

莎能羊乳中乳过氧化物酶特性的研究

王 玮,张富新*,晁海英

(陕西师范大学食品工程与营养科学学院,陕西西安 710062)

摘 要:以西农莎能羊乳为原料,对羊乳中乳过氧化物酶的最适温度、热稳定性、最适 pH、pH 稳定性和光稳定性进行系统的研究。结果表明,乳过氧化物酶的最适温度为 45~55℃,在较低温度 20~50℃ 热稳定性较好;乳过氧化物酶的最适 pH 为 5.5~6.0,在 pH3.0~8.0 比较稳定;光对乳过氧化物酶活性的影响较大,光照处理 3h 后的乳过氧化物酶活性比避光处理降低了 24.00%。这些研究结果将为乳过氧化物酶体系对羊奶的保鲜提供依据。

关键词:羊乳,乳过氧化物酶,酶活

Study on the lactoperoxidase characteristic in Saanen goat milk

WANG Wei,ZHANG Fu-xin*,CHAO Hai-ying

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

Abstract: Using Xinong Saanen goat milk as material, characteristics of lactoperoxidase was studied. The influences of temperature, pH and light on the lactoperoxidase activity were investigated. The results showed that lactoperoxidase had a high stability to heat and the optimum temperature for lactoperoxidase was 45~55℃; the optimum pH for lactoperoxidase was 5.5~6.0; lactoperoxidase activity lost much under the light, after light treatment for 3h, compared to without light the lactoperoxidase activity was shortened 24.00%. The results provided the scientific foundation for the preservation of goat milk by lactoperoxidase system.

Key words: goat milk; lactoperoxidase (LP); lactoperoxidase activity

中图分类号:TS252.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2008)012-0160-03

羊乳味甘、性温,入肝、胃、心,有温润补虚养血的良好功效^[1]。羊乳比牛乳含有更丰富的蛋白质、氨基酸、维生素、矿物质、微量元素等营养成分^[2],更接近人乳。羊乳中还含有丰富的 ATP,可促进乳糖分解转化利用,饮用不产生腹胀、腹泻等乳糖不耐症,是“乳糖不耐症”者的最好乳品选择^[3]。我国有奶山羊 425 万头左右,羊奶产量约 85 万 t。羊乳从收集、运输到加工厂的过程中,常因在室温下放置较长时间得不到及时冷却,导致羊奶质量下降,甚至酸败、废弃,造成大量损失^[4]。长期以来,人们不断寻找羊奶的常温保鲜方法,乳过氧化物酶体系是一种切实可行的方法。乳过氧化物酶体系包括三种组分:即乳过氧化物酶、硫氰酸盐、过氧化氢(LP/SCN/H₂O₂),简称 LP 体系^[5]。LP 体系使许多微生物钝化,以致微生物的生长代谢活动受到抑制甚至被杀死^[6],可以在常温下,抑制革兰氏阳性菌和阴性菌的生长,延长鲜乳的保质期,具有“冷杀菌”的作用^[7],从而达到抑制或杀灭乳中细菌,延长生乳保鲜期的目的。该方法不仅保鲜效果好、时间长,而且对人体无害,对乳制品质量无影响^[8]。乳过氧化物酶是一种氧化还原酶^[9],它们催化 H₂O₂、卤化物或者 SCN⁻反应生成具有毒性的氧化剂,来保护机体粘膜免受微生物侵害^[10]。

目前,乳过氧化物酶体系已在牛奶保鲜中广泛应用^[11],然而由于羊奶与牛奶化学性质的差别,这一方法在羊奶保鲜中效果不佳。因此,本研究从羊奶中乳过氧化物酶的特性着手,为乳过氧化物酶体系在羊奶中的应用提供理论基础。

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教学试验农场的莎能奶山羊羊奶,挤奶后,立即取样,并在-24℃ 冷冻备用。

UNICO2000 型分光光度计 尤尼柯(上海)仪器有限公司;800B 离心机 上海安亭科学仪器厂;电子恒温水浴锅 上海福马实验设备有限公司;雷磁 PHS-3C 精密 pH 计 上海精密科学仪器有限公司;移液枪(10~50μL) 上海荣泰生化工程有限公司;电热鼓风干燥箱 重庆试验设备厂。

1.2 液的配制

1.2.1 醋酸盐缓冲液的配制 溶液 A:取冰醋酸 6mL,定容至 1000mL,即为 0.1mol/L 醋酸溶液;溶液 B:取 8.2g 醋酸钠,溶解后定容至 1000mL,即为 0.1mol/L 的醋酸钠溶液;用溶液 A、B 来配制 pH 为 4.3 的醋酸盐缓冲液。

1.2.2 H₂O₂ 溶液的配制 取 1.13mL 30% H₂O₂,用 0.1mol/L pH = 4.3 醋酸盐缓冲液稀释定容到

收稿日期:2008-04-28 * 通讯联系人

作者简介:王玮(1984-),女,在读研究生,研究方向:畜产品加工。

1000mL,即为 10mmol/L 的 H_2O_2 溶液。

1.2.3 ABTS 溶液的配制 取 0.55gABTS,用 pH = 4.5 的醋酸盐缓冲液稀释定容到 1000mL,即为 1mmol/L 的 ABTS 溶液。

1.3 测定方法

1.3.1 样品处理 将冷冻的样品在 0~4℃ 下解冻后,在 4000r/min 下离心 10min,除去上层脂肪。然后在脱脂乳中加入 7 倍 pH 为 4.3 的醋酸盐缓冲液,混合均匀,沉淀酪蛋白。将这种混合液在 4000r/min 离心 10min,即可得到 12.5% 的乳清稀释液^[12]。

1.3.2 乳过氧化物酶活性的测定 取 30μL 12.5% 乳清稀释液于比色皿中,加入 2.7mL 1mmol/L 的 ABTS 溶液,混合均匀,于 412nm 处调整吸光值为零,再加入 30μL 10mmol/L 的 