

高压处理对乳铁蛋白分子结构的影响

夏彦君, 谭伟*, 巴根纳, 王彦平

内蒙古伊利实业集团股份有限公司 内蒙古呼和浩特

【摘要】乳铁蛋白具有多种生物活性,在食品、医药等领域具有广泛应用前景。但其分子结构和功能特性易受外界环境影响。本文采用不同压力条件(包括超静压、均质和微射流)对乳铁蛋白进行处理,并测量了处理前后乳铁蛋白的整体粒径、分子尺寸及电位等参数的变化。结果显示,均质1200bar下乳铁蛋白粒径最高,超静压、微射流能够降低蛋白粒径。不同的超静压压力对乳铁蛋白粒径无显著影响,微射流2000bar时乳铁蛋白粒径显著低于微射流1600bar。不同的高压处理方式及压力水平对乳铁蛋白分子的尺寸无明显影响,分子尺寸均维持在2.21~2.51nm之间。超静压和微射流处理可以降低乳铁蛋白影响 ζ -电位,而均质1500bar处理时乳铁蛋白的 ζ -电位能够保持不变。乳铁蛋白在不同高压处理条件下光学性质具有一定的稳定性。本文的研究为乳铁蛋白在工业化应用中的稳定性优化提供了理论依据和技术参考。

【关键词】高压处理;乳铁蛋白;分子结构

【收稿日期】2024年5月12日

【出刊日期】2024年6月21日

【DOI】10.12208/j.jafs.20240016

The influence of high-pressure treatment on the molecular structure of lactoferrin

Yanjun Xia, Wei Tan*, Genna Ba, Yanping Wang

Inner Mongolia Yili Industrial Group Co., Ltd., Hohhot, Inner Mongolia

【Abstract】Lactoferrin has a variety of biological activities, and has wide application prospects in food, medicine and other fields. However, its molecular structure and functional properties are easily affected by the external environment. In this paper, lactoferrin was treated under different pressure conditions (including overstatic pressure, homogeneity and microjet), and the changes of global particle size, molecular size and potential of lactoferrin before and after treatment were measured. The results showed that the particle size of lactoferrin was the highest at the homogeneous 1200bar, and the particle size of lactoferrin could be reduced by superstatic pressure and microjet. Different superstatic pressure has no significant effect on the particle size of lactoferrin, and the particle size of lactoferrin is significantly lower than that of microjet 1600bar when microjet is 2000bar. Different high-pressure treatment methods and pressure levels had no obvious effect on the size of lactoferrin molecules, and the molecular size remained between 2.21 and 2.51nm. Superstatic pressure and microjet treatment can reduce the effect of lactoferrin on zeta - potential, but the zeta - potential of lactoferrin can remain unchanged when treated with 1500bar. The optical properties of lactoferrin are stable under different high-pressure conditions. The research in this paper provides theoretical basis and technical reference for the stability optimization of lactoferrin in industrial application.

【Keywords】High-pressure treatment; Lactoferrin; Molecular structure

前言

乳铁蛋白(Lactoferrin, LF)作为一种多功能性蛋白质,广泛存在于哺乳动物乳汁及其他多种分泌

液中^[1],因其独特的生物活性和营养功能而备受关注。乳铁蛋白不仅具有广谱的抗菌、抗病毒、抗氧化及免疫调节等生物活性,还在促进铁吸收、细胞生

作者简介:夏彦君(1992)男,汉族,内蒙古乌兰察布人,硕士,研发工程师,主要研究方向:食品加工;

*通讯作者:谭伟(1981)男,汉族,山东郓城人,硕士,从事常温长货架期乳制品的开发。

长和分化等方面发挥着重要作用^[2]。然而, 乳铁蛋白的分子结构和功能特性极易受到外界环境的影响, 包括温度、pH 值、离子强度以及机械力等^[3]。高压处理是一种非热加工技术, 近年来在食品工业中得到了广泛应用^[4], 能够在不引起显著温度升高的条件下, 通过改变蛋白质分子间的相互作用力, 从而影响其结构和功能特性。这种处理方式不仅能够有效保留食品中的营养成分和风味物质, 还能杀灭微生物, 延长食品的保质期^[5]。本文旨在探讨不同压力条件(包括超静压、均质和微射流等)对乳铁蛋白分子结构的影响, 以期对乳铁蛋白的工业化应用提供有益的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

