

影响羊乳中环核苷酸质量浓度的化学因素

于玲玲, 张富新*, 邵玉宇, 云丹, 雷飞艳, 侯院林, 艾对

(陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119)

摘要: 研究了 pH、金属离子和抗氧化剂等化学因素对羊乳中环核苷酸质量浓度的影响。结果表明, 羊乳中 pH 为 3 时 cAMP 质量浓度最高, pH 为 2 时 cGMP 质量浓度最高; Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 对羊乳中 cAMP 质量浓度有促进作用, 而 Cd^{2+} 可降低羊乳中 cAMP 的质量浓度; Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 对羊乳中 cGMP 质量浓度有促进作用, 而 Fe^{2+} 、 Ni^{2+} 对羊乳中 cGMP 质量浓度有降低作用; 在羊乳贮存 2~4 d 内抗氧化剂可降低羊乳中 cAMP 和 cGMP 的质量浓度, 在 4 d 后可促进羊乳中 cAMP 和 cGMP 质量浓度。

关键词: 环核苷酸; pH 值; 金属离子; 抗氧化剂

中图分类号: TS 252.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2017)04—0393—07

Research on Effects of Chemical Factors on Contents of Cyclic Nucleotides in Goat Milk

YU Lingling, ZHANG Fuxin*, SHAO Yuyu, YUN Dan, LEI Feiyan, HOU Yuanlin, AI Dui

(College of Food Engineering and Nutritional Science, Shanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: Effects of chemicals, such as pH, metal ions and antioxidants, on the cyclic nucleotides content in goat milk were studied. The results showed that cyclic adenosine monophosphate (cAMP) got the highest concentration at pH 3, while highest concentration of cyclic guanosine monophosphate (cGMP) was achieved at pH 2. The content of cAMP in goat milk was increased by Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} and Zn^{2+} , while decreased by Cd^{2+} . The addition of Ca^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+} and Zn^{2+} could improve cGMP content in goat milk, while Fe^{2+} and Ni^{2+} negatively affected cGMP content. The contents of cAMP and cGMP in goat milk was decreased by antioxidants during first 2~4 days, but improved after 4 days. This study could provide references for the development of functional goat milk products.

Keywords: cyclic nucleotides, pH values, metal ions, antioxidants

收稿日期: 2015-06-09

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2013BAD18B00); 农业部公益性行业(农业)科研专项(201103038); 陕西省农业攻关项目(2014K01-17-05)。

* 通信作者: 张富新(1962—), 男, 陕西咸阳人, 教授, 主要从事乳品科学研究。E-mail: fuxinzh@snnu.edu.cn

引用本文: 于玲玲, 张富新, 邵玉宇, 等. 影响羊乳中环核苷酸质量浓度的化学因素[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(04): 393-399.

羊奶营养丰富,富含蛋白质、脂肪、乳糖、矿物质和维生素等多种营养物质以及环核苷酸(Cyclic Nucleotides,CNT)、生长因子等生物活性物质^[1-2]。相对于牛奶,羊奶具有独特的生理功能^[3],羊奶脂肪球较小,易于消化吸收,且羊奶中含有蛋白质过敏原 α s1-酪蛋白较少^[4-5],适用于易过敏人群。除此之外,羊奶还含有一定量的环核苷酸,主要包括环腺苷酸(cyclic adenosine monophosphate,cAMP)和环鸟苷酸(cyclic guanosine monophosphate,cGMP),有益于大脑健康发育^[6]。近年来,人们对乳中环核苷酸十分关注,有研究发现一些维生素以及人体必须的微量元素等对乳中环核苷酸的质量浓度有影响,维生素C可清除体内过氧化物,保护生物膜的完整结构,增强核苷酸环化酶(Nucleotides cyclase,NC)的活性,使乳中环核苷酸质量浓度增加^[7];Wickson^[8]研究发现,金属离子 Li^{2+} 和 Ca^{2+} 有改变核苷酸环化酶(NC)和磷酸二酯酶(phosphodiesterase,PDE)活性的作用,对体内环核苷酸质量浓度有一定影响。作者较为系统地研究了基本化学因素pH、金属离子和抗氧化剂对羊乳中环核苷酸质量浓度的影响,为开发功能性羊乳产品提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

