

羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质体外模拟消化研究

顾浩峰^{1,2}, 张富新^{1,*}, 张怡¹

(1. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062; 2. 安康学院农学与生命科学院, 陕西 安康 725000)

摘 要: 以全脂羊奶粉和牛奶婴儿配方奶粉为对照, 模拟婴儿胃肠消化环境对3组羊奶婴儿配方奶粉中的蛋白质进行体外模拟消化研究, 测定其体外胃消化率、肠消化率、总消化率和消化液中氨基酸的含量。结果表明: 羊奶婴儿配方奶粉的体外胃消化率、肠消化率及胃肠总消化率均显著高于牛奶配方奶粉和全脂羊奶粉($P < 0.05$); 羊奶婴儿配方奶粉体外消化液中总氨基酸和必需氨基酸的含量较高, 其中总氨基酸含量为112.94~117.55mg/100g消化液, 必需氨基酸含量为75.61~78.89mg/100g消化液。由此说明羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质能较好地被机体吸收利用, 营养价值较高。

关键词: 羊奶婴儿配方奶粉; 蛋白质; 体外模拟消化; 消化率

in vitro Digestion of Proteins in Goat Milk Formula

GU Hao-feng^{1,2}, ZHANG Fu-xin^{1,*}, ZHANG Yi¹

(1. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China;

2. College of Agriculture and Life Sciences, Ankang University, Ankang 725000, China)

Abstract: *in vitro* digestion of proteins in goat milk formula was conducted in a simulated digestion environment of infants. Whole goat milk powder and cow milk infant formula powder were used as controls. The *in vitro* gastric, intestinal and total digestibility of proteins was measured. The results showed that the *in vitro* gastric, intestinal and total digestibility of proteins in goat milk formula was significantly higher than that in cow milk formula and whole goat milk powder ($P < 0.05$), and amino acid contents in digestive juice for goat milk formula were also higher. The content of total amino acids was 112.94 to 117.55 mg/100 g digestive juice and the content of essential amino acids was 75.61 to 78.89 mg/100 g digestive juice. Therefore, proteins in goat milk formula are nutritional due to easy absorption.

Key words: goat milk infant formula; protein; *in vitro* digestion; digestibility

中图分类号: TS252.51

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)19-0302-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201319062

婴儿时期是人生中最重要生理阶段,在此期间生长发育旺盛,因此需要摄入营养全面、易于消化吸收的食物^[1]。长期以来,母乳被视为婴儿的最佳食品,但由于女性工作、健康等原因,婴儿的母乳喂养率较低,因此,研究开发母乳替代品已经成为营养学家和乳品工作者研究的热点问题^[2-3]。蛋白质是母乳替代品中一类重要的营养素,它是婴儿生长发育必要的物质基础,所以质优量足的蛋白质对婴儿时期生长发育及各项生理功能具有重要意义^[4-5]。目前,我国主流的母乳替代品是牛奶婴儿配方奶粉,其他种类的婴儿配方食品较少。但近年来,随着牛奶婴儿配方奶粉过敏案例的不断增多和人们营养意识的提升,具有较低致敏率和丰富营养价值

的羊奶和以羊奶为主要原料的婴儿配方奶粉受到人们普遍重视^[6-7],但有关羊奶婴儿配方奶粉,特别是其消化吸收方面的研究目前报道较少。因此实验采用胃蛋白酶和胰蛋白酶模拟婴儿体内消化环境,研究羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质的消化性,评价羊奶婴儿配方奶粉的营养价值,为进一步研究和开发羊奶婴儿配方奶粉提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

全脂羊奶粉: 蛋白质24.84%、脂肪31.85%、碳水

收稿日期: 2012-09-25

基金项目: 陕西省农业科技创新项目(2010NKC-10); 国家公益性行业(农业)科研专项(201103038);

西安市科技富民工程项目(NC08025); 科技部农业成果转化资金项目(2009GB2G000368)

