

# 乳状液中 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白的结构特点及吸附行为

任娇艳, 赵谋明

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广州 510641)

**摘要:** 乳状液界面处主要的酪蛋白成分是 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白。本文主要综述了这两种酪蛋白分子的结构特点并比较其差异, 进一步阐述了pH、离子强度、分子聚合、未吸附粒子等因素对其吸附行为的影响。

**关键词:**  $\alpha_{s1}$ -酪蛋白;  $\beta$ -酪蛋白; 结构特点; 吸附行为

**Abstract:**  $\alpha_{s1}$ -casein and  $\beta$ -casein are the main protein components coexisting at the interface of emulsion. This paper mainly summarized the structures of the two casein molecules and compared the differences between them. Also, the paper explained the effect of pH, ionic strength, aggregation and unadsorbed particles on the adsorbing behaviour of  $\alpha_{s1}$ -casein and  $\beta$ -casein.

**Key words:**  $\alpha_{s1}$ -casein;  $\beta$ -casein; structure; characteristic; adsorbing behaviour

中图分类号: TS252.59

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2003)06-0154-04

牛乳蛋白质具有优良的乳化特性和乳状液稳定作用, 在食品溶胶中通常用作稳定剂, 用来稳定乳状液及泡沫体系。牛乳蛋白中, 约80%为酪蛋白, 即其乳化功能主要由酪蛋白来体现。酪蛋白在冰淇淋、搅打奶油、人造奶油、乳制品等生产中都有广泛应用。由于酪蛋白的两种主要成分是 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白, 含量约占酪蛋白总量的70%(其中 $\alpha_{s1}$ -约为36%,  $\beta$ -约为34%)<sup>[1]</sup>, 因此比较 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白的结构特点及其乳化特性具有特殊意义: 第一, 由于这两种酪蛋白结构上是不规则的, 通过比较我们可以基本了解不规则蛋白质作用下大分子结构与生物胶体稳定性间的关系; 第二, 由于 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白是很多乳品胶体界面上都共同存在的主要蛋白成分, 因此研究这两者之间的相互作用关系有助于选择不同成分比例的酪蛋白来作乳化剂; 第三, 如果清楚了各种纯蛋白的结构特性, 可以借助先进的分离技术来研发具特殊性能的新型牛乳蛋白, 从而为新型食品的开发提供理论指导。

## 1 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白的结构特征

就结构而言,  $\alpha_{s1}$ -酪蛋白有五种变异体: A、B、C、D、E, 而 $\beta$ -酪蛋白则是由一种主要成分(有七种变异体: A1、A2、A3、B、C、D、E)和八种微量成分(主要由蛋白酶水解 $\beta$ -酪蛋白产生)组成<sup>[2]</sup>。这两种酪蛋白对钙的敏感性均取决于所含的磷酸丝氨酸残基( $\alpha_{s1}$ -酪蛋白B中有8个,  $\beta$ -酪蛋白A中有5个)。它们都不含半胱氨酸或半胱氨酸残基, 都含有大量脯氨酸残基(分别为17个、35个脯氨酸残基)<sup>[3]</sup>。溶液中存在的两种蛋白单体都是含200个左右氨基酸残基的线性不规则长链, 在中性pH时都含有净负电荷。本质上这两种蛋白分子都呈两性, 含有相当数量的非极性残基, 因此它们对憎水表面

具有相当强的吸附性。

此外, 它们可以用来替代性能上相类似的表面吸附蛋白成分, 来制备油/水乳状液。而且, 这两种酪蛋白稳定态界面张力均较低, 均能够赋予吸附层较低的表面剪切粘性。

### 1.1 $\beta$ -酪蛋白的吸附结构特性

$\beta$ -酪蛋白中含大量非均匀排列的疏水基和亲水基, 使其具有典型的表面活性剂结构: 头部带负电荷, 尾部是不带电荷的疏水基。 $\beta$ -酪蛋白分子有一个显著特征, 在其N末端有一含40~50个残基的高度亲水区域, 该区域含有很多电离基团, 包括五个磷酸丝氨酸残基。在中性pH时, 孤立的分子带净负电荷, 电荷量约-15e。 $\beta$ -酪蛋白能在水相溶液中形成胶束, 且临界胶束浓度非常低<sup>[2,3]</sup>。

