第 14 卷 无锡轻工大学学报 Vol. 14
第 2 期 JOURNAL OF WUXI UNIVERSITY OF LIGHT INDUSTRY 1995 No. 2

牛乳酪蛋白的人乳化改性研究

张 晖 杨方琪 高福成

(食品科学与工程系)

摘要 由于牛乳酪蛋白不易为婴儿消化吸收,通过对牛乳酪蛋白人乳化改性的研究,即运用犊牛皱胃酶的作用,减少牛乳 α_{S_1}-酪蛋白的量,使 β-酪蛋白与 α_{S_1}-酪蛋白的比例由原来的 0.7 提高到 3.0 以上,从而接近了人乳的消化吸收性。经人乳化改性后的牛乳可适用于新生婴儿配方乳的制造。

主题词 凝乳酶;蛋白水解;乳制品;改性 / 牛乳;酪蛋白;人乳化;皱胃酶

中图分类号 TS201.21

0 前 言

人乳是婴儿营养最理想的第一种食物,世界各国均大力提倡母乳喂养,虽然从临床上讲只有 1%的母亲不能哺乳,但是由于种种原因而采取人工喂养的婴儿还很多,因而在相当长的时期内,婴儿配方乳还需存在,这就必须研制适合婴儿食用的奶粉,改善其消化性、过敏性及提高抗病力等,使其更接近母乳喂养,是使婴儿健康成长的一项重要课题。

牛乳和人乳最难消除的差异是蛋白质,它包括酪蛋白、乳清蛋白和免疫球蛋白。两者在酪蛋白上的差异见表 1.

表 1 人乳与牛乳的主要差异

成分(蛋白质)	每升乳中含量 人乳	牛乳
酪蛋白(g)	3.5	24
α_S-酪蛋白	痕量	12～17
β-酪蛋白	1.28	8～10

从表 1 可以看出,牛乳和人乳的主要区别是:相对于乳清蛋白,牛乳酪蛋白的含量高得多;另外,人乳以 β-酪蛋白为主,α_S-酪蛋白几乎不存在,而牛乳的 α_S-酪蛋白含量很高,它包括 α_{S_1}-酪蛋白、α_{S_2}-酪蛋白、α_{S_3}-酪蛋白等。牛乳 β-酪蛋白与 α_{S_1}-酪蛋白的比例仅为 0.7[2]。研究表明[2],正是占 α_S-酪蛋白达 80% 的 α_{S_1}-酪蛋白使得牛乳不易被婴儿消化吸收。

目前市场上的婴儿配方奶粉只是调整了牛乳乳清蛋白与酪蛋白的比例,并未对酪蛋白进行改性,因而并未根本改善婴儿消化不良情况,为此,对牛乳酪蛋白进行人乳化改性就成了迫切研究的课题。

收稿日期:1994-05-30

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1 实验材料和方法

1.1 实验原料和仪器

犊牛皱胃 无锡市黄巷牛奶场分场提供

鲜牛乳 无锡市马山牛奶场提供

PAGE 电泳成套试剂 上海化学试剂采购站提供

标准 β-Casein 和 α_S-Casein SIGMA 公司提供

751 型分光光度计 上海第三分析仪器厂

LJY-离心沉淀机 涟水电讯电机厂

DDY-4 电泳仪 北京六一仪器厂

垂直平板电泳槽 北京六一仪器厂

岛津 930 电泳扫描仪 日本岛津公司

XSB-1 光学显微镜 上海光学仪器厂

ISI-SX-40 扫描电子显微镜 上海光学仪器厂

IBM-PC 机 IBM 公司

1.2 实验方法

1.2.1 *皱胃酶的提取及活力测定方法*[3,4]

犊牛皱胃→清洗→细切→浸提(分三次)→过滤→透析→干燥→皱胃酶

皱胃酶活力测定方法参考[4].