作者简介: 顾浩峰(1986—),男,硕士研究生,研究方向为食品科学。E-mail: ghf_ghf@126.com

*通信作者: 张富新(1962—),男,教授,博士,研究方向为乳品科学。E-mail: ghf_ghf@163.com

化合物34.34%，由陕西圣唐乳业有限公司生产；牛奶婴儿配方奶粉：蛋白质12.5%、脂肪26%、碳水化合物56%，购于超市某品牌牛奶婴儿配方奶粉；羊奶婴儿配方奶粉：由本实验室研究的3种羊奶婴儿配方奶粉，其成分均符合国家标准。其中配方1含蛋白质13.5%、脂肪26.99%、碳水化合物56%；配方2含蛋白质13.51%、脂肪27%、碳水化合物56.27%；配方3含蛋白质13.49%、脂肪27%、碳水化合物58.11%。

胃蛋白酶、胰蛋白酶 美国Amresco公司；硫酸铜、硫酸钾、三氯乙酸、98%浓硫酸、盐酸、硼酸、甲基红、溴甲酚绿、95%乙醇、氢氧化钠均为分析纯。

1.2 仪器与设备

HH-S4型电热恒温水浴锅 北京科伟永兴仪器有限公司；KDY-9810凯氏定氮仪 北京市通润源机电技术有限公司；消化炉 瑞典FOSS公司；智能型全温振荡器 金坛市金南仪器制造有限公司；低温高速离心机德国Sigma公司；DN-12氮吹仪 上海比朗仪器有限公司；L-8900全自动氨基酸分析仪 日本Hitachi公司。

1.3 方法

1.3.1 外模拟胃消化

体外模拟胃消化参照Johns^[8]的方法并对其加以改进。将奶粉样品用蒸馏水配制成蛋白质质量分数为1%的乳液，于37℃水浴中预热10min，用1mol/L的HCl调乳液pH3。在每100mL乳样中添加 3×10^6 U胃蛋白酶(即每克蛋白质对应的酶用量为 3×10^6 U)，于37℃恒温摇床上消化水解1.5h，然后用1mol/L的NaOH调节乳液pH值至7灭酶，测定其中蛋白质的胃消化率。

1.3.2 体外模拟肠消化

体外模拟肠消化参照Johns^[8]的方法并对其加以改进。将奶粉样品用蒸馏水配制成蛋白质质量分数为1%的乳液，于37℃水浴中预热10min，用1mol/L的NaOH调乳液pH7。在每100mL乳样中添加 1.25×10^5 U胰蛋白酶(即每克蛋白质对应的酶用量为 1.25×10^5 U)，于37℃恒温摇床上消化水解2h，然后沸水浴5min灭活，测定其中蛋白质的肠消化率。

1.3.3 体外模拟总消化

体外模拟总消化参照Johns^[8]的方法并对其加以改进。将奶粉样品用蒸馏水配制成蛋白质质量分数为1%的乳液，于37℃水浴中预热10min，用1mol/L的HCl调乳液pH3。在每100mL乳样中添加 3×10^6 U胃蛋白酶(即每克蛋白质对应的酶用量为 3×10^6 U)，于37℃恒温摇床上消化水解1.5h，然后用1mol/L的NaOH调节乳液pH值至7。再向每100mL乳样中添加 1.25×10^5 U胰蛋白酶(即每克蛋白质对应的酶用量为 1.25×10^5 U)，于37℃恒温摇床上消化水解2h，然后沸水浴5min灭活，测定其中蛋白质的总消化率。

1.4 指标测定

1.4.1 蛋白质体外消化率的测定

乳样中蛋白质的消化率测定参照于立梅等^[9]和任大喜等^[10]的方法。取4mL乳样消化液于10mL离心管中，向其中加入等体积24%的三氯乙酸溶液沉淀蛋白，14000r/min离心20min，收集上清液，用凯氏定氮法测定其中氮的含量(盐酸标准液用0.01mol/L)，样品中蛋白质含量用凯氏定氮法测定，然后用下面公式计算消化率，其中空白实验以蒸馏水代替乳样消化液。

$$\text{蛋白质消化率}/\% = \frac{(m_1 - m_0) \times 6.38}{m_2} \times 100$$

式中： m_1 为样品上清液中氮的含量/g； m_0 为空白上清液中氮的含量/g； m_2 为样品中蛋白质的含量/g。

1.4.2 体外消化液中氨基酸的测定

取4mL 1.3.3节制备的乳样消化液，依照方法1.4.1节沉淀未消化的蛋白质，收集上清液，采用氨基酸自动分析仪测定上清液中氨基酸的含量。样品用6mol/L HCl水解后测定，其中色氨酸用6mol/L NaOH水解后测定。

