

◎ 主编 郑建仙

活性肽

和

蛋白质生产

HUOXINGTAI HE DANBAIZHI SHENGCHAN GUANJIAN JISHU YU DIANXING FANLI

关键技术  
与  
典型范例



# 活性肽和蛋白质生产 关键技术与典型范例

主编 郑建仙

编著 郑建仙 朱海霞 黄寿恩  
耿立萍 饶志娟 贾呈祥  
谢 玲 葛亚中 曹 中

科学技术文献出版社

Scientific and Technical Documents Publishing House

北 京

**图书在版编目(CIP)数据**

活性肽和蛋白质生产关键技术与典型范例/郑建仙主编. -北京:科学技术文献出版社, 2006. 11

ISBN 7-5023-5421-2

I. 活… II. 郑… III. ①肽-生产工艺 ②蛋白质-生产工艺  
IV. TQ464.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 105563 号

出 版 者 科学技术文献出版社  
地 址 北京市海淀区西郊板井农林科学院农科大厦 A 座 8 层/100089  
图书编辑部电话 (010)51501739  
图书发行部电话 (010)51501720, (010)68514035(传真)  
邮 购 部 电 话 (010)51501729  
网 址 <http://www.stdpb.com>  
E-mail: stdpb@istic.ac.cn  
策 划 编 辑 袁其兴  
责 任 编 辑 杨 光  
责 任 校 对 唐 炜  
责 任 出 版 王杰馨  
发 行 者 科学技术文献出版社发行 全国各地新华书店经销  
印 刷 者 北京国马印刷厂  
版 ( 印 ) 次 2006 年 11 月第 1 版第 1 次印刷  
开 本 850×1168 32 开  
字 数 159 千  
印 张 6.625  
印 数 1~6000 册  
定 价 12.00 元

© 版权所有 违法必究

购买本社图书,凡字迹不清、缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责调换。

(京)新登字 130 号

## 内 容 简 介

活性肽和蛋白质具有各种不同的生物功效,近些年来备受关注,发展潜力巨大。本书共 6 章,详细讨论 8 种生物活性肽、2 种生物活性蛋白质、3 种高效甜味肽、3 种高效甜味蛋白质、1 种高效杀菌肽、2 种生物酶蛋白的关键生产技术,并列举 28 种典型的生产范例。第 1 章阐述谷胱甘肽、高 F 值低聚肽、酪蛋白磷肽、糖巨肽、降压肽、大豆肽、乳铁蛋白、金属硫蛋白生产的关键技术,第 2 章讨论免疫球蛋白、大豆球蛋白生产的关键技术,第 3 章探讨阿斯巴甜、阿力甜、纽甜生产的关键技术,第 4 章论述嗦吗甜、Brazzein、莫奈林生产的关键技术,第 5 章叙述乳链球菌素生产的关键技术,第 6 章论述超氧化物歧化酶、溶菌酶生产的关键技术。

本书立足科学性、实用性、简明性、启发性原则,利用国际互联网技术广泛吸收国外最新的研究成果,对今后相当长时间内活性肽和蛋白质生产技术的发展都具有重要的指导价值。可供食品工业、生物化工、医药工业、农产品加工等领域科研、生产单位从业人员和管理决策人员参考,对相关学科的院校师生也有重要的参考价值。

---

科学技术文献出版社是国家科学技术部系统惟一一家中央级综合性科技出版机构,我们所有的努力都是为了使您增长知识和才干。

## 前 言

食品是人类的永恒消费品,食品工业是一种与人类共存的永恒工业。在我国,食品工业已成为一个独立的工业体系。自 1997 年我国食品工业成为影响国民经济建设的第一大支柱产业开始,这个龙头老大的地位一直保持至今,并将继续保持下去。尽管取得如此辉煌的成绩,我国的食品工业基础仍然十分薄弱。在人类迈入了 21 世纪的今天,我们只有依靠科技进步,实现产业结构的优化与升级,才有可能步入世界食品工业大国的行列。