乳铁蛋白, 澳大利亚大拓, 纯度 $\geq 92\%$ 。

高压均质机, 高压微射流均质机, 高静压杀菌机, 安拓思纳米技术有限公司; 动态光散射粒度分析仪, 英国 Malvern Panalytical 公司; Zeta 电位仪, 美国 Brookhaven Instruments 公司; 荧光分光光度计, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 高压处理分组

空白组: 未经任何高压处理的 LF 样品。

超静压组: 将 LF 样品分别置于 4000bar、5000bar 的压力下进行处理。

均质组: 将 LF 样品通过均质机的狭窄通道, 分别设置 1200bar、1500bar。

微射流组: 将 LF 分别置于 1600bar、2000bar 下加速至高速。

1.2.2 粒径的测定

将 LF 样品过 $3\ \mu\text{m}$ 膜, 置于一次性聚乙烯比色皿中。使用动态光散射仪在室温条件下进行测量。每个样品在 25°C 下平衡 120 秒, 平行测三次以获取平均直径。

1.2.3 分子尺寸的测定

将 LF 样品溶解在适当的溶剂中, 使用动态光散射仪对样品进行测量。

1.2.4 ζ -电位的测定

使用电位测定仪直接测量各组 LF 样品的 ζ -电位。

1.2.5 荧光光谱测定

将各组 LF 样品溶解在磷酸盐缓冲液(PBS)中, 设置荧光光谱仪激发波长为 292nm, 激发和发射狭

缝宽度均为 5 nm, 记录发射波长 300~500 nm 范围的荧光光谱, 获得荧光发射光谱图。

1.2.6 数据分析

每个样品均检测五次, 结果用平均值 \pm 标准差 ($M\pm SD$)表示。利用 SPSS 26.0 进行单因素 ANOVA 分析, $P<0.05$ 为具有统计学意义。利用 Origin 9.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 粒径分析

由图 1 可知, 经过超静压、均质、微射流三种高压处理后的 LF 分子粒径与空白组均有显著差异 ($P<0.05$), 其中均质 1200bar 下 LF 粒径最高, 其他处理组 LF 粒径显著低于空白组。表明高压处理是改变 LF 粒径的有效方法, 不同的超静压处理下 LF 粒径无显著差异 ($P>0.05$), 微射流 2000bar 时 LF 粒径显著低于微射流 1600bar。

在 1200bar 的均质压力下, LF 的粒径达到最高值, 可能是由于在该压力下, LF 分子间的相互作用或聚集方式发生了特定变化, 导致粒径增大。然而, 1500bar 的均质压力处理条件下 LF 粒径仍然显著降低, 说明均质处理具有减小 LF 粒径的效果, 但效果受压力参数影响。

不同超静压处理条件下, LF 的粒径并未表现出显著差异 ($P>0.05$), 表明超静压压力变化对 LF 粒径的影响较小或达到了一种平衡状态, 不受压力变化影响。随着微射流压力从 1600bar 增加到 2000bar, LF 的粒径显著降低 ($P<0.05$)。

这表明微射流处理在更高压力下能更有效地减小 LF 的粒径, 可能是因为更高的压力导致了更强烈的剪切力和冲击力, 从而破坏了 LF 分子间的相互作用, 使其粒径减小。

2.2 分子尺寸分析

图 2 结果显示, 在采用不同的高压处理方式和不同压力水平对 LF 进行处理后, 尽管处理条件有所不同, 但 LF 分子的尺寸并未发生显著性变化 ($P>0.05$), 所有空白组和处理组的分子尺寸均维持在 2.21~2.51nm 之间。

说明高压处理并未导致 LF 分子发生显著的聚集或解聚, 从而保持了其原有的分子形态和大小, 揭示了 LF 在高压处理下的稳定性。尽管实验采用了不同的高压处理方式, 但对 LF 分子尺寸的影响上是相似的。

