006(7): 32~39.

[19] 周家春. 食品工业新技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004, 10: 395~398.

[20] 李勇. 食品冷冻加工技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004, 12: 60~62.

[21] 李汴生, 曾庆孝. 食品的低温高压处理技术及其研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(1): 59~64.

[22] 刘云宏, 朱文学, 董铁有, 张仲欣. 食品高压杀菌技术 [J]. 食品科学, 2005, 26(增刊): 155~158.

[23] Luscher C, Schlöter O, Knorr D. High pressure – low temperature processing of foods: impact on cell membranes, texture, color and visual appearance of potato tissue [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2005(6): 59~71.

[24] LeBail A, Chevalier D, Mussa D M, et al. High pressure freezing and thawing of foods: a review [J]. International Journal of Refrigeration, 2002(25): 504~513.

[25] Otero L, Ousegui A, Urrutia Benet G, et al. Modelling industrial scale high-pressure-low-temperature processes [J]. Journal of Food Engineering, 2007(83): 136~141.