1.5 数据处理

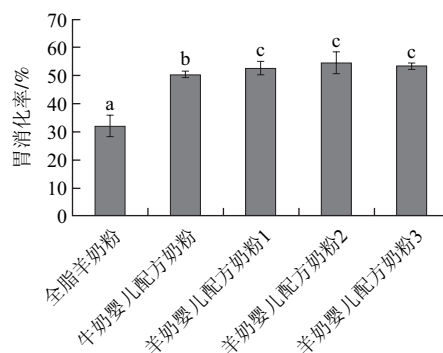
实验数据采用SPSS19.0 One Way ANOVA软件分析处理，并进行显著性差异分析。

2 结果与分析

2.1 羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质的体外消化率

消化率是机体消化吸收的食物量占食物总摄入量的百分比，是评价食物营养价值的重要指标之一。本实验以全脂羊奶粉和牛奶婴儿配方奶粉为对照，采用胃蛋白酶和胰蛋白酶模拟婴儿胃肠道环境，对3组羊奶婴儿配方奶粉进行体外模拟胃、肠消化实验，评价羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质体外胃消化率、肠消化率以及总消化率。

2.1.1 羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质的体外胃消化率



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

图1 不同奶粉样品中蛋白质体外胃消化率

Fig.1 in vitro gastric digestibility of proteins in different milk powders

由图1可知,不同奶粉样品中蛋白质在模拟胃环境下的消化率有一定差别。全脂羊奶粉的体外消化率最低($P<0.05$),婴儿配方粉中蛋白质的消化率较高,其中3组羊奶婴儿配方奶粉的胃消化率最高,且显著高于牛奶婴儿配方奶粉组($P<0.05$),表明羊奶婴儿配方奶粉蛋白质的营养价值较高。但总体来看,不同样品奶粉中蛋白质在体外模拟胃消化环境下消化率均不高,说明婴儿摄入的食物蛋白只有少部分在胃内进行了消化,大部分蛋白质将在后续的小肠中进行消化吸收,这与Hamosh^[11]的报道一致。

2.1.2 羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质的体外肠消化率

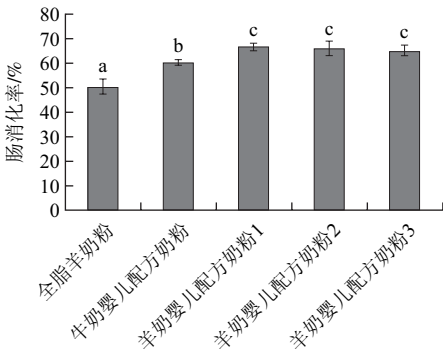


图2 不同样品奶粉中蛋白质的体外肠消化率

Fig.2 in vitro intestinal digestibility of proteins in different milk powders

由图2可知,3组羊奶婴儿配方奶粉的蛋白质的体外肠消化率无明显差别($P>0.05$),但显著高于牛奶婴儿配方奶粉和全脂羊奶粉的消化率($P<0.05$),表明羊奶婴儿配方奶粉的蛋白质更易被人体消化吸收。几种奶粉蛋白质的体外肠消化率均大于50%,尤其是羊奶婴儿配方奶粉蛋白质体外肠消化率接近70%,说明婴儿摄入的食物蛋白质主要是在小肠内进行消化吸收,这与Hamosh^[11]、余泽爱^[12]等的报道结果一致。