当今国际食品工业发展的新动态是:国际化、大型化、产业化、系列化、科技化、知识化、营养化、保健化。我国食品消费的发展战略是:讲究营养、保证卫生、重视保健、力求方便、崇尚美味、回归自然。

在探讨 21 世纪人类需要什么样的新型食品时,需要认真考虑食品配料这个问题,因为它在工业化食品上发挥着重要的作用。而且,食品工业的许多变化只有建立在得到并使用新食品配料的基础上才能实现,虽然这些变化起因于市场因素而并不是由食品配料本身引起的。

从营养学角度考虑,全球范围内人类食品的下列变化趋势是很明显的:

- ① 更多的优质蛋白和活性肽;
- ② 更少的饱和脂肪酸、更多的不饱和脂肪酸;
- ③ 更多的新型糖类,如膳食纤维、低聚糖;
- ④ 更低的能量;
- ⑤ 更能满足各种特殊营养消费群的特殊需求。

这些变化趋势已反映在目前人们逐渐形成的消费习惯和已出现的新型食品上,我们有理由相信这种变化进程将更加迅速,而且将会有更多的人关注这直接影响人类自身健康的大事。

在新世纪,消费者需要的是具有高品质、方便和有良好生理功效的工业化食品。在这方面,食品配料起着极其重要的作用。高新技术在食品工业中所占的比重不断增大,特别是生物技术的应用得以长足的发展,尤其是用在食品配料的生产上,这将有力地推动食品工业发生革命性的变化。

种类繁多的食品配料和食品添加剂,朝着营养、安全、高效、天然等方向发展。综观全球范围内,本世纪食品配料和食品添加剂的重点发展领域包括:

- ① 优质蛋白资源:如优质植物蛋白、真菌蛋白、微生物蛋白;
- ② 新型油脂资源:如  $\omega$ -3 多不饱和油脂、 $\omega$ -6 多不饱和油脂、微生物油脂;

③ 新型糖类资源:如膳食纤维、低聚糖、真菌多糖、多元糖醇、新型单双糖;

④ 低能量配料:如代脂肪、改性脂肪、模拟脂肪、高效甜味肽、高效甜味蛋白质;

⑤ 生物活性配料:如生物活性肽、植物活性成分、天然维生素;

⑥ 新型高效食品添加剂:如生物防腐剂、高效糖苷酶。

在一定程度上说,食品新配料或新添加剂的发展进程影响着食品工业的发展进程。为促进我国食品工业的进一步发展,我们组织国内有关科研力量,围绕着上述6种重点发展领域,精心编著了下列7种著作:

①《活性肽和蛋白质生产关键技术与典型范例》;

②《新型油脂生产关键技术与典型范例》;

③《新型糖类制品生产关键技术与典型范例》;

④《新型低聚糖生产关键技术与典型范例》;

⑤《新型糖苷酶生产关键技术与典型范例》;

⑥《植物活性物质生产关键技术与典型范例》;

⑦《维生素生产关键技术与典型范例》。

这些著作,是根据我们长期以来在本领域科研工作的积累,加上利用国际互联网技术广泛吸收国外最新研究成果精心编著而得。对各种食品新配料或新添加剂的生产方法、关键技术等,都做

了详细的讨论。这些资料是非常珍贵的,长期以来被严格保密着,而科研与生产人员却又是非常需要的。从这个意义上说,这些著作倾注着全体作者对中国食品工业的无私奉献精神。

这7种著作共列举了197种典型的生产范例,这些工作来源于全世界的研究成果。值出版之际,主编谨向所有为著作积累原始素材的专家学者们致以深深的感谢!