1.2.2 *酪蛋白溶液浓度的测定* 酸沉淀酪蛋白重新溶解后,溶液的蛋白质浓度采用分光光度法测定。用醋酸稀释样品后测得 280nm 下的吸光值,对照标准曲线,从而获得其浓度值。

1.2.3 *酪蛋白的人乳化改性及优化实验*[2,5]

酪蛋白溶液→皱胃酶作用→灭酶活→离心分离→上清液即为改性的酪蛋白

此改性实验采用响应曲面分析法(RSA)优化。

1.2.4 *聚丙烯酰胺凝胶电泳检测*[2,6,7] 改性后的酪蛋白溶液采用 PAGE 电泳检测。其中分离胶为 7.5%,浓缩胶为 3.5%,缓冲液为 Tris-Cl,以标准 α_S-酪蛋白和 β-酪蛋白为对照。

1.2.5 *酪蛋白的酸凝性质和胃蛋白酶水解性质的测定* 参阅文献[2].

1.2.6 *扫描电镜测定酪蛋白的结构* pH 4.6 条件下获得的酪蛋白沉淀,用戊二醛固定,经临界点干燥后,用扫描电镜观察它们的结构。

2 实验结果与讨论

2.1 皱胃酶的提取及其凝乳活力

早在 40 年代,人们就从犊牛皱胃中提取分离出结晶态的皱胃酶,到如今,皱胃酶的提取分离纯化的方法已经相当成熟了,本研究并不要求用纯化的凝乳酶,仅要求其中不含胃蛋白酶就可以了,因而用粗制的皱胃酶也能取得较好的效果。

犊牛皱胃经提取,透析和干燥后得到白色粉末状的皱胃酶,该酶经活力测定,效价为 30000 单位/g.

2.2 牛乳酪蛋白的人乳化改性

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2.1 酪蛋白改性的结果 酪蛋白溶液添加一定量的钙离子,经皱胃酶作用一定时间后,有沉淀析出,离心分离所得上清液,即为改性的酪蛋白,用 PAGE 凝胶电泳检测,发现和原酪蛋白相比,α_{S_1}-酪蛋白位置的电泳谱带减弱了许多,而 β-酪蛋白位置的电泳谱带强度则只略有减小。这说明,经人乳化改性后的酪蛋白已成功地去除了大量的与 α_{S_1}-酪蛋白,在此同时保留了大部分的 β-酪蛋白。电泳图如图 1.

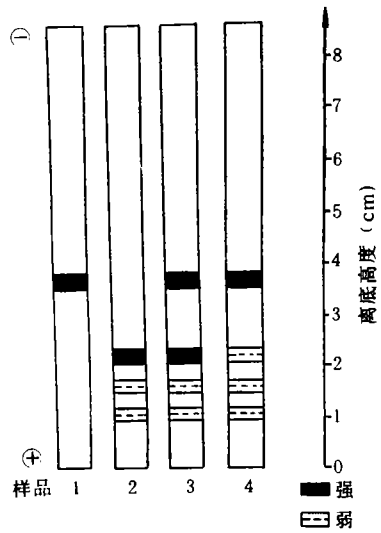


图 1 人乳化改性酪蛋白电泳图

样品 1 标准 β-酪蛋白
样品 2 标准与 α_S-酪蛋白
样品 3 牛乳酪蛋白
样品 4 人乳化改性的酪蛋白

为了获得理想的改性实验的条件与结果,作者采用了响应曲面分析法(RSA)进行改性优化,此优化设计的是三因素水平的 15 个实验,其三因素分别为加酶量、钙离子浓度和反应时间。其三水平的代码分别为"1","0","−1",代码水平"0"为最好的水平,即预实验结果最理想的中心条件。这 15 个实验的结果同样经电泳检测并定量扫描,所得的 β-酪蛋白回收率与 α_{S_1}-酪蛋白的回收率之比作为响应值,经计算机处理后,得到回归系数、F 值和等高图。F 值显示结果是可靠的。RSA 方法的图形显示的是特定的响应面所对应的因素构成的一个三维空间在二维平面上的等高图(见图 2),可以直观地反映各因素对响应值