羊奶:来自西北农林科技大学羊场的混合乳样,取后分装于50 mL的离心管中,立即在 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻保存,分析前在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下解冻;

主要试剂:氯化铜(CuCl_2)、氯化镁(MgCl_2)、氯化锌(ZnCl_2)、氯化钙(CaCl_2)、氯化亚铁(FeCl_2)、氯化钴(CoCl_2)、氯化镉(CdCl_2)、氯化镍(NiCl_2)、氯化锰(MnCl_2)、氯化氢(HCl)、氢氧化钾(KOH)、三氯乙酸(TCA)、高氯酸(HClO_4)(AR);天津天力化学试剂有限公司产品。

抗氧化剂:叔丁基对苯二酚(TBHQ)、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)、叔丁基羟基茴香醚(BHA)、没食子酸正丙酯(PG)、抗坏血酸(VC)、生育酚(VE)(食品级);西安晶博试剂有限公司产品。

主要仪器:TGL-16B型台式离心机:上海安亭科学仪器厂产品;PHS-3C pH计:上海精科仪器有限公司产品;GSP-9080MBE型隔水式恒温培养箱:上海博迅实业有限公司医疗设备厂产品;Multiskan Go型全波长酶标仪:美国热电公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 pH值对羊乳中环核苷酸质量浓度影响 取15 mL乳样于20 mL试管中,用1 mol/L HCl或1 mol/L KOH调节乳样的pH分别为2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13,在室温下保存2 h,测定其CNT质量浓度。以未处理乳样作为空白对照。

1.2.2 金属离子对羊乳中环核苷酸质量浓度影响 取990 μL 的乳样于2 mL的试管中,分别加入10 μL 浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 或10 mmol/L的 CuCl_2 、 MgCl_2 、 ZnCl_2 、 CaCl_2 、 FeCl_2 、 CoCl_2 、 CdCl_2 、 NiCl_2 、 MnCl_2 溶液,使乳样中金属离子最终浓度分别达到1 $\mu\text{mol/L}$ 或100 $\mu\text{mol/L}$ 后,将其混合均匀,于室温下保存2 h,测定其CNT质量浓度。以未处理乳样作为空白对照。

1.2.3 抗氧化剂对羊乳中环核苷酸质量浓度影响 称取0.02 g的TBHQ、BHT、BHA、PG、VC、VE分别加入到100 mL的羊乳中,用涡旋振荡器振荡1 min,使其充分混匀。取1 mL添加抗氧化剂的乳样于2 mL的试管中,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存8 d,每隔1 d取样测定其CNT质量浓度。同时将未处理乳样在同条件贮藏,作为空白对照。

1.2.4 环核苷酸的测定 样品处理:取0.5 mL乳样于2 mL离心管中,加入等体积的体积分数1%的高氯酸和体积分数10%的三氯乙酸(TCA),混合均匀后在3 000 g下离心15 min,去除上层脂肪和沉淀。取上清液,用1 mol/L的KOH调节其pH至6.7(羊乳天然pH),用于CNT质量浓度测定。

环核苷酸测定:cAMP和cGMP采用酶联免疫(ELISA)试剂盒测定。将试剂盒在室温($20\text{ }^{\circ}\text{C}$)下平衡20 min后,取出试剂盒中板条。取10 μL 处理后的样品加入板条反应孔中,接着加入样品稀释液40 μL ,再加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗体液50 μL ,用封板膜封住反应孔后,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保温60 min。然后弃去反应孔中液体,将板条翻转,在滤纸上拍干。在反应后的反应孔中加入350 μL 洗涤液,静置1 min后,弃去洗涤液,在滤纸上拍干,如此重复5次。在洗涤后的板条反应孔中加入底物A、B各50 μL , $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光保温15 min。最后在反应孔中加入终止液50 μL ,15 min内在450 nm波长处测定各孔吸光度。每个样品重复3次。

环核苷酸标准曲线的绘制:用上述方法检测不同质量浓度cAMP(cGMP)标准品的吸光度,然后以

质量浓度为横坐标(X),OD 值为纵坐标(Y),绘制 cAMP(cGMP)标准曲线。计算线性回归方程,按回归方程计算各样品 cAMP 和 cGMP 质量浓度。

表 1 环核苷酸的回归方程及相关系数

Table 1 Linear regression equations and their correlation coefficients of CNT

环核苷酸	线性回归方程	相关系数 R^2
cAMP	$Y=0.004\ 1X+0.086$	0.999 6
cGMP	$Y=0.001\ 4X+0.093$	0.999 6