2.1.3 羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质的体外胃肠总消化率

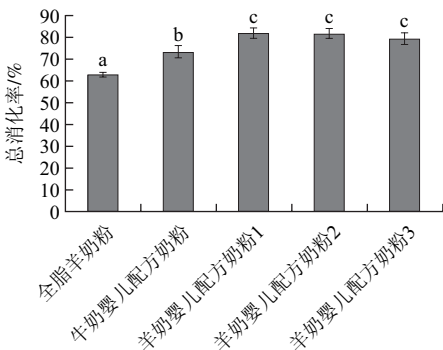


图3 不同奶粉样品中蛋白质的体外总消化率

Fig.3 in vitro total digestibility of proteins in different milk powders

由图3可知,3组羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质的体外胃肠总消化率无明显差别($P>0.05$),均达到80%,但显著高于牛奶婴儿配方奶粉和全脂羊奶粉的消化率

($P<0.05$),表明羊奶婴儿配方奶粉中大部分蛋白质能够得到机体的吸收利用,所以从蛋白质消化吸收角度来看,羊奶婴儿配方奶粉营养价值更高。可以看出,婴儿能够对摄入的大部分蛋白质进行消化吸收。

2.2 羊奶婴儿配方奶粉体外模拟胃肠消化液中氨基酸含量的分析

在模拟样品奶粉在婴儿体内消化之后,将未消化的蛋白质从消化体系中分离,测定消化液中氨基酸的含量。从可被机体吸收利用的氨基酸的角度而进一步评价各组奶粉样品中蛋白质的营养价值。

表1 不同样品奶粉消化液中氨基酸的含量
Table 1 Content of amino acids in digestive juice for different milk powders
mg/100mL

氨基酸	全脂羊奶粉	牛奶婴儿配方奶粉	羊奶婴儿配方奶粉1	羊奶婴儿配方奶粉2	羊奶婴儿配方奶粉3
组氨酸	1.53	4.38	3.72	3.16	3.02
异亮氨酸	3.23	3.27	3.53	3.85	3.92
赖氨酸	9.79	12.23	11.51	11.03	10.99
必需氨基酸	4.48	6.29	4.57	5.40	5.78
蛋氨酸+半胱氨酸	20.44	17.31	19.13	18.75	18.94
苯丙氨酸+酪氨酸	3.83	3.36	4.57	3.60	5.78
苏氨酸	7.99	8.17	8.64	8.33	8.67
色氨酸	17.79	16.77	19.13	18.75	18.94
缬氨酸	2.20	2.11	2.84	2.75	2.84
亮氨酸	71.27	73.90	77.66	75.61	78.89
必需氨基酸总量	5.98	6.81	6.90	6.93	7.13
天冬氨酸	2.72	3.12	3.35	3.41	3.40
丝氨酸	18.05	20.18	16.94	18.80	20.25
谷氨酸	1.40	1.5	1.55	1.13	1.18
甘氨酸	0.85	0.83	0.87	0.91	0.88
丙氨酸	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
精氨酸	4.12	5.23	6.34	6.14	5.81
脯氨酸	104.40	111.57	113.61	112.94	117.55
氨基酸总量					

由表1可知,各组奶粉样品体外消化液中氨基酸种类基本齐全,但在氨基酸含量上有一定差别。在氨基酸总量方面,羊奶婴儿配方奶粉组氨基酸含量超过112mg/100mL,高于牛奶婴儿配方奶粉组和全脂羊奶粉组。在必需氨基酸含量方面,各组样品奶粉体外消化液中必需氨基酸种类齐全,但在含量上有一定差别,其中3组羊奶婴儿配方奶粉的体外消化液中必需氨基酸含量较高,都达到75mg/100mL以上,牛奶婴儿配方奶粉组次之,全脂羊奶粉组最低,进一步说明羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质具有较高消化利用率。

