

牛乳乳清蛋白的人乳化改性

杨方琪 张 晖 高福成

(食品科学与工程系)

摘要 婴儿对牛乳的过敏反应源于乳清中 β -乳球蛋白,为了消除这种过敏性,本研究采用盐析法去除牛乳乳清中的 β -乳球蛋白的同时尽量保留其它蛋白质。

关键词 牛乳;乳清蛋白;人乳化;盐析

0 前 言

牛乳乳清中约含有0.7%的蛋白质,称为乳清蛋白,其中主要的蛋白质为: β -乳球蛋白(44%)、 α -乳白蛋白(20%)、血清白蛋白(5%)和免疫球蛋白(13%)^[1]。而人乳乳清中以 α -乳白蛋白为主,不含有 β -乳球蛋白。现有的婴儿配方乳加入了大量的脱盐乳清以调节牛乳酪蛋白和乳清蛋白的比例,使之与人乳相似,这种配方乳中大量含有的 β -乳球蛋白是造成婴儿乳蛋白过敏的主要原因^[2]。虽然乳蛋白的过敏或超敏性的发病率较低,但是一旦发生会有严重的病症出现,诸如:呕吐、腹泻、胃肠分泌与消化紊乱、湿疹、支气管炎、体重下降甚至过敏性休克等,有时也损伤小肠粘膜^[2]。对于新生儿来说,它是一种劣质蛋白质,即使没有过敏反应,它的大量存在也相对减少了优质蛋白质的量,而要保证优质蛋白质的量,又会使蛋白质过量,以婴儿每天所需摄取蛋白质3.5g/kg体重为标准,婴儿配方乳中蛋白质含量应在1.2~1.9g/100ml之间^[2],过多地摄取蛋白质会在血液中残留氮,同时尿中排泄的尿素量也会增加,而婴儿的肾脏排泄蛋白质降解物的功能还不发达;摄取过多蛋白质的同时若维生素供给不足,会导致酪氨酸血症,并引起低烧状态的持续发展。

因此,为了根本改变牛乳乳清中 β -乳球蛋白对婴儿的种种危害,本研究力求在保留乳清其它蛋白质的基础上,用盐析法去除 β -乳球蛋白。

1 实验材料和方法

1.1 实验原料和试剂

鲜牛乳 无锡市马山牛奶场提供

收稿日期:1994-02-12

进口脱盐乳清粉 无锡县乳品厂提供

PAGE 凝胶电泳成套试剂 AR 上海化学试剂采购站供应

732 强酸性乙烯阳离子交换树脂 上海化学试剂采购站供应

717 强碱性乙烯阴离子交换树脂 上海化学试剂采购站供应

HH-电热恒温水浴锅

LXJ-2 离心沉淀机

DYY-3-4 型电泳仪,垂直平板电泳槽

1.2 实验方法

1.2.1 鲜乳清的准备和检测 鲜牛乳在 pH4.6 时沉淀酪蛋白后的清液,再调节 pH 至 4.2,离心分离去除沉淀物,即为鲜乳清。鲜乳清分别采用凯氏定氮法^[3]测定蛋白质含量和灰化法^[3]测定灰分含量。

1.2.2 乳清蛋白的电泳分析 电泳技术是分析乳清蛋白中各组分的唯一较简单廉价的方法,关于分析乳清蛋白的电泳方法,主要有以下 5 种,见表 1。

表 1 分析乳清的电泳方法

方 法	条件(分离胶) (%)	条件(浓缩胶) (%)	其 它
SDS-PAGE 1 ^[4]	10	3.0	含 0.2%SDS
SDS-PAGE 2 ^[5]	8	3.0	含 0.2%SDS
PAGE 1 ^[6]	8	3.5	/
PAGE 2 ^[7]	10	4.0	/
PAGE 3 ^[7]	12	4.0	/

对这 5 种电泳方法的分别试验与比较,发现在现有的实验条件下,只有最后一种方法能够最清晰地分离乳清中的各种蛋白质,所以本研究采用此方法作为乳清蛋白人乳化改性结果的检测手段。