1.3 数据分析

数据分别采用 Excel 2003、DPS 7.05 软件绘图和方差分析。

2 结果及分析

2.1 pH 对羊乳中环核苷酸质量浓度的影响

由图 1 可以看出,当 pH 为 2 时,羊乳中 cAMP 质量浓度为(2 558.92±54.16) ng/mL;pH 为 3 时,羊乳中 cAMP 质量浓度明显增大,达到 (5 493.12±94.36) ng/mL;当 pH 大于 3 时,羊乳中 cAMP 的质量浓度逐渐降低;当 pH 为 13 时,羊乳中 cAMP 质量浓度降低到(638.41±19.51) ng/mL。羊乳中 cGMP 质量浓度在 pH 为 2 时最高,达到 (18 000.77±240.61) pg/mL,之后随 pH 的增大呈逐渐降低的趋势;当 pH 达到 13 时,羊乳中 cGMP 质量浓度降低到(4 871.40±262.33) pg/mL。未经 pH 处理的乳样中 cAMP 和 cGMP 质量浓度分别为 (1 592.59±68.21) ng/mL 和(4 982.29±268.84) pg/mL,在 pH 为 3 时羊乳中 cAMP 质量浓度达最高,比未处理乳样增加了 245%,pH 大于 3 时,羊乳中 cAMP 的质量浓度逐渐下降,当 pH 大于 7 时,羊乳中 cAMP 质量浓度均显著低于未处理羊乳中 cAMP 质量浓度;在 pH 为 2 时羊乳中 cGMP 质量浓度最高,比未处理乳样增加了 261%。由此可见,在酸性环境下羊乳中 cAMP 和 cGMP 质量浓度明显增大,而在碱性环境下羊乳中 cAMP 和 cGMP 质量浓度明显降低。

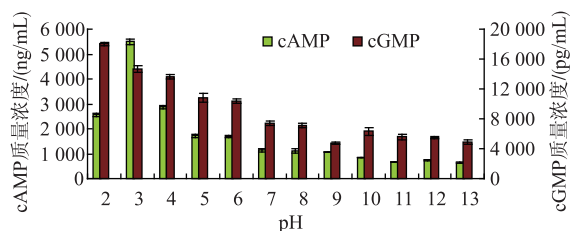


图 1 pH 对羊乳中 CNT 质量浓度的影响

Fig. 1 Effect of pH on contents of CNT

表 2 不同 pH 处理羊乳与未处理羊乳中 CNT 的质量浓度比
Table 2 Ratio between CNT contents in different pH treated goat milk and CNT contents in untreated goat milk

pH	处理样 CNT/未处理样 CNT	
	cAMP	cGMP
2	1.61	3.61
3	3.45	2.95
4	1.80	2.73
5	1.08	2.17
6	1.07	2.08
7	0.72	1.49
8	0.70	1.43
9	0.66	0.95
10	0.53	1.27
11	0.42	1.13
12	0.46	1.10
13	0.40	0.98

2.2 金属离子对羊乳中环腺苷酸质量浓度的影响

由表 3、表 4 可知,当羊乳中 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Zn^{2+} 浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时,羊乳的 cAMP 质量分数分别增加了 70%、44%、113%、37%、74%、79%和 72%;当羊乳中这些离子浓度增加到 100 $\mu\text{mol/L}$ 时,羊乳中 cAMP 质量浓度也有不同程度的增加,表明 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Zn^{2+} 离子对羊乳中 cAMP 质量浓度有促进作用。当羊乳中 Cd^{2+} 浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时,羊乳中 cAMP 质量浓度下降了 88%;当羊乳中 Cd^{2+} 浓度增加到 100 $\mu\text{mol/L}$ 时,羊乳中 cAMP 质量浓度也有所降低,表明 Cd^{2+} 离子对羊乳中 cAMP 质量浓度有降低作用。然而 Co^{2+} 对羊乳中 cAMP 质量浓度有不同的影响,当羊乳中 Co^{2+} 浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时,羊乳中 cAMP 质量浓度较未处理乳样增加 36%,而当羊乳中 Co^{2+} 浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时,羊乳中 cAMP 质量浓度比未处理羊乳降低 18%,表明低浓度(1 $\mu\text{mol/L}$) Co^{2+} 对羊乳中 cAMP 质量浓度有促进作用,而高浓度(100 $\mu\text{mol/L}$) Co^{2+} 对羊乳中 cAMP 有降低作用。