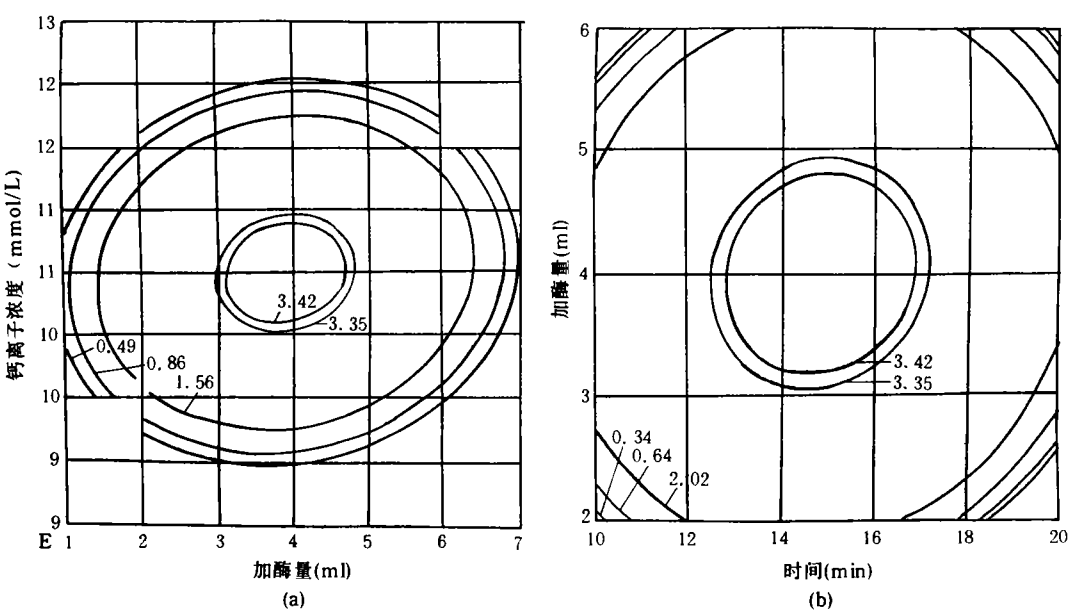


图 2 RSA 优化实验的部分等高图

(a) 在一定的反应时间(10min)的条件下,钙离子浓度和加酶量对响应值的影响

(b) 在一定的钙离子浓度(11mmol/L)的条件下,加酶量和反应时间对响应值的影响

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的影响。经对这些等高图的分析，显示在最优的pH值、温度、钙离子浓度、酶量和反应时间下，牛乳酪蛋白经人乳化改性后，可以使β-酪蛋白与α_{S_1}-酪蛋白的比例由原来的0.7左右提高到3.0以上，与人乳相接近，同时，β-酪蛋白的回收率可达70%以上，总蛋白质回收率可达50%以上，人乳化后的酪蛋白溶液浓度为1%，均比文献值[2]有所提高。

表2 RSA优化实验结果

序号	R_β(%)	$R_{\alpha_{S_1}}$(%)	$R_\beta/R_{\alpha_{S_1}}$	序号	R_β(%)	$R_{\alpha_{S_1}}$(%)	$R_\beta/R_{\alpha_{S_1}}$
1	100	64.3	1.56	9	23.4	17.6	1.33
2	37.7	23.0	1.64	10	40.7	17.4	2.32
3	29.3	20.9	1.40	11	33.8	16.7	2.02
4	61.9	72.3	0.86	12	15.1	17.5	0.86
5	92.9	71.6	1.30	13	70.5	17.0	4.15
6	47.7	27.7	1.72	14	67.5	19.7	3.42
7	42.7	39.8	1.07	15	70.7	21.1	3.35
8	32.3	66.4	0.49				