1.2.3 乳清蛋白的人乳化改性^[4]及优化实验^[8] 将乳清(或脱盐乳清粉配制成 0.65%蛋白质含量的溶液)调节 pH 至 3.0~5.0 附近,

添加适量的氯化铁后,再将 pH 调回到原处,混匀,静置 1~2h,以 4000r/min 速率离心分离 15min,清液即为去除了 β -乳球蛋白的人乳化改性乳清;沉淀为 β -乳球蛋白 部分,收集备用。用响应曲面分析法(RSA)进行优化。

1.2.4 铁离子的初步去除^[4] 经人乳改性的乳清液用 3mol/L NaOH 调节 pH 至 7~10,在 4℃下放置 4h,离心分离,清液即为初步去铁的改性乳清。

1.2.5 离子交换法脱盐^[9,1] 阴阳离子交换树脂用 7%的 HCl、8%的 NaOH 和蒸馏水分别处理成 OH 型和 H 型^[10],初步去铁的乳清以 2~3 倍的量加入 H 型阳树脂中,搅拌 15min,得到清液再用同样的方法和 OH 型阴树脂交换。用过的阴、阳树脂需再生,用 2~3 倍的 5%~7%的 HCl 处理阳树脂,用 2~3 倍的 5%~8%的 NaOH 处理阴树脂,分别转化为 H 型和 OH 型^[10]

2 结果与讨论

2.1 牛乳乳清中蛋白质和灰分的含量

鲜乳清蛋白质含量为 0.65%,灰分为 0.46%。

2.2 乳清蛋白的人乳化改性

由于乳清蛋白并不呈很强的结合,一般化学分级分离方法就能将各种乳清蛋白分离,如用六偏磷酸钠沉淀 β -乳球蛋白^[5],NaCl 沉淀 β -乳球蛋白^[11]等,本研究选用 FeCl_3 ,因 FeCl_3 不仅无毒无害,且用量少,相对较易去除。

PAGE 电泳能够较清晰地将鲜乳清蛋白分离为 α -乳白蛋白、 β -乳球蛋白 A 和 β -乳球蛋白 B 等三条主要谱带。鲜乳清经 FeCl_3 处理后,用电泳检测,发现 β -乳球蛋白 A 和 β -乳球蛋白 B 两条谱带基本消失了,只留下较淡的痕迹,经定量扫描后,显示 β -乳球蛋白 A 和 β -乳球蛋白 B 的电泳谱带面积减少了约 90% 以上,相反, α -乳白蛋白的电泳谱带面积只略有减少。这说明,改性达到了去除 β -乳球蛋白,保留 α -乳白蛋白的根本目的。电泳图如图 1 所示。

为了获得较理想的条件和结果,我们采用响应曲面分析法(RSA)进行乳清改性的最优化,此优化是三因素三水平的 15 个实验,三因素分别为 pH 值、 FeCl_3 添加量和反应时间。15 个实验的结果经电泳检测并定量扫描,所得的 α -乳白蛋白的回收率与 β -乳球蛋白(包括 A 和 B)回收率之比作为响应值,经计算机处理后得回归系数, F 值和等高图,对数据和图进行分析整理后,显示在最优的 pH 值、 FeCl_3 添加量和反应时间下,乳清的人乳化改性可去除 96.4% 的 β -乳球蛋白,同时保留 83% 的 α -乳白蛋白,优化的结果见表 2 及部分等高图(图 2)如下:

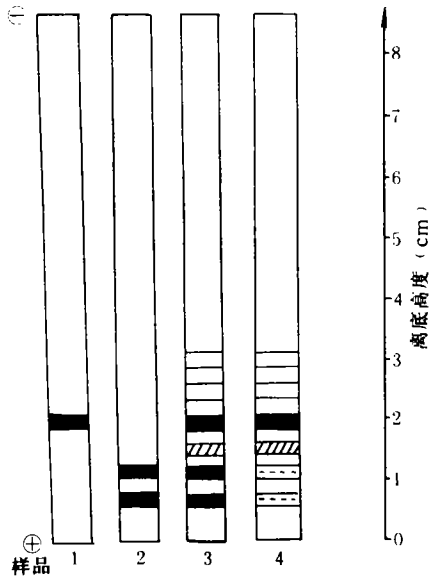


图 1 人乳化改性乳清的电泳图

- 强
- ▨

中等
- ⋯

弱
- 样品 1 标准 α -乳白蛋白
- 样品 2 标准 β -乳球蛋白 A、B
- 样品 3 原乳清蛋白
- 样品 4 人乳化改性的乳清蛋白

表 2 RSA 优化结果

序 号	$R_{\alpha}(\%)$	$R_{\beta}(\%)$	R_{α}/R_{β}
1	5.9	15.8	0.4
2	9.5	24.7	0.4
3	76.2	3.9	19.5
4	0.9	1.9	0.5
5	97.9	18.2	5.4
6	94.1	7.6	12.4
7	78.3	5.9	13.3
8	85.8	7.6	11.3
9	79.5	21.6	3.7
10	86.9	26.0	3.3
11	90.7	51.4	1.8
12	76.5	18.0	4.3
13	76.3	3.2	23.8
14	80.3	3.5	22.9
15	83.8	3.6	23.3

R_{β} β -乳球蛋白的回收率

R_{α} α -乳白蛋白的回收率

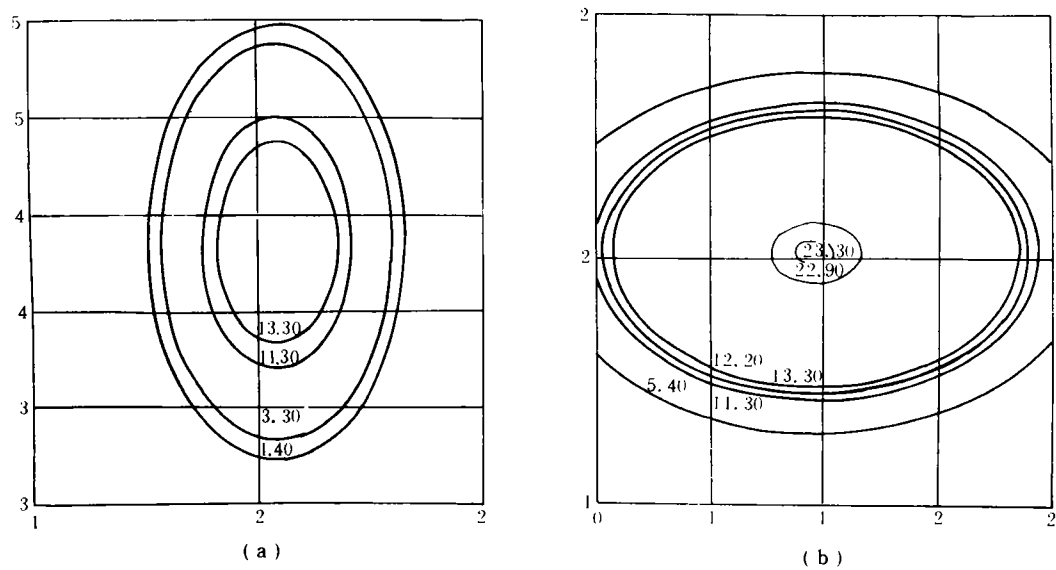


图 2 RSA 优化等高图

(a)图反映的是在一定的反应时间(0.5h)的条件下,pH 值和 FeCl₃ 添加量对响应值的影响
(b)图反映的是在一定 pH 值(4.2)的条件下反应时间与 FeCl₃ 添加量对响应值的影响

与文献值相比,β-乳球蛋白的去除率是高的(文献值为 90%),但是α-乳白蛋白的保留率则是低的(文献值为 95%)。主要原因是本优化研究是以两种蛋白质的回收率之比为响应值的,以这个响应值作为衡量实验结果好坏的标准,反映的是相对于β-乳球蛋白的去除,α-乳白蛋白保留越多越好,所以必然得出这样的结论。否则,优化中的第 6 个实验也许可以认为是最佳的,其β-乳球蛋白去除了 92%,α-乳白蛋白保留了 94%。因此,β-乳球蛋白和α-乳白蛋白到底去除和保留到何种程度为最佳,还有待进一步地研究和探索。