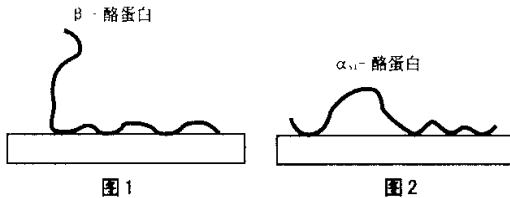
有关 $\beta$ -酪蛋白在溶液中的具体结构已有报道。1992年, Dickinson等人<sup>[4]</sup>通过“蒙特卡罗”仿真(Monte Carlo simulation)实验提出一个有关 $\beta$ -酪蛋白吸附结构的简单模型。模型预测在无限稀释的溶液中, 不考虑外在静电交互作用影响时, 吸附界面 $\beta$ -酪蛋白的分布可划分为浓度不同的两个部分。蛋白密度较大的内部小区域厚约1~2nm, 含分子数目约70%; 紧包在外面的区域含蛋白较少, 分子数目约30%, 而且包在外面的这个低密度区域范围最远可达到距离表面10nm处。1993年, Dickinson等人<sup>[5]</sup>又通过镜像中子反射技术(Specular neutron reflectance)研究了 $\beta$ -酪蛋白憎水表面的详细结构。通过对pH7、浓度为0.005(wt)的溶液进行相关实验提出在空气/水界面上 $\beta$ -酪蛋白的分布可以通过一个“双层”模型来表示: 蛋白质较为集中的内层(蛋白相对密度约0.95, 厚度约1nm)和蛋白质较为分散的外层(蛋白相对密度约0.15~0.2, 厚度约4~5nm)。这与前述模型的结论相一

收稿日期: 2002-12-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20276022)

作者简介: 任娇艳, 女, 在读本科, 研究方向: 粮油蛋白质工程。

致。而最能恰切地表述 $\beta$ -酪蛋白的结构特征的是Fleer等人<sup>[6]</sup>：在“双层”模型的基础上发展起来的“链-圈-尾”模型(train-loop-tail model)。新模型认为界面处整个吸附层有效厚度主要取决于那些凸起的“圈”离开表面的远近程度，尤其是能自由摆动的“尾巴”，其延伸范围更是起决定作用。“链-圈-尾”三元素中的任一元素都称为一个“片断”。在隔热溶剂中<sup>[7]</sup>，如果形成的均聚物由紧密排列成球簇的片断组成，那么其中“尾巴”或“圈”的分布将取决于“固体壁-片断”之间的吸附能以及多聚物主体相浓度。然而，象 $\beta$ -酪蛋白这类复杂的高分子电解质，平均片断密度将取决于链中约20个不同残基的“固体壁-片断”、“溶剂-片断”和“片断-片断”间交互作用的平衡(包括离子作用、疏水作用、范德华力等)。如果将所有的片断划分成三类——极性的(亲水的)、非极性的(憎水的)和电离的，那么情况就可以被简化。



吸附在固体界面处的 $\beta$ -酪蛋白分子分布情况可以用图1所示的简图来表示<sup>[8]</sup>。从图中可以得出结论：总链的20%~25%具有明显的亲水性，该部分疏水基团的密度最低而电离基团的密度最高，在图中表现为一个伸长的“尾巴”，这个可以自由摆动的“尾巴”一直延伸到离表面较远的区域；而剩下的75%~80%具有明显的疏水性，在图中表现为凸起的“圈”和短“链”。