由表 3、表 4 可知,当羊乳中 Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Zn^{2+} 浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时,羊乳中 cGMP 质量浓度分别增加了 22%、6%、13%和 11%;当羊乳中这些离子浓度增加到 100 $\mu\text{mol/L}$ 时,羊乳中 cGMP 质量浓度也有不同程度的增加,表明 Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Zn^{2+} 离子对羊乳中 cGMP 质量浓度有促进作用。当羊乳中

Fe²⁺和Ni²⁺浓度为1 μmol/L时,羊乳的cGMP质量浓度分别降低了4%和6%;当羊乳中Fe²⁺和Ni²⁺浓度增加到100 μmol/L时,羊乳中cGMP质量浓度也有所降低,表Fe²⁺和Ni²⁺离子对羊乳中cGMP质量浓度有降低作用。当羊乳中Mn²⁺浓度分别为1 μmol/L和100 μmol/L时,羊乳中cGMP质量浓度变化不大,

表明Mn²⁺离子对羊乳中cGMP质量浓度影响较小。同时可以看出,羊乳中低浓度(1 μmol/L)Cd²⁺和Cu²⁺对羊乳中cGMP质量浓度有一定促进作用,而高浓度(100 μmol/L)Cd²⁺和Cu²⁺对羊乳中cGMP质量浓度具有抑制作用。

表 3 金属离子处理的羊乳中 CNT 的质量浓度

Table 3 Contents of CNT in metal ions treated goat milk

金属离子	cAMP 质量浓度/(ng/mL)			cGMP 质量浓度/(pg/mL)		
	空白	1 μmol/L	100 μmol/L	空白	1 μmol/L	100 μmol/L
Ca ²⁺	1 683.40±55.99 ^{ab}	2 866.56±43.56 ^d	3 142.90±70.63 ^b	5 158.19±245.68 ^e	6 269.98±92.58 ^b	7 106.77±117.11 ^a
Cd ²⁺	1 683.4±55.990 ^{ab}	199.99±19.17 ^j	1 565.35±75.92 ^h	5 158.19±245.68 ^e	6 305.34±79.77 ^b	3 846.04±107.06 ^g
Co ²⁺	1 683.40±55.99 ^{ab}	2 281.69±81.87 ^f	1 388.28±111.04 ⁱ	5 158.19±245.68 ^e	5 488.19±83.70 ^d	6 344.62±86.35 ^b
Cu ²⁺	1 683.40±55.99 ^{ab}	2 419.86±84.40 ^{ef}	1 769.25±67.79 ^g	5 158.19±245.68 ^e	5 264.26±197.40 ^c	2 962.10±32.19 ^h
Fe ²⁺	1 683.40±55.99 ^{ab}	3 586.92±24.86 ^a	3 541.31±57.09 ^a	5 158.19±245.68 ^e	4 961.76±61.68 ^f	3 688.89±63.79 ^g
Ni ²⁺	1 683.40±55.99 ^{ab}	2 303.15±46.13 ^f	2 323.27±64.56 ^f	5 158.19±245.68 ^e	4 851.76±89.74 ^f	4 843.90±135.64 ^f
Mg ²⁺	1 683.40±55.99 ^{ab}	2 921.56±85.41 ^{cd}	2 414.49±94.46 ^{ef}	5 158.19±245.68 ^e	5 826.05±67.01 ^c	5 680.69±43.47 ^c
Mn ²⁺	1 683.40±55.99 ^{ab}	3 011.44±23.73 ^{bc}	3 058.39±86.19 ^b	5 158.19±245.68 ^e	5 146.40±95.98 ^c	5 315.33±87.34 ^{bc}
Zn ²⁺	1 683.40±55.99 ^{ab}	2 893.39±167.98 ^{cd}	2 488.27±42.77 ^e	5 158.19±245.68 ^e	5 712.12±76.55 ^c	6 179.62±74.04 ^b