3 讨论

蛋白质是婴儿配方奶粉中一类关键营养因子,其被机体吸收利用的程度将直接影响配方奶粉的营养价值。本研究模拟婴儿体内消化环境,对各组奶粉样品中蛋白质进行体外消化分析。

从实验结果可知, 各组样品奶粉中蛋白质的体外胃、肠及总消化率均差异显著($P < 0.05$)。其中羊奶婴儿配方奶粉最高, 牛奶婴儿配方奶粉其次, 全脂羊奶粉最低。这可能是由于各组样品奶粉中蛋白质组分不同所致。羊奶和牛奶婴儿配方奶粉经科学调配, 其中乳清蛋白: 酪蛋白质量比不低于60:40, 而全脂羊奶粉中蛋白质以酪蛋白为主。酪蛋白在酸性条件下容易凝聚, 其消化吸收性低于乳清蛋白, 所以全脂羊奶粉组蛋白质体外消化率较低^[13-14]。另一方面, 虽然羊奶婴儿配方奶粉和牛奶婴儿配方奶粉中乳清蛋白与酪蛋白含量相当, 但两类婴儿配方奶粉中乳清蛋白和酪蛋白的组成以及各蛋白组分的消化吸收性能不同, 这可能是羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质消化率高于牛奶婴儿配方奶粉的重要原因。从酪蛋白方面看, 羊奶婴儿配方奶粉中酪蛋白主要是 β -酪蛋白, α_{s1} -酪蛋白含量较低, 而牛奶婴儿配方奶粉中主要的酪蛋白质 β -乳球蛋白^[15]。有研究表明, 羊奶酪蛋白的消化率高于牛奶酪蛋白, 且其主要原因正是羊奶中含有较多 β -酪蛋白^[16]。同时, 羊奶酪蛋白凝乳更细、更软, 酪蛋白的胶束更大等特性也促使了羊奶酪蛋白能够更好的被机体消化吸收^[17-18]。从乳清蛋白方面看, 两类婴儿配方奶粉的组成差别不大, 都主要由 α -乳白蛋白和 β -乳球蛋白构成^[15]。但Almaas^[19]、El-Zahar^[20]等都发现羊奶 β -乳球蛋白的消化率比牛奶 β -乳球蛋白高, 而乳清蛋白的其他组分(α -乳白蛋白、免疫球蛋白、乳铁蛋白等)消化率差别不大。因为一级结构中几个氨基酸的不同造成羊奶 β -乳球蛋白表面比牛奶 β -乳球蛋白具有更强的疏水性, 使得更多的疏水C端暴露到分子表面, 而胃蛋白酶优先水解包含疏水氨基酸残基的肽键, 所以羊奶中 β -乳球蛋白消化性更好^[20]。同时, 也有报道显示 β -乳球蛋白的消化率与奶中 α_{s1} -酪蛋白的含量成负相关, 因为 α_{s1} -酪蛋白的存在会增加机体内 β -乳球蛋白的抗体, 不利于 β -乳球蛋白的消化吸收^[21]。此外, 虽然本研究中各组奶粉中其他营养成分(脂肪、矿物质、碳水化合物等)含量相差不大, 但这些物质可能略微影响蛋白酶的活力, 从而影响蛋白质的消化率。但就总体而言, 本实验所得结果与前人研究基本一致。

另外, 从各组样品奶粉中蛋白质的体外胃、肠消化效果方面看, 大部分蛋白质是在肠消化阶段进行消化分解的, 该结果与近年来儿科医学研究结果一致^[12]。因为婴儿在摄入食物1h之内, 胃内pH值急剧上升, 最高可达6左右, 远高于胃蛋白酶的最适pH值, 同时母乳或配方乳液在婴儿胃内一般只停留1~1.5h, 便转入小肠进行进一步的消化吸收^[22-23]。另一方面婴儿肠道中分泌的胰蛋白酶活性高, 数量也较多, 约占分泌胰液中蛋白质的20%, 是婴儿最主要的蛋白消化酶, 所以婴儿摄入的蛋白只有少部分在胃中得以消化分解, 大部分蛋白是小肠中得以消化吸收^[11]。本研究中奶粉样品体外消化体系pH值和消化时间均充分模拟婴儿肠胃的真实环境, 所以在一定程度上模拟了蛋白质在婴儿体内的消化情况。

4 结 论

通过模拟婴儿体内消化环境, 对羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质的胃肠道消化率及消化液中氨基酸进行分析, 对比了羊奶婴幼儿配方奶粉、牛奶婴幼儿配方奶粉和全脂羊奶粉的体外消化率, 并测定已消化蛋白质中必需氨基酸的含量, 最终得出如下结论: 羊奶婴儿配方奶粉的体外胃消化率、肠消化率及胃肠总消化率均显著高于牛奶配方奶粉和全脂羊奶粉($P < 0.05$); 羊奶婴儿配方奶粉体外消化液中总氨基酸和必需氨基酸的含量较高。由此说明本实验室研究的3种羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质能较好地被机体吸收利用。