1.2  $\alpha_{s1}$ -酪蛋白的吸附结构特征

$\alpha_{s1}$ -酪蛋白在中性pH时，孤立分子的净电荷(约-22e)比 $\beta$ -酪蛋白要高，氨基酸排序也有本质不同。1994年，Dickinson<sup>[8]</sup>研究了液相界面处蛋白质的性质后指出，作为一种随机共聚物， $\alpha_{s1}$ -酪蛋白中亲水或疏水片断的分布比起 $\beta$ -酪蛋白来说更加紧凑。 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白多肽键上有三个明显的疏水区域，如果从分子N-端开始对残基进行排序(从1~200)的话，一个在分子中间位置(残基90~110)，另外两个分别在分子两端(残基1~40和残基130~199)，而且还有一个高密度电荷极性区(残基45~90)。Brooksbank等人<sup>[9]</sup>对 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白表面行为的研究表明其分布比 $\beta$ -酪蛋白更分散，相比而言，在吸附界面处 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白具有更低的表面覆盖率，层的厚度也更薄。

用“链-圈-尾”模型来解释 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白分子片断在界面处的分布，如图2所示<sup>[8]</sup>。离固体表面最远的部分是残基数目约40~80的高度电离区，该亲水性区域与N-端之间被一个残基数目约20~30的憎水区域隔开，这个区域通过有效的表面亲和力将分子牢牢地束缚在此处，于是便形成了图中那个突出的“圈”，而不是象 $\beta$ -酪蛋白中伸长的“尾巴”。

在pH7时， $\alpha_{s1}$ -酪蛋白的大“圈”(残基数目约60)距离表面的最大延伸度小于3nm，这意味着吸附表面处 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白的延伸程度比 $\beta$ -酪蛋白(约5nm)要浅<sup>[10]</sup>。在聚苯乙烯胶体粒子中， $\alpha_{s1}$ -酪蛋白的厚度层为5~6nm，而 $\beta$ -酪蛋白的厚度是其2倍，该体系中两种酪蛋白的吸附行为正好与上述结论相吻合<sup>[11]</sup>。

1.3  $\alpha_{s1}$ -酪蛋白与 $\beta$ -酪蛋白的竞争吸附

Pieter Walstra等人<sup>[12]</sup>进行交换实验结果表明 $\beta$ -酪蛋白可以很快地从乳状液表面替代 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白，在界面和主体相中这两种蛋白的重新分布会在几分钟之内完成，使 $\beta$ -酪蛋白吸附到 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白包裹的小滴上。反过来，将 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白加到 $\beta$ -酪蛋白包裹的小滴上却只能替代小部分 $\beta$ -酪蛋白。就结构特点进行分析，原因可能是：

- (1)  $\alpha_{s1}$ -酪蛋白吸附层太薄，被 $\beta$ -酪蛋白取代之后，新形成的稳定态界面自由能更小，从而使乳状液会更加稳定；
- (2)  $\beta$ -酪蛋白的“尾巴”处在高密度电荷极性区，具有较强的亲水性，而其它部分显得有更加突出的疏水性，故 $\beta$ -酪蛋白替代 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白后，亲水基/疏水基在界面处将两相更加牢靠地连接起来，有助于乳状液的稳定；
- (3)  $\beta$ -酪蛋白分子间的协同吸附作用更强，即当部分 $\beta$ -酪蛋白先取代吸附之后，由于其界面自由能降低的程度比 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白的大，随后的 $\beta$ -酪蛋白分子吸附将会变得更容易。

2 pH对 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白吸附行为的影响

$\alpha_{s1}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白分子链中电荷的分布受pH值的影响，从而导致其吸附行为也随pH而变化。“自身一致性场(self-consistent-field, 即SCF)”理论解释理想化固体表面中 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白的吸附现象时也考虑了pH的影响<sup>[14]</sup>。该理论认为吸附层中分子间的相互作用包括空间上的排斥作用、最临近片断间的交互作用以及静电交互作用，当然也考虑了其它可能存在的小离子(如 $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ )间的交互作用和不同残基不同pKa值会产生影响。