2.3 去铁和脱盐

在 pH7~10 范围内,不同的 pH 值,去除铁离子的量也不同,用原子吸收法测得铁离子的去除情况见表 3。

表 3 铁离子的去除情况

pH 值	7.0	8.0	8.5	9.0	10.0
Fe ³⁺ 浓度 (mg/ml)	31.3	31.3	27.2	26.4	24.3
去铁离子量 (%)	12.8	12.8	24.2	26.4	32.3

由表 3 可见,在 pH10 时去除铁离子最多,达 32.3%,虽然 pH 值大于 10 时效果会更好,但太高的 pH 值易使蛋白质变性,所以应在 pH10 处先去除一部分铁离子,以减轻脱盐的负担,而脱盐又正好将未去除的铁离子一并去除。经离子交换后,人乳化改性后的乳清 中的灰分可由原乳清的 0.46%降低至 0.1%左右,这样的脱盐乳清对于婴儿是理想的。

3 结 论

牛乳乳清蛋白经人乳化改性后,去除了 95% 的 β -乳球蛋白,因此可以说,引起婴儿乳蛋白质过敏的因子基本上不存在了,将非常适合用于制造婴儿配方乳。用这种改性的乳清与改性后的酪蛋白按一定比例调配后制成新一代的婴儿配方乳,既能使婴儿容易消化吸收,又不会引起过敏性反应,再配上一些维生素,微量元素和免疫因子等,用于新生婴儿的人工喂养,将可改善人工喂养婴儿的健康水平。

在牛乳乳清蛋白和酪蛋白的人乳化改性处理中剔除下来的蛋白质,也有很大的利用价值,对于成人,这些蛋白质都是优质的,可以用于制作酸乳、酸乳饮料等,在风味,质地和口感上均上乘。

参 考 文 献

- 1 李淑敏. 新型乳品加工. 轻工业出版社, 1989
- 2 金世琳. 乳品生物化学. 轻工业出版社, 1988
- 3 无锡轻工业学院等. 食品分析. 轻工业出版社, 1989
- 4 Kaneks T, BT Wu. Selective Conoentration of Bovine Immunoglobulins and α -Lactalbumin from Acid Whey Using FeCl_3 . J of Food Science, 50-1531
- 5 Al-Mashhikh S A. Recluction of β -Lactoglobulin Content of Chese Whey by Polyosphate Precipitation. J of Food Science, 52-1237
- 6 Kuwata T. Elimination of β -Lactoglobulin from Whey to Simulate Human Milk Protein. J of Food Science, 50-605
- 7 KF, NG-Kwai-Hang. Rapid Separation and Quantifacation of Major Casein and Whey Protein of Bovine Milk by Poluacrlamide Gil Heatrophoresis. J of Food Science, 67-3052
- 8 Aguilera J M. Soybean Extruded Product A Response Surface Analysis. J of FOod Science, 41-647
- 9 Marshall K R. Industrial Isolation of Milk Protein; Whey Proteins. Developments in Dairy Chemistry-1
- 10 邵长富等. 软饮料工艺学. 轻工业出版社, 1987
- 11 Akila E M. Lipophilization of β -Lactoglobulin. Effect on Allergenicity and Digestibility. J of Food Science, 55-718

Preparation of A Humauized Whey Protein

Yang Fangqi Zhang Hui Gao Fucheng

(Dept. of Food Sci. and Eng.)

Abstract The predominance of the β -Lactoglobulin in the bovine milk causes allergic problem on infants. In order to minimized the allergy effect, FeCl_3 was used to precipitate the β -Lactoglobulin, while the other whey proteins were retained. The treated whey protein would be more suitable for infants.

Key-words Milk; Whey protein; Humanize; Salt precipitate