注:表中的空白表示未用金属离子处理的乳样,空白、1 μmol/L 和 100 μmol/L 的金属离子处理样中上标字母不同表示差异显著(p<0.05)。

表 4 金属离子处理羊乳与未处理羊乳中 CNT 的质量浓度比

Table 4 Ratio between CNT contents in different mental ion treated goat milk and CNT contents in untreated goat milk

金属离子	处理样 cAMP/未处理样 cAMP		处理样 cGMP/未处理样 cGMP	
	1 μmol/L	100 μmol/L	1 μmol/L	100 μmol/L
Ca ²⁺	1.70	1.87	1.22	1.38
Cd ²⁺	0.12	0.93	1.22	0.75
Co ²⁺	1.36	0.82	1.06	1.23
Cu ²⁺	1.44	1.05	1.02	0.57
Fe ²⁺	2.13	2.10	0.96	0.72
Ni ²⁺	1.37	1.38	0.94	0.94
Mg ²⁺	1.74	1.43	1.13	1.10
Mn ²⁺	1.79	1.82	1.00	1.03
Zn ²⁺	1.72	1.48	1.11	1.20

2.3 抗氧化剂对羊乳中环核苷酸质量浓度的影响

由图 2、表 5 可以看出,加入 6 种抗氧化剂的羊乳中 cAMP 的质量浓度变化趋势基本一致。未处理空白乳样贮存期间 cAMP 质量浓度无明显变化(p<0.05);加入抗氧化剂的羊乳在贮存第 2~4 d 时羊乳中 cAMP 质量浓度略有下降,其中添加 BHA 的羊乳中 cAMP 在第 2 d 时达到最低值(946.17±24.55) ng/

mL,降低了 37%,添加 BHT、TBHQ、PG、VC、VE 的羊乳中 cAMP 在第 4 d 时达到最低值(411.59±12.15) ng/mL、(546.67±36.89) ng/mL、(890.05±27.75) ng/mL、(824.66±25.90) ng/mL、(813.48±26.65) ng/mL,分别降低了 73%、64%、41%、45%和 46%;第 4 d 后添加不同抗氧化剂的羊乳中 cAMP 质量浓度均有不同程度增加。表明抗氧化剂对贮存

2~4 d 的羊乳中 cAMP 质量浓度具有降低作用,对贮存 4 d 后羊乳中 cAMP 质量浓度具有促进作用。

由图 3、表 6 中可以看出,加入 6 种抗氧化剂的羊乳中 cGMP 的质量浓度变化趋势基本一致。未处理空白羊乳贮存期间 cGMP 质量浓度无明显变化 ($p<0.05$); 加入抗氧化剂的羊乳在贮存第 2~4 d 时羊乳中 cGMP 质量浓度略有下降,其中,添加 TBHQ、BHA 第 2 d 的羊乳中 cGMP 质量浓度最低为 $(2\ 803.12\pm89.42)$ pg/mL、 $(4\ 200.86\pm139.46)$ pg/mL,相比未处理羊乳,分别降低了 40%、11%,添加 BHT、PG、VC、VE 的羊乳中 cGMP 到第 4 d 时达到最低分别为 $(3\ 422.25\pm138.70)$ pg/mL、 $(3\ 004.39\pm202.85)$ pg/mL、 $(3\ 118.61\pm131.69)$ pg/mL、 $(4\ 205.74\pm194.95)$ pg/mL,降幅分别为 27%、36%、34%和 10%;第 4 d 后添加不同抗氧化剂的羊乳中 cGMP 质量浓度均有不同程度增加。表明抗氧化剂对贮存 2~4 d 的羊乳中 cGMP 质量浓度具有降低作用,对贮存 4 d 后的羊乳中 cGMP 质量浓度具有促进作用。

表 5 抗氧化剂处理羊乳与未处理羊乳中 cAMP 的质量浓度比

Table 5 Ratio between cAMP contents in different antioxidants treated goat milk and CNT contents in untreated goat milk