我们开展的科研工作,得到了国家自然科学基金委员会(项目编号:29772009,29906003和20576044)、广东省科学技术厅、广州市科学技术局的鼎力资助,在此表示诚挚的谢意!对合作进行科技攻关的友好公司,表示真诚的感谢!对科学技术文献出版社袁其兴先生长期以来的鼎力支持,表示衷心的感谢!对参加编著的各位作者,表示由衷的感谢!不妥之处,敬请来电020-87112278,或E-mail:fejxzhen@scut.edu.cn批评指正。

郑建仙



# 目 录

|                          |       |
|--------------------------|-------|
| 绪论                       | (1)   |
| 第一章 生物活性肽生产的关键技术         | (3)   |
| 范例 1 谷胱甘肽生产的关键技术         | (10)  |
| 范例 2 谷胱甘肽发酵法生产的关键技术      | (18)  |
| 范例 3 高 F 值低聚肽酶法生产的关键技术   | (35)  |
| 范例 4 酪蛋白磷肽酶法生产的关键技术      | (40)  |
| 范例 5 糖巨肽酶法生产的关键技术        | (44)  |
| 范例 6 降压肽酶法生产的关键技术        | (47)  |
| 范例 7 大豆肽酶法生产的关键技术        | (54)  |
| 范例 8 乳铁蛋白生产的关键技术         | (64)  |
| 范例 9 金属硫蛋白生产的关键技术        | (67)  |
| 第二章 生物活性蛋白质生产的关键技术       | (69)  |
| 范例 10 免疫球蛋白生产的关键技术       | (71)  |
| 范例 11 大豆球蛋白生产的关键技术       | (78)  |
| 第三章 高效甜味肽生产的关键技术         | (84)  |
| 范例 12 阿斯巴甜化学合成的关键技术      | (85)  |
| 范例 13 阿斯巴甜酶法生产的关键技术      | (90)  |
| 范例 14 利用固定化酶法生产阿斯巴甜的关键技术 | (99)  |
| 范例 15 利用基因工程法生产阿斯巴甜的关键技术 | (111) |
| 范例 16 阿力甜生产的关键技术         | (113) |
| 范例 17 纽甜生产的关键技术          | (123) |

---

|                                       |       |
|---------------------------------------|-------|
| <b>第四章 高效甜味蛋白质生产的关键技术</b> .....       | (131) |
| 范例 18 利用啤酒酵母基因工程法生产嗦吗甜的关键<br>技术 ..... | (137) |
| 范例 19 利用泡盛曲霉基因工程法生产嗦吗甜的关键<br>技术 ..... | (144) |
| 范例 20 利用基因工程法生产莫奈林的关键技术 .....         | (151) |
| 范例 21 利用基因工程法生产 Brazzein 的关键技术 ...    | (165) |
| <b>第五章 高效杀菌肽生产的关键技术</b> .....         | (170) |
| 范例 22 乳链球菌素发酵法生产的关键技术 .....           | (171) |
| <b>第六章 生物酶蛋白生产的关键技术</b> .....         | (182) |
| 范例 23 从牛血中提取超氧化物歧化酶的关键技术 ...          | (184) |
| 范例 24 从猪血中提取超氧化物歧化酶的关键技术 ...          | (187) |
| 范例 25 利用大蒜细胞生产超氧化物歧化酶的关键技术<br>.....   | (189) |
| 范例 26 从蛋清中提取溶菌酶的关键技术 .....            | (193) |
| 范例 27 从蛋壳中提取溶菌酶的关键技术 .....            | (196) |
| 范例 28 利用基因工程法生产溶菌酶的关键技术 .....         | (197) |
| <b>参考文献</b> .....                     | (199) |

# 绪 论

肽与蛋白质均由氨基酸通过肽键连接构成,区别只在于聚合度的大小,即前者的聚合度小,后者的聚合度大。氨基酸、肽和蛋白质均是机体组织细胞的基本组成成分,对机体生命活动有重要的作用。其中,活性肽与活性蛋白质专指那些有特殊生物活性的肽与蛋白质,如谷胱甘肽、降压肽、免疫球蛋白、酪蛋白磷肽和大豆肽等。这些特殊生物活性,包括清除自由基、降低血压、提高机体免疫力、促进钙吸收以及易消化吸收等。还有些肽或蛋白质,如阿斯巴甜、阿力甜、纽甜和乳链球菌素等,具有高强度的甜味或高效杀菌作用,作为高效甜味剂或生物防腐剂应用在食品工业中。