R_β β-酪蛋白的回收率　　$R_{\alpha_{S_1}}$ α_{S_1}-酪蛋白的回收率

2.2.2 牛乳酪蛋白人乳化改性的机理讨论 皱胃酶作用于牛乳酪蛋白，一般是用来生产干酪的，其有关理论已相当成熟。本文只讨论关于皱胃酶作用后，能够使α_{S_1}-酪蛋白大量沉淀，而β-酪蛋白得到保留的机理。

1) 酪蛋白的胶束结构 正常牛乳中的酪蛋白，大约95%都是以胶束状态，呈粗糙的球形粒子存在，分子量大约为108. 其胶束是由许多称为迯胶束的亚单位构成，各个迯胶束之间主要是由胶体磷酸钙和疏水键结合在一起。维系着酪蛋白胶束结构的成分间的相互作用，可归纳为如下三种[8]：

一是α_{S_1}-β-和K-酪蛋白与钙的相互作用

(a) α_{S_1}-酪蛋白$+Ca^{2+}\longrightarrow$沉淀

β-酪蛋白$+Ca^{2+}\longrightarrow$沉淀(4℃下不沉淀，35℃下沉淀)

K-酪蛋白$+Ca^{2+}\longrightarrow$不沉淀

(b) α_{S_1}-酪蛋白 + K-酪蛋白$\longrightarrow$形成复合物(α_{S_1}-/K- = 1)

β-酪蛋白 + K-酪蛋白$\longrightarrow$形成复合物

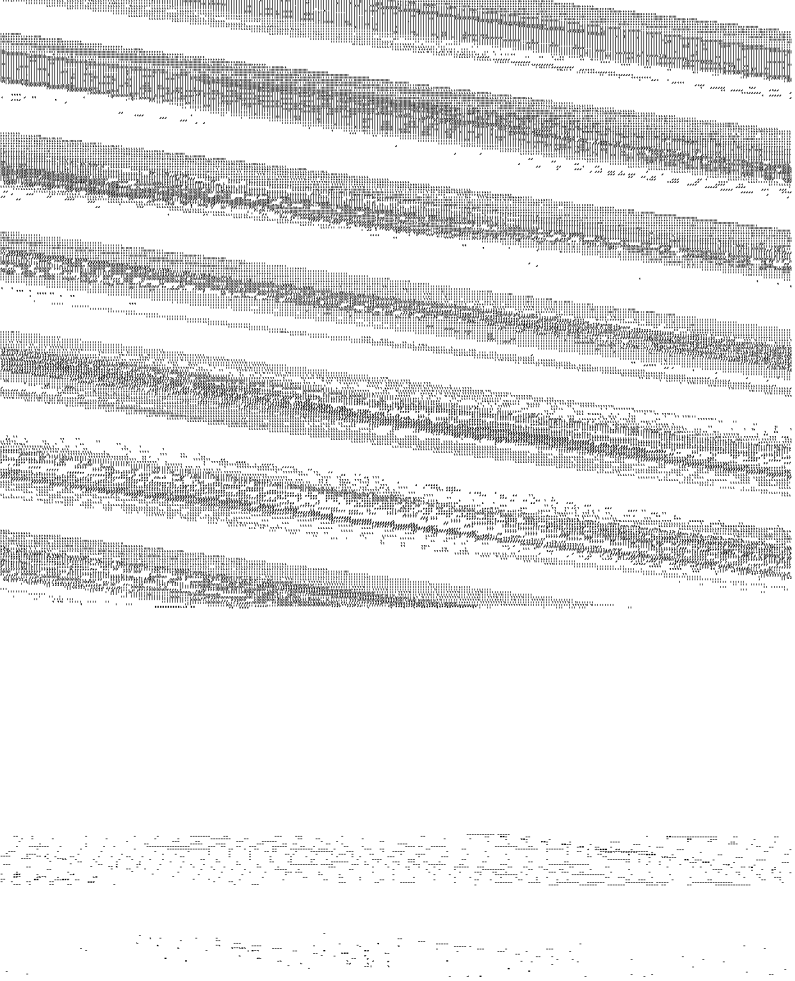
(c) (α_{S_1}-酪蛋白 + K-酪蛋白)$+Ca^{2+}\longrightarrow$不沉淀 α_{S_1}-/K- = 1 ~ 10)