添加时间/d	抗氧化剂						
	TBHQ	BHT	BHA	PG	VC	VE	空白
0	1.03	1.02	0.99	1.03	1.02	0.97	1.00
2	0.37	0.58	0.63	0.91	0.61	0.81	1.03
4	0.27	0.36	0.69	0.59	0.55	0.54	1.00
6	0.52	0.60	0.77	0.85	0.72	1.01	0.99
8	0.90	1.02	1.14	1.36	1.11	1.24	1.02

表 6 抗氧化剂处理羊乳与未处理羊乳中 cGMP 的质量浓度比

Table 6 Ratio between cGMP contents in different antioxidants treated goat milk and CNT contents in untreated goat milk

添加时间/d	抗氧化剂						
	TBHQ	BHT	BHA	PG	VC	VE	空白
0	1.05	1.04	1.03	0.99	0.95	0.97	1.00
2	0.60	0.76	0.89	0.96	0.72	1.01	0.98
4	0.69	0.73	0.94	0.64	0.66	0.90	1.01
6	0.93	0.89	1.01	0.96	0.89	1.16	1.00
8	0.97	1.17	1.05	1.18	1.34	1.38	0.99

3 讨论

环核苷酸是由三磷酸核苷酸经核苷酸环化酶 (NC)催化合成,能被磷酸二酯酶(PDE)催化水解成单核苷酸;Wada^[10]研究表明 pH 对 NC 和 PDE 的催化特性产生影响,并且在 pH 7.5 时 PDE 的活性最

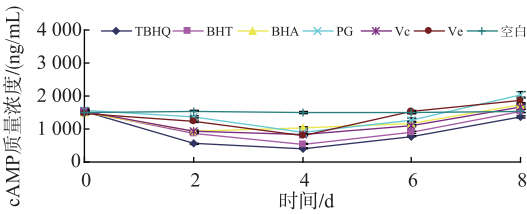


图 2 抗氧化剂处理的羊乳中 cAMP 质量浓度的变化

Fig. 2 Changes of cAMP concentration in antioxidants treatment goat milk

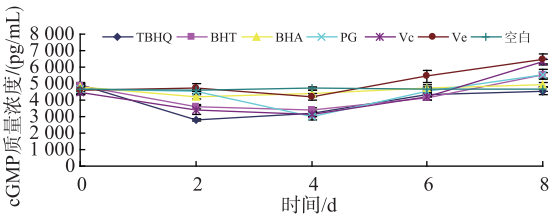


图 3 抗氧化剂处理的羊乳中 cGMP 质量浓度的变化

Fig. 3 Changes of cGMP concentration in antioxidants treatment goat milk

高,因此 pH 可通过影响 NC 和 PDE 的活性而影响 CNT 的含量。研究中羊乳中 cAMP 和 cGMP 质量浓度在碱性条件时下降较多,这可能与羊乳 pH 在中性偏碱性条件下 PDE 活性较高,使羊乳中已有的环核苷酸分解,引起 CNT 质量浓度下降有关。底物类似物和竞争性抑制剂也可以诱导 PDE 变构或激活

PDE,因此羊乳中 CNT 也能调节 PDE 的活性^[11]。酶的结构变化以及 CNT 的质子化作用均与 pH 影响 CNT 质量浓度有关^[9],CNT 的重要基团有环上的磷酸基团和嘌呤环上的氨基基团,其中磷酸基团易在 pH 7.4 时解离,这会造成 CNT 在 pH 7.5 时水解度达最高^[10];CNT 中互变异构化的烯醇基团在更高 pH 值时有助于 PDE 对 CNT 的水解,因此高 pH 对羊乳中 cAMP 和 cGMP 含量有一定降低作用。