近百年来,全球科技突飞猛进,食品科学技术也随之得到相应的发展。食品工业配料或添加剂,从最初建立在成分物化性质基础上的提取分离制备,到而后基于对成分化学结构的了解而得以实现的化学合成制备,乃至近年来由于酶工程和基因工程的兴起,而使某些用常规方法无法或难以大量制备的成分能通过酶法或基因工程进行大规模生产制备成为现实。

下表汇总本书要讨论的 20 种活性肽与蛋白质的生物活性。本书重点讨论这些肽或蛋白质生产的关键技术。

表 0-1 活性肽与蛋白质的生物活性

| 肽或蛋白质    | 生物活性                  |
|----------|-----------------------|
| 谷胱甘肽     | 清除自由基,解毒,抗辐射,预防脂肪肝    |
| 高 F 值低聚肽 | 防治肝脑病,抗疲劳,易吸收         |
| 酪蛋白磷肽    | 促进钙吸收,预防骨质疏松,治疗贫血     |
| 糖巨肽      | 抑制食欲,减肥,促进肠道双歧杆菌增殖    |
| 降压肽      | 降血压                   |
| 大豆肽      | 易消化吸收,促进脂肪代谢,降低血清胆固醇  |
| 乳铁蛋白     | 促进铁吸收,抑菌,抗病毒,提高免疫力    |
| 金属硫蛋白    | 清除自由基,抗辐射,解毒,增加机体应激能力 |
| 免疫球蛋白    | 增强免疫功能                |
| 大豆球蛋白    | 易吸收,优质蛋白源,降血脂         |
| 阿斯巴甜     | 高效甜味剂,风味增强剂           |
| 阿力甜      | 高效甜味剂                 |
| 纽甜       | 高效甜味剂,风味增强剂           |
| 嗦吗甜      | 营养型强效甜味剂,风味增强剂        |
| Brazzein | 高效甜味剂                 |
| 莫奈林      | 高效甜味剂                 |
| 乳链球菌素    | 高效杀菌剂,生物防腐剂           |
| 超氧化物歧化酶  | 清除自由基,延缓衰老,抗辐射,抗肿瘤    |
| 溶菌酶      | 杀菌,抗病毒,抗肿瘤,调节肠道菌群     |

# 第一章 生物活性肽 生产的关键技术

肽是由数个到数十个氨基酸,通过肽键连接而成的低分子聚合物。肽与人类健康密切相关,在生物体内的各种组织,如骨骼、肌肉、感觉器官、消化系统、内分泌系统、生殖器官、免疫系统、周围和中枢神经系统中,都有活性肽的存在。如心房肽、表皮生长因子、神经生长因子等内源性活性肽,对维护人体健康意义重大。

研究发现,蛋白质并非需要在肠道中彻底分解为游离氨基酸后,才能被机体所吸收利用。许多蛋白质分子中隐含着某些活性片段,它们在消化过程中释放出大量短链多肽物质,对人体具有多种特殊的生理调节作用。这些生物活性肽进入人体后,可产生类似激素活性物质的作用。

在功能性食品领域,应用蛋白酶可降解动植物蛋白质,可生成大豆肽、降压肽、酪蛋白磷肽、糖巨肽、高F值低聚肽和含低聚糖的活性肽等。这些外源性活性肽,对促进人体健康方面同样发挥重要作用。

就目前而言,活性肽尚不像低聚糖那样已实现大规模的工业化生产,这主要是因为其中的核心生产技术尚不成熟,产品不够稳定或生产成本过高等。随着生物技术的进一步发展,人们将最终攻克这种技术难关,活性肽也将与低聚糖一样,实现大规模工业化生产。