SCF理论是通过“格子数目”来反映酪蛋白分子的残基分布情况，图3、4描述了pH(pH=7.0、6.0、5.5三种情况)对 $\beta$ -酪蛋白和 $\alpha_{s1}$ -酪蛋白分子的影响<sup>[8]</sup>。同时在图中也描述了残基的平均电荷变化情况(图中最下方的波动曲线)。就 $\beta$ -酪蛋白分子而言，如图3，在pH7时，N-端与表面的平均距离超过15个格子单位(将近5nm)。随pH从7降到5.5，“尾巴”延伸的距离也表现为有所降低，但紧附于表面的强憎水部分对pH却相对不怎么敏感。

Atkinson等人<sup>[13]</sup>对 $\beta$ -酪蛋白进行实验发现随着pH值7降到5.5，吸附数量从2mg/m<sup>2</sup>增加到4mg/m<sup>2</sup>，总吸附层厚度从5.5nm增到9nm。这可能是由于当尾链随pH减小而变得逐渐收敛的时候，先吸附上去的酪蛋白分子片断对其片断的排斥力将会减弱，因而后来吸附上去的分子需要克服的势能垒将减小，也就更容易吸附，从而使吸附数量增加而导致吸附层厚度随之增加。

$\alpha_{s1}$ -酪蛋白也有相类似的变化，如图4所示，随着pH从

7 降到 5.5, “圈”的最大延伸程度也降低了, 与  $\beta$ -酪蛋白“尾部”的变化趋势是一致的。

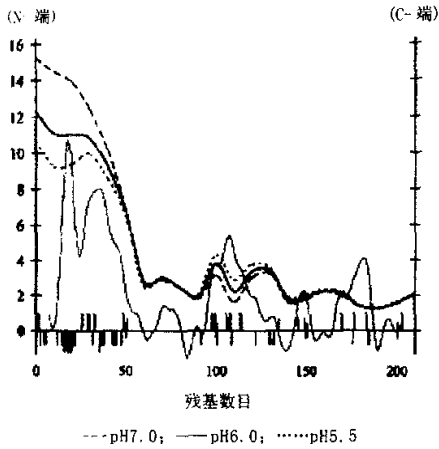


图3 pH对 $\beta$ -酪蛋白的影响

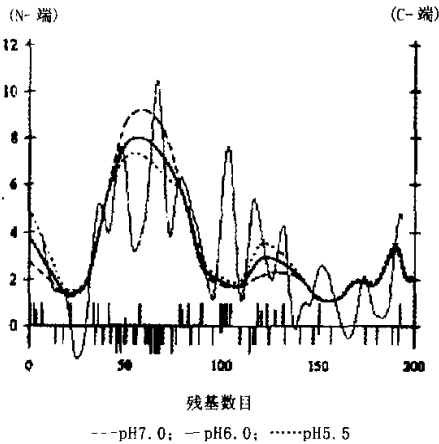


图4 pH对 $\alpha_{11}$ -酪蛋白的影响

### 3 离子强度对 $\alpha_{11}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白吸附行为的影响

SCF理论可以用来评价 $\alpha_{11}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白各自吸附表面的交互作用自由能。在pH5.5~7.0、离子强度1~100mmol/L范围内, 当“表面-表面”间距离较小(约为5nm)时, 两种体系的吸附层分别都有很强的正交互作用自由能(体现为相互排斥), 但相比而言 $\beta$ -酪蛋白吸附层的空间排斥较 $\alpha_{11}$ -酪蛋白要强, 这可能是其自由摆动的“尾巴”所导致<sup>[15]</sup>。

当离子强度大于100mmol/L后, 这两种酪蛋白间交互作用自由能的差异就比较明显了。对 $\beta$ -酪蛋白而言, 不管pH值、“表面-表面”间距离值为多大, 交互作用自由能均是正值(体现为相互排斥); 而对 $\alpha_{11}$ -酪蛋白, 当离子强度高至一定程度时, 由于表面间相互吸引而导致其交互作用自由能在某一区域出现负值(体现为相互吸引), 这可能是因为吸附共聚物形