Thomas^[12]研究发现,金属离子的存在会加速或抑制 CNT 被相关 PDE 水解,部分金属离子可与 PDE 的磷酸基团络合,降低其活性,从而减缓 CNT 的水解,一些金属离子则会对 PDE 起激活作用,加速 CNT 的水解。胞内 CNT 水平部分是由多种 PDE 的活性所调节的,这些酶的活性受二价金属离子调节^[13]。研究发现,Mg²⁺、Zn²⁺、Mn²⁺、Ni²⁺、Co²⁺能调节牛心脏中依赖 CNT 的 PDE 的活性^[12,14],因此在羊乳中这些金属离子也可通过改变羊乳中 PDE 活性调节 CNT 含量。Law^[15]研究发现 Zn²⁺的主要作用是抑制 PDE 的活性,Zn²⁺处理的羊乳中 CNT 高于未处理羊乳,该结果与 Law 的研究一致;体内 Mg²⁺较其他金属离子浓度高,对体内 PDE 活性的调节起主导作用^[14],Ca²⁺、Fe²⁺、Cu²⁺离子对 PDE 活性也有不同程度的调节作用^[8,16-17]。二价金属离子可以和 CNT 的磷酸或含氮氨基结合^[18],如 Mn²⁺可以通过螯合 CNT 而调节羊乳中 CNT 质量浓度。重金属 Cd²⁺通过 cGMP/NO 通道对身体产生负面影响^[19],研究了 Cd²⁺对 CNT 的影响,结果显示低浓度的 Cd²⁺可减少羊乳中

cAMP 的质量浓度。

TBHQ、BHT、BHA、PG、VE 属于酚型抗氧化剂,可有效清除自由基,自由基清除剂能借助键的均裂,释放出体积小、亲合性强的氢自由基^[20],与反应生成的自由基结合而生成分子态化合物,将高势能的极活跃的自由基转变为较稳定的分子,从而中断链反应的传递速度,VC 属于脱氧剂^[21],这些物质对氧有强的亲合力,可保护腺苷酸环化酶和鸟苷酸环化酶的活性。抗氧化剂一方面可抑制 PDE 活性,阻止 CNT 水解成单核苷酸^[22-23],另一方面,抗氧化剂可清除自由基,保护 AC 和 GC 不受影响^[24-25]。羊乳中 CNT 在抗氧化剂加入第 2~4 d,羊乳中 CNT 质量浓度降低,第 4 d 后羊乳中 CNT 质量浓度逐渐升高,可能与羊乳中腺苷酸环化酶和鸟苷酸环化酶有关。

4 结 语

对影响羊乳中环核苷酸质量浓度的化学因素的研究,表明酸性环境可提高羊奶中 cAMP 和 cGMP 的质量浓度,而碱性环境可降低羊乳中 cAMP 和 cGMP 质量浓度;金属离子 Ca²⁺、Cu²⁺、Fe²⁺、Ni²⁺、Mg²⁺、Mn²⁺和 Zn²⁺对羊乳中 cAMP 质量浓度的增加有促进作用,Cd²⁺降低了 cAMP 的质量浓度;Ca²⁺、Co²⁺、Mg²⁺、Zn²⁺对羊乳中 cGMP 质量浓度有增加的作用,Fe²⁺和 Ni²⁺对羊乳中 cGMP 质量浓度有降低的作用;抗氧化剂对贮存初期的羊乳中 cAMP 和 cGMP 有明显的抑制作用。

参考文献:

- [1] HAENLEIN G F W. Goat milk in human nutrition[J]. **Small Ruminant Research**,2004,51(51):155-163.
- [2] AI Dui,ZHANG Fuxin,YU Lingling,et al. Optimization of head space solid phase micro-extraction conditions for volatile components in goat milk[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2015,34(1):40-46.
- [3] GU Haofeng,ZHANG Fuxin,LIANG Lei,et al. Comparison of nutritional components for goat milk,cow milk and human milk [J]. **Science and Technology of Food Industry**,2012,33(8):369-373.
- [4] WANG Pan,ZHANG Fuxin,LUO Jun,et al. Screening fine fermentation strains for goat's yogurt [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2010,29(3):442-447.
- [5] CLARK S,SHERBON J W. Alphas1-casein,milk composition and coagulation properties of goat milk [J]. **Small Ruminant Research**,2000,38(2):123-134.
- [6] SKALA J P,KOLDOVSKY O,HAHN P. Cyclic nucleotides in breast milk [J]. **American Journal of Clinical Nutrition**,1981,34(3):343-350.
- [7] JOHANNA G,CHRISTIAN C,KATHRIN B,et al. Immunoregulatory impact of food antioxidants [J]. **Current Pharmaceutical Design**,2013,20(6):840-849.
- [8] WICKSON R D. Activation of 3',5'-cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase by calcium ion and a protein activator[J].