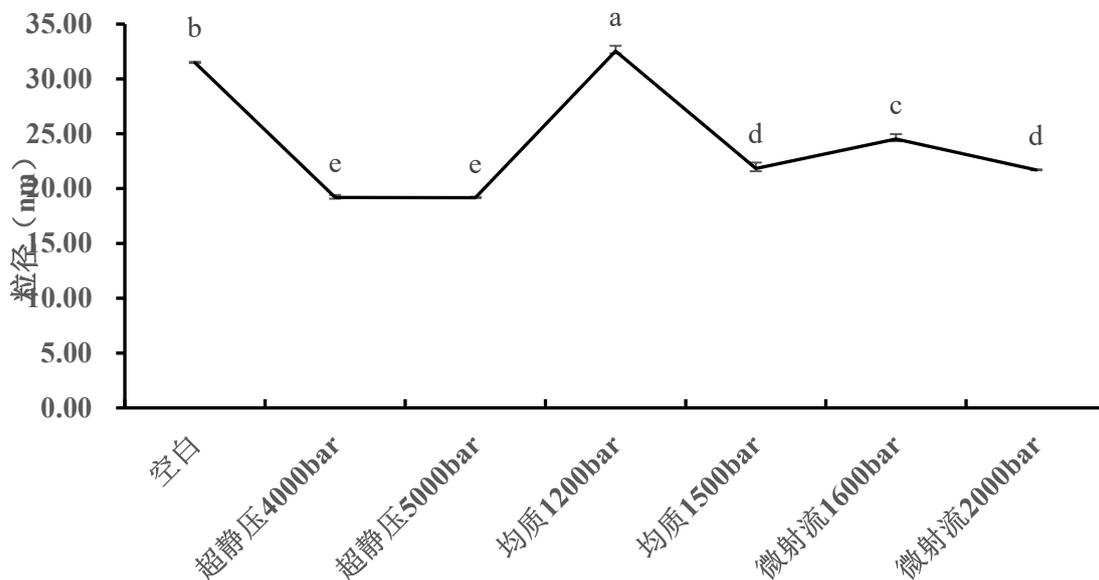


图1 各组乳铁蛋白粒径结果

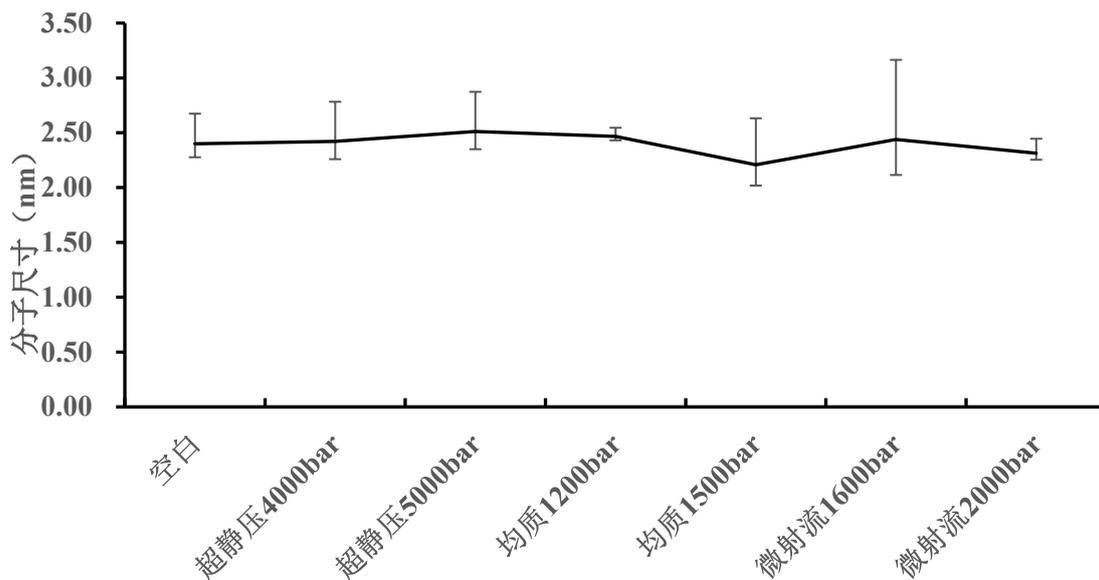


图2. 各组乳铁蛋白分子尺寸结果

2.3 ζ -电位分析

图3结果显示, 均质 1500bar 处理时 LF 的 ζ -电位与空白组无显著性差异 ($P > 0.05$), 均质 1200bar 处理以及超静压、微射流高压处理组之间的 ζ -电位无明显差异, 但显著低于空白组 ($P < 0.05$)。