成大的“圈”(  $\alpha_{11}$ -酪蛋白)比形成可摆动的“链”(  $\beta$ -酪蛋白)更有利于相互吸引。可以假设在酪蛋白吸附层分子间存在一种桥键, 当离子强度较低时, 桥键的空间/静电排斥作用明显比吸引作用要强些; 而在高盐浓度时, 当静电交互作用受到一定的屏蔽后, 表面稍微表现出分离的倾向, 则桥键的净吸引作用就显得尤为突出。Leermakers等人<sup>[16]</sup>对由酪蛋白乳化的小滴进行电泳移动实验时发现, 添加电解质(NaCl或CaCl<sub>2</sub>)后的 $\alpha_{11}$ -酪蛋白乳液比 $\beta$ -酪蛋白更容易絮凝, 即添加盐后 $\alpha_{11}$ -酪蛋白表现出净吸引交互作用, 正好与上述假设相吻合。

### 4 分子聚合对 $\alpha_{11}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白吸附行为的影响

由酪氨酸钠形成的乳液中, 酪蛋白吸附行为变化可能与浓度增加而引起的蛋白聚集状态改变有关。Leermakers等人发现 $\alpha_{11}$ -酪蛋白的聚合是经过一系列连续的步骤, 而 $\beta$ -酪蛋白的聚合却类似于去垢剂的胶束化, 其临界胶束浓度在0.5~2mg/ml范围内, 具体数值取决于温度和离子浓度<sup>[16]</sup>。Dickinson等人<sup>[16]</sup>对溶液中 $\alpha_{11}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白聚集行为的研究表明,  $\alpha_{11}$ -酪蛋白的聚集是由异性电荷之间的吸引作用所致, 而 $\beta$ -酪蛋白的聚集则是由同种电荷之间的排斥所致。如果在酪氨酸钠溶液中发生了 $\alpha_{11}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白中某种蛋白的聚合, 那么在乳化过程中该酪蛋白的可吸附疏水基数目将减少, 从而导致小滴表面的吸附层中此种酪蛋白的比例减少。当然, 由于酪氨酸盐溶液中不同种类的酪蛋白成分间也可能形成聚合结构, 所以实际情况可能会更复杂。

### 5 未吸附粒子对 $\alpha_{11}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白吸附行为的影响

若一个胶体体系中含有更小的未吸附粒子, 那么这些分散的粒子间会有一种相互吸引的交互作用。从熵的角度看, 这些非吸附粒子间的熵值没有达到相互干涉的数值, 在乳液中比较稳定。但局部渗透压梯度的存在将导致粒子间相互吸引, 此吸引力为耗散力<sup>[17]</sup>。由于单个的 $\alpha_{11}$ -酪蛋白分子太小, 因而不能诱导粒子间的耗散吸引, 但如果未吸附的酪蛋白形成小的聚集体则可能发生。酪氨酸钠在水中溶解后, 既能形成小的蛋白分子聚集体, 叫酪蛋白亚胶团(直径10~20nm), 同时也有单体酪蛋白分子存在, 这两种形式达到一种平衡关系, 因此有可能产生耗散吸引。

低离子强度时, 酪氨酸盐胶束诱导的耗散絮凝能导致明显的乳液分层现象<sup>[18]</sup>。当所用酪氨酸钠浓度为2wt%、非吸附蛋白浓度小于1wt%时, 乳液放置几个星期都不会出现分层现象; 当所用酪氨酸钠浓度为4wt%、含一定浓度非吸附蛋白(<3wt%)时, 乳液放置不到24h后就明显分层; 但是当所用酪氨酸盐总量更高(5~6wt%)时, 由于更加强烈的耗散交互作用会诱发形成牢固的凝胶网状结构, 从而在一定程度上抑制了乳液的分层。如果将溶液冲稀, 由絮凝导致的分层现象是完全可逆的, 并且不会伴随有小滴聚结现象发生。

### 6 结束语

统观 $\alpha_{11}$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白的结构特征, 既存在共同点