- Biochemistry**, 1975, 14(4):669-676.
- [9] ESSAYAN D M. Cyclic nucleotide phosphodiesterase(PDE) inhibitors and immunomodulation[J]. **Biochemical Pharmacology**, 1999, 57(9):965-973.
- [10] WADA H. Effects of pH on allosteric and catalytic properties of the guanosine cyclic 3',5'-phosphate stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase from calf liver[J]. **Biochemistry**, 1987, 26(20):6565-6570.
- [11] 杨炼,沈燕霆,李英雨,等. 肌苷酸和鸟苷酸的热稳定性和酸稳定性[C]//第十四届中国国际食品添加剂和配料展览会,北京;2010.
- [12] THOMAS E. Donnelly. Effects of zinc chloride on the hydrolysis of cyclic GMP and cyclic AMP by the activator-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase from bovine heart[J]. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1978, 522(1):151-160.
- [13] Téllez-Inón M T, TORRES H N. Cyclic nucleotide phosphodiesterase activities in rat erythrocytes [J]. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 1982, 43(3):161-166.
- [14] FAZAKERLEY G V, JACKSON G E, PHILLIPS M A, et al. A quantitative investigation of the interaction of copper (II) and manganese (II) with some purine bases, nucleosides and nucleotides by nuclear magnetic resonance [J]. **Inorganica Chimica Acta**, 1979:151-160.
- [15] LAW J S, MCBRIDE S A, GRAHAM S, et al. Zinc deficiency decreases the activity of calmodulin regulated cyclic nucleotide phosphodiesterases in vivo in selected rat tissues[J]. **Biological Trace Element Research**, 1988, 16(3):221-226.
- [16] KACZMAREK P, JEZOWSKA B M. Coordination properties of 3',5' -cyclic adenosine monophosphate towards copper (II) ions[J]. **Inorganica Chimica Acta**, 2005, 358(6):2073-2076.
- [17] LOMOZIK L, GASOWSKA A, BASINSKI K, et al. Potentiometric and spectral studies of complex formation in the Cu(II), 3', 5'-cyclic adenosine monophosphate, and tetramine systems[J]. **Journal of Coordination Chemistry**, 2013, 66(2):261-273.
- [18] JANCZO A, MIKKOLA S, LONNBERG H, et al. Phosphodiester cleavage of ribonucleoside monophosphates and polyribonucleotides by homo- and heterodinuclear metal complexes of a cyclohexane-based polyamino-polyol ligand [J]. **Chemistry**, 2003, 9(21):5404-5415.
- [19] WATJEN W, BENTERS J, HAASE H, et al. Zn²⁺ and Cd²⁺ increase the cyclic GMP level in PC12 cells by inhibition of the cyclic nucleotide phosphodiesterase[J]. **Toxicology**, 2001, 157(3):167-175.
- [20] ZAKNUN D, SCHROECKSNADEL S, KURZ K, et al. Potential role of antioxidant food supplements, preservatives and colorants in the pathogenesis of allergy and asthma [J]. **International Archives of Allergy and Immunology**, 2012, 157(2):113-124.
- [21] 刘奕博. 婴幼儿配方奶粉中维生素 C 稳定性研究[D]. 长沙:中南林业科技大学, 2013.
- [22] DOSTALER T V, BEDARD F, GUILLEMETTE C, et al. Cyclic adenosine monophosphate (cAMP)-specific phosphodiesterase is functional in bovine mammary gland[J]. **Journal of Dairy Science**, 2009, 92(8):3757-3765.
- [23] CALLAHAN S M, CORNELL N W, DUNLAP P V. Purification and properties of periplasmic 3',5' - cyclic nucleotide Phosphodiesterase[J]. **Journal of Biological Chemistry**, 1995, 270(29):17627-17632.
- [24] TANG Shengqiu, DONG Xiaoying, ZHOU Xiaoting. Studies on 3',5' -cyclic adenosine monophosphate and its applications in animal nutrition[J]. **Chinese Journal of Animal Science**, 2006, 42(5):53-56.
- [25] COHRS R J. Effect of vitamin E succinate and a cAMP-stimulating agent on the expression of c-myc and N-myc and H-ras in murine neuroblastoma cells[J]. **International Journal of Developmental Neuroscience**, 1991, 9(2):187-194.