## ● 酪蛋白磷肽(Casein Phosphopeptides, CPP)

酪蛋白约占牛乳总蛋白的 80%，是一种含磷的蛋白质。用胰蛋白酶水解酪蛋白，可制得酪蛋白磷肽。

CPP 对钙的吸收有促进作用，它促使小肠下部可溶性钙的增加，从而促使小肠对钙的吸收。而小肠管腔内钙的主要对象酸根离子是磷酸，CPP 可以阻止磷酸钙的生成，即 CPP 的功效可以使磷酸钙成为过饱和状态，阻止初期结晶化的形成。CPP 单独使用的意义不大，它只有与钙等配合使用才可以促进钙的吸收，起到促进骨骼生长、改善贫血等功效。

CPP 抑制磷酸钙沉淀的机理大致是，初始形成的磷酸钙呈无定形状态，之后逐渐转变成晶体形式，CPP 黏附在其表面可阻止晶体长大。肠内溶解的钙与 CPP 不断接触，使这些离子在不受磷酸根作用的情况下被带到肠黏膜。因此，CPP 起着调节晶体成长的作用，它不仅抑制或延迟晶体成长，而且在骨质化的后期可加速晶体的成长。

## ● 高 F 值低聚肽(High F Value Oligopeptide)

高 F 值低聚肽，是蛋白酶作用于蛋白质后形成的一种低分子活性肽。F (Fischer) 值，是支链氨基酸(Branched chain amino acids, BC)与芳香族氨基酸(Aromatic amino acids, AC)的摩尔比值。

高 F 值低聚肽的生理功效，体现在以下 3 个方面：

(1) 防治肝性脑病：注射或经口摄取高 F 值低聚肽，可使患者血中 BC/AC 比值接近或大于 3，能有效地维持血中 BC 的浓度，纠正血脑中氨基酸的病态模式，改善脑昏迷程度和精神状态。

脑昏迷的发生，不仅取决于血浆内 F 值，还与血氨浓度有关。BC 还可通过增加氮储备来降低患者血氨浓度，甚至可使血氨浓度

恢复正常水平,从而减轻或消除肝性脑病的症状。

(2)改善蛋白质的营养状况:低聚肽在肠道内易于消化和吸收,故可作肠道营养剂。疾病患者直接从口、胃送入这种物质,比从静脉输入的氨基酸更能迅速地恢复正常的营养状态。因此,高F值低聚肽被广泛应用于改善烧伤、外科手术等患者的蛋白质营养。对于特殊营养消费群,特别是婴幼儿,也十分适合。

(3)抗疲劳作用:在应激情况下,BC可直接向肌肉提供能源。因此,高F值低聚肽可供高强度工作者和运动员食用,补充能量、消除疲劳、增强体力。

### ● 谷胱甘肽(Glutathione)

谷胱甘肽是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸经肽键缩合而成,化学名为 $\gamma$ -L-谷氨酰-L-半胱氨酰-甘氨酸。

当细胞内生成少量 $H_2O_2$ 时,GSH在谷胱甘肽过氧化物酶的作用下,把 $H_2O_2$ 还原成 $H_2O$ ,其自身被氧化为GSSG。在谷胱甘肽还原酶的作用下,GSSG从NADPH接受氢又重新还原回GSH。另外,GSH还可以和有机过氧化物起作用,这些过氧化物是需氧代谢的有害副产物,谷胱甘肽在这种解毒中起着关键性作用。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)是催化这一反应的酶,它有一共价结合的硒(Se)原子。

谷胱甘肽含有巯基,在生物体内有着重要的作用:

(1)作为解毒剂,可用于丙烯腈、氟化物、CO、重金属及有机溶剂等的解毒上。

(2)作为自由基清除剂,抵抗氧化剂对巯基的破坏作用,保护细胞膜中含巯基的蛋白质和酶不被氧化。

(3)对放射线、放射性药物或者由于肿瘤药物所引起的白细胞减少等症状能起到保护作用。

(4)能够纠正乙酰胆碱、胆碱酯酶的不平衡,起到抗过敏

作用。

(5) 对缺氧血症、恶心以及肝脏疾病所引起的不适具有缓解作用。

(6) 可防止皮肤老化及色素沉着,减少黑色素的形成,改善皮肤抗氧化能力并使皮肤产生光泽。

(7) 治疗眼角膜病。

## ● 降压肽(Antihypertensive Peptide)

降压肽是通过抑制血管紧张素转换酶(ACE)的活性,来体现降压功效的。因为 ACE 能促进血管紧张素 I 转变为血管紧张素 II,后者会使末梢血管收缩而导致血压升高。

目前主要有三种来源的降压肽:

(1) 来自乳酸蛋白的降压肽

C<sub>12</sub> 肽: Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Phe-Pro-Glu-Val-Phe-Gly-Gys

C<sub>7</sub> 肽: Ale-Val-Pro-Tyr-Pro-Gln-Arg

C<sub>6</sub> 肽: Thr-Thr-Met-Pro-Leu-Trp

(2) 来自鱼贝类的降压肽

C<sub>8</sub> 肽(沙丁鱼): Leu-Lys-Val-Gly-Val-Lys-Gln-Tyr

C<sub>11</sub> 肽(沙丁鱼): Tyr-Lys-Ser-Phe-Ile-Lys-Gly-Tyr-Pro-Val-Met

C<sub>8</sub> 肽(金枪鱼): Pro-Thr-His-Ile-Lys-Trp-Gly-Asp

C<sub>3</sub> 肽(南极磷虾): Leu-Lys-Tyr

(3) 来自植物的降压肽

大豆降压肽:大豆蛋白经酶水解,制得以相对分子质量低于 1 000 为主的低聚肽。

玉米降压肽:玉米醇溶蛋白经酶水解,制得以 Pro-Pro-Val-His-Leu 连接片段组成的低聚肽。

无花果降压肽(三种): Ala-Val-Asp-Pro-Ile-Arg, Leu-Tyr-



Pro-Val-Lys, Leu-Val-Arg。

这些肽通常由蛋白酶在温和条件下水解制得,食用安全性高。而且,它们有一个突出的优点是,对血压正常的人无降血压作用。

### ● 大豆肽(Soybean Peptide)

大豆肽是大豆蛋白的酶水解产品,由 3~6 个氨基酸组成,分子量分布以低于 1 000 的为主,主要在 300~700 范围内。

大豆蛋白的黏度随浓度的增加而显著增加,浓度不可能提得太高,超过 13% 就会形成凝胶状。当制成酸性饮料时,在 pH 接近 4.5(大豆蛋白的等电点)会产生沉淀。大豆肽没有上述缺点,即使在 50% 的高浓度下仍能保持良好的流动性,同时具有以下特征:

- (1) 即使在高浓度的情况下,黏度仍较低。
- (2) 在较宽的 pH 范围内,仍能保持溶解状态。

对历来无法实现的高蛋白饮料,如利用大豆肽作蛋白源时,就容易得多。

大豆肽溶液渗透压的大小,处于大豆蛋白与同一组成氨基酸混合物之间。当一种液体的渗透压比体液高时,易使人体周边组织细胞中的水分向胃肠移动而出现腹泻。氨基酸经常会发生这类问题,大豆肽的渗透压比氨基酸低得多,因此作为口服或肠道营养液的蛋白源比氨基酸还容易见效果。

大豆肽的生理功效,体现在以下几个方面:

(1) 易于消化吸收:大豆蛋白质不能通过小肠黏膜,而大豆肽以及同样组成的氨基酸混合物,能够通过小肠黏膜。因此,大豆肽可由肠道不经降解直接吸收。

氨基酸由于受高渗透压的影响,水分会从周边组织细胞中向胃移动,减慢了水分从胃向肠的移动速度。而蛋白质在小肠中需要进行消化,故吸收速度也减慢,这些情况不存在于大豆肽中,因