(β-酪蛋白 + K-酪蛋白)$+Ca^{2+}\longrightarrow$不沉淀

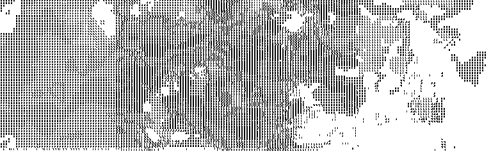
由于上述三种作用力，酪蛋白胶束状态稳定地存在于乳中，其中K-酪蛋白具有双亲媒性，其一端是憎水的副+K-酪蛋白，另一端是亲水的巨肽。根据K-酪蛋白的一级结构，这两端间的分界点是105位的苯丙氨酸和106位的蛋氨酸之间形成的键[8]。K-酪蛋白的这种结构决定了它对α_{S_1}-和β-酪蛋白的保护作用，这种保护作用的机制是K-酪蛋白和α_{S_1}-，β-酪蛋白的复合物形成外壳，钙与α_{S_1}-和β-酪蛋白的聚合物形成内心而构成酪蛋白胶束[8]。

2) α_{S_1}-酪蛋白较多沉淀的机理讨论 要破坏酪蛋白胶束的稳定结构，并改变其中β-酪蛋白和α_{S_1}-酪蛋白的比例，皱胃酶的作用是较理想的方法。皱胃酶专一地进攻K-酪蛋白一级结构中105 ~ 106位之间的肽键，使K-酪蛋白分解成两个碎片[8]，从而失去了对其它酪

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net





结　　语

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

了它的酸凝性质,也易于被胃蛋白酶水解,从而使得改性后的酪蛋白的消化吸收性得到了很大的改善。用这种经处理的牛乳酪蛋白添加脱盐乳清来制造婴儿配方乳,在蛋白质上更加接近了人乳,使婴儿更易于消化吸收,用于新生婴儿喂养,将可大大提高婴儿人工喂养的质量。因此,酪蛋白酶改性的研究和推广将具有深远的意义。

参 考 文 献

1 Preparation of A New Infant Formula With Lowered Content of Potentially Alergenic Protein Components and Enriched Content of Immunologically Protective Factors

2 Li-chan E, Nakai S. Renin Modification of Bovine Casein to Simulate Human Casein Composition: Effect on Acid Clotting and Hydrolysis by Pepsin, Canadian Institnte of Food Science and Technology, 1988

3 浙江临海乳品厂. 无锡轻工业学院. 皱胃酶专题小结.

4 无锡酶制剂厂产品说明书

5 Aguilera J M. Soybean Extruded product: A Respones Surface Analysis, J of Food Science, 41～647

6 孙崇荣,李玉民. 蛋白质化学导论. 复旦大学出版社,1991

7 Laemmli U K. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of β-acteriophage T4, Natrure 227～681

8 金世琳. 牛乳生物化学. 轻工业出版社,1988

9 Menissey M A. Forces Involved in the Enrymatic and Acidec Coagulation of Casein Micilles, Developments in Food Protein-5'

Humanized Modification of Bovine Casein

Zhang Hui Yang Fangqi Gao Fuchen

(Dept. of Food Sci. and Eng.)

Abstract Bovine casein is not easily digestible to bady. In this paper, an enzymatic method was used to modify the bovine casein. After the humanized modification, the ratio of the β-casein to the α_{S_1}-Casein was increased from 0.7 to 3.0. The digestibility of the treated casein is found to be closed to that of humanized casein. The product could be manufactured for infant digestible milk preparation.

Subject-words Rennin; Proteolysis; Milk products; Modification / Casein; Humanized modification; Rennet

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net