同时又有一定的差异,从而导致其在乳状液中有不同的吸附行为。以这两种酪蛋白为主要成分的酪氨酸盐非常广泛地应用于乳状液的制备。由其所形成的乳状液对盐的稳定性通常是由两种主要酪蛋白间的比例决定的。含 $\beta$ -酪蛋白较多的酪氨酸盐表现出更强的表面活性和乳化能力,但是膜稳定性较差;含 $\alpha_1$ -酪蛋白较多的则表现出相反的特性。在含 $\alpha_1$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白简单混合物体系的油/水界面处,若表面活性较强的 $\beta$ -酪蛋白含量多时,整个酪氨酸盐聚集度会越强,从而交换的数量会更小。从已经明确的酪蛋白混合物( $\alpha_1$ -酪蛋白和 $\beta$ -酪蛋白)的吸附层结构中获得理论将有助于指导我们针对不同的乳状液来选取适当组成比例的酪蛋白。

#### 参考文献:

- [1] 顾瑞霞. 乳与乳制品的生理功能特性[M]. 中国轻工业出版社, 2001. 1-5.
- [2] 宁正祥, 赵谋明. 食品生物化学[M]. 华南理工大学出版社, 1995. 64-65.
- [3] Smithers G W, Bradford R S. New dairy products: fresh opportunities for the dairy industry[J]. CSIRO Food Research Quarterly, 1991, 51: 92-98.
- [4] Dickinson E, Euston S R. Monte Carlo Simulation of Colloidal Systems[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 1992. 42: 89-148.
- [5] Dickinson E, Horne D S, Phipps J S et al. A neutron reflectivity study of the adsorption of  $\beta$ -casein at fluid interfaces[J]. Langmuir, 1993. 9: 242-248.
- [6] Fleer G J, Cohen Stuart M A, Scheutjens et al. Polymers at interfaces. London: Chapman & Hall, 1993.
- [7] Eric Dichinson. Caseins in emulsions: interfacial properties and interactions[J]. International Dairy Journal, 1999, (9): 305-312.
- [8] Dickinson E, Matsumura Y. Proteins at liquid interfaces: role of the molten globule state[J]. Colloids and Surfaces B, 1994, (3): 1-17.
- [9] Brooksbank D V, Leaver J, Horne D S. Adsorption of milk proteins to phosphatidyl-glycerol and phosphatidylcholine liposomes[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 1993, 161: 38-42.
- [10] Dalgleish D G. Conformations and structures of milk proteins adsorbed to oil-water interfaces[J]. Food Research International, 1996, 29: 541-547.
- [11] Dalgleish D G. The size and conformations of the proteins in adsorbed layers of individual caseins on latices and in oil-in-water emulsions[J]. Colloids and Surfaces B, 1993, (1): 1-8.
- [12] Pieter Walstra Department of Food Science, Wageningen Agricultural University. The role of proteins in the stabilization of emulsions. 323-336.
- [13] Atkinson P J, Dichinson E, Horine D S et al. Neutron reflectivity of adsorbed  $\beta$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin at the air/water interface[J]. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions, 1995, 91: 2847-2854.
- [14] Evers O A, Scheutjens J M H M, Fleer G J. Statistical thermodynamics of block copolymer adsorption 3. Interaction between adsorbed layers of block copolymers[J]. Macromolecules, 1991, 24: 5558-5566.
- [15] Leermakers F A M, Atkinson P J, Dickinson E et al. Self-consistent-field modelling of adsorbed  $\beta$ -casein: effects of pH and ionic strength on surface coverage and density profile[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 1996, 178: 681-693.
- [16] Dickinson E, Whyman R H, Dalgleish D G. Colloidal properties of model oil-in-water food emulsions stabilized separately by  $\alpha$ 1-casein,  $\beta$ -casein and  $\kappa$ -casein. In E. Dickinson, Food emulsions and foams, 1987. 40-51.
- [17] Dickinson E. Aggregation processes, particle interactions and colloidal structure. In E. Dickinson, Food colloids: proteins, lipids and polysaccharides, 1997. 107-126.
- [18] Dickinson E, Golding M. Depletion flocculation of emulsions containing unadsorbed sodium caseinate[J]. Food Hydrocolloids, 1997, 11: 13-18.

美国《化学文摘》收录期刊  
中国科技论文统计源期刊