参考文献:

- [1] 王光慈. 食品营养学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 107.
- [2] 陈辉. 应用酶法水解牛乳蛋白研制婴儿配方乳[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2003: 2-8.
- [3] 吴庆贺. 新型婴儿配方奶粉的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008: 2-8.
- [4] MARTINE S A, PETRA A M J S. Current trends in the composition of infant milk formulas[J]. Current Paediatrics, 2004, 14(1): 51-63.
- [5] WELLS J C K. Nutritional considerations in infant formula design[J]. Seminars in Neonatology, 1996, 1(1): 19-26.
- [6] HAENLEIN G F W. Goat milk in human nutrition[J]. Small Ruminant Research, 2004, 51: 155-163.
- [7] PARK Y W. Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk[J]. Small Ruminant Research, 1994, 14(2): 151-159.
- [8] JOHNS P W. Analytical method for the determination of infant formula protein digestibility *in vitro*: United States, US 7939659B2[P]. 2008-07-01.
- [9] 于立梅, 于新, 曾晓房. 野生山毛豆蛋白制备及体外消化模拟研究[J]. 食品科学, 2010, 31(13): 60-64.
- [10] 任大喜, 郭鸽, 霍贵成. 体外模拟法测定婴儿奶粉中蛋白质的消化率[J]. 中国乳品工业, 2007, 35(10): 15-17.
- [11] HAMOSH M. Digestion in the newborn[J]. Clinics in Perinatology, 1996, 23(2): 191-209.
- [12] 余泽爱, 陆荣宝. 胃肠道的发育与早产儿喂养参考[J]. 国外医学: 儿科学分册, 1996, 23(1): 39-42.
- [13] 陆翔, 李静, 王强, 等. 模拟中国母乳配制的婴儿配方奶粉对幼龄动物生长影响的实验研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(10): 352-355.
- [14] TOME D, DEBABB I H. Physiological effects of milk protein components[J]. International Dairy Journal, 1998, 8(5): 383-392.
- [15] 顾浩峰, 张富新, 梁蕾, 等. 山羊奶与牛奶和人奶营养成分的比较[J]. 食品工业科技, 2012, 33(8): 369-373.
- [16] JASINSKA B. The comparison of pepsin and trypsin action on goat, cow, mare and human caseins[J]. Roczn Akad Med Białymst, 1995, 40(3): 486-493.
- [17] PARK Y W. Rheological characteristics of goat and sheep milk[J]. Small Ruminant Research, 2007, 68(1): 73-87.
- [18] INGLINGSTAD R A, DEBOLD T G, ERISKEN E K, et al. Comparison of the digestion of caseins and whey proteins in equine, bovine, caprine and human milks by human gastrointestinal enzymes[J]. Dairy Science & Technology, 2010, 90(5): 1958-5586.
- [19] ALMAASA H, CASESA A. *in vitro* digestion of bovine and caprine milk by human gastric and duodenal enzymes[J]. International Dairy Journal, 2006, 16(9): 961-968.
- [20] EL-ZAHAR K, SITOBY M, CHOISET Y, et al. Peptic hydrolysis of ovine β -lactoglobulin and α -lactalbumin Exceptional susceptibility of native ovine β -lactoglobulin to pepsinolysis[J]. International Dairy Journal, 2005, 15(1): 17-27.
- [21] SILANIKOVE N, LEITNER G, MERIN U, et al. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects[J]. Small Ruminant Research, 2010, 89(2): 110-124.
- [22] BERMEJO P, PENA E P. Iron and zinc in hydrolysed fractions of human milk and infant formulas using an *in vitro* method[J]. Food Chemistry, 2002, 77(3): 361-369.
- [23] CHATTERTON D E W, RASMUSSEN J T, HEEGAARD C W, et al. *in vitro* digestion of novel milk protein ingredients for use in infant formulas: research on biological functions[J]. Trends in Food Science and Technology, 2004, 15(7): 373-383.