超静压和微射流处理在各自的压力范围内对 LF 的 ζ -电位产生了相似的影响, 在这高压过程中 LF 构象发生了改变, 导致其表面电荷分布或暴露程度发生了变化, 包括蛋白质链的伸展、折叠或聚集, 在处理过程中, LF 分子可能与溶液中的离子 (如 H^+ 、

OH⁻、Na⁺、Cl⁻等)或其他小分子发生相互作用,导致LF表面的电荷被部分或完全中和,从而降低其 ζ -电位。但是超静压和微射流处理方式对 ζ -电位的影响与压力大小无关。对于均质高压处理,1200bar时 ζ -电位显著下降,LF可能发生了部分构象变化,导致表面电荷的分布和暴露程度发生了显著变化,从而降低了 ζ -电位。然而,当压力增加到1500bar时,LF构象变化可能已经达到了一个相对稳定的状态,压力变化对 ζ -电位的影响不再显著,这与前文均质1500bar下的LF粒径未增大的结果相吻合。

2.4 荧光光谱分析

LF荧光光谱分析通常利用LF中的内源性荧光基团(色氨酸残基)在特定激发波长下产生的荧光信号。这些信号可以反映LF的结构、构象变化以及与其他分子的相互作用情况。

本研究空白组和高压处理组的LF最大发射峰均为480nm。虽然高压处理可能对LF产生一定的影响,但并未显著改变LF的荧光发射特性^[6],表明LF在不同高压处理条件下光学性质具有一定的稳定性。

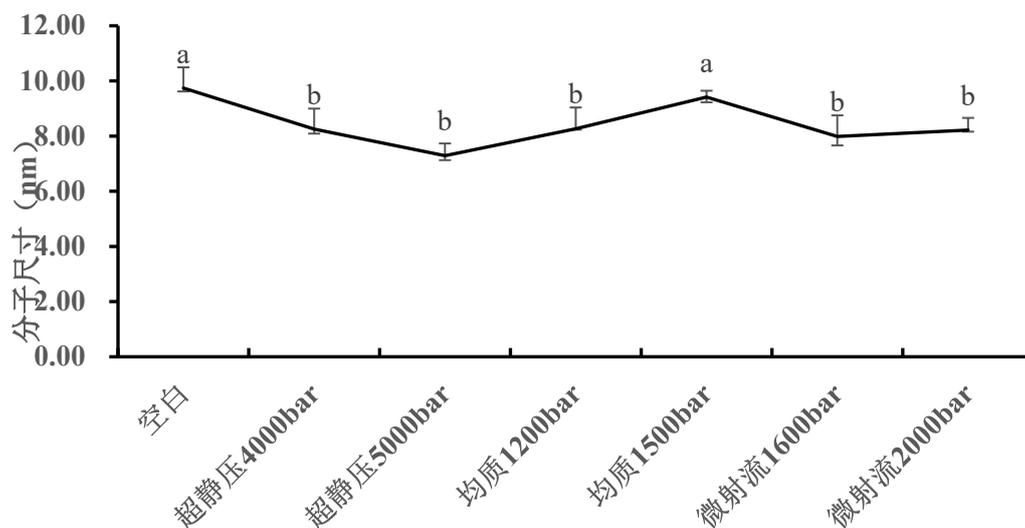


图3 各组乳铁蛋白 ζ -电位结果

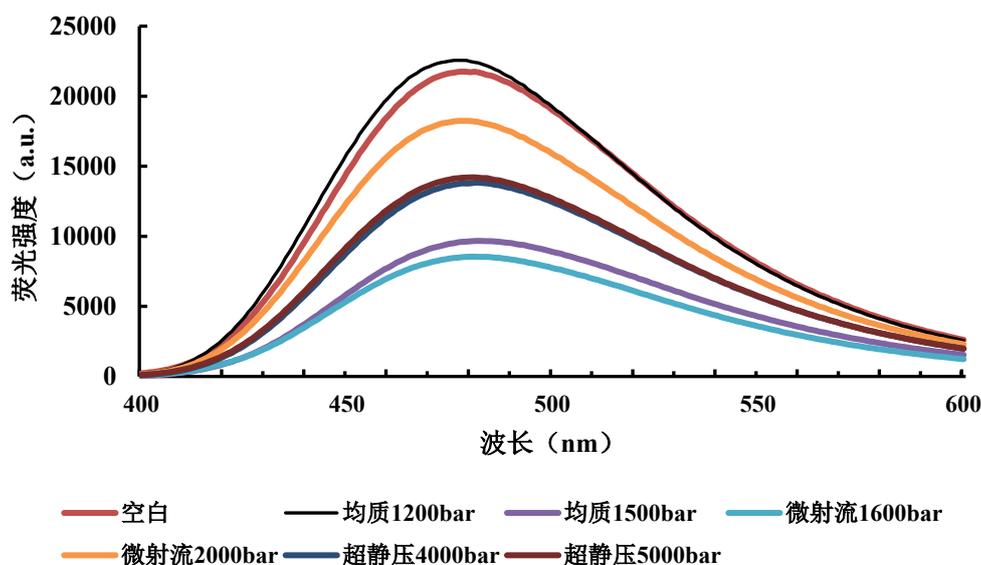


图4 各组乳铁蛋白荧光光谱图

3 结论

均质 1200bar 下 LF 粒径最高, 超静压、微射流能够降低 LF 粒径。不同的超静压压力对 LF 粒径无显著影响, 微射流 2000bar 时 LF 粒径显著低于微射流 1600bar。不同的高压处理方式及压力水平对 LF 分子的尺寸无明显影响, 分子尺寸均维持在 2.21~2.51nm 之间。超静压和微射流处理可以降低 LF 影响 ζ -电位, 而均质 1500bar 处理时 LF 的 ζ -电位能够保持不变。LF 在不同高压处理条件下光学性质具有一定的稳定性。

不同的高压处理方式对 LF 的物理和化学性质产生了不同的影响。均质处理主要影响粒径和 ζ -电位; 超静压处理对粒径影响不显著但可能改变 ζ -电位; 微射流处理则能够显著降低粒径并影响 ζ -电位。然而, 所有处理方式对 LF 的分子尺寸和光学性质影响较小, 表明其分子结构在这些处理条件下具有一定的稳定性, 为相关领域的研究和应用提供了有力支持^[7]。

参考文献

- [1] 张同童, 柳晓丹, 陈西, 等. 乳铁蛋白的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(12):4.
- [2] 唐传核, 曹劲松, 潘彬全, 等. 乳铁蛋白最新研究进展——

一结构、特性及生产制备方法[J]. 中国乳品工业, 2000, 28(3):14-17.

- [3] 桑亚新, 王向红, 孙纪录, 等. 乳铁蛋白及其生理功能研究进展[J]. 河北农业大学学报, 2003, 26(21):154-156.
- [4] 刘坚, 李艳红, 缪铭, 等. 超高压对不同缓冲体系中鹰嘴豆分离蛋白溶解性的影响[J]. 食品工业科技, 2007, 28(11):90-92.
- [5] 李志义, 刘学武. 液体蛋的超高压处理[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(4):94-97.
- [6] 文鹏程, 余丹丹, 汪昕昕, 等. 不同处理条件对乳铁蛋白构象的影响研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(1):4.
- [7] 刘猛, 杜明, 孔莹莹, 等. 牛乳乳铁蛋白的纯化及热处理对其分子特性的影响[J]. 食品科学技术学报, 2013, 31(02):26-30.

版权声明: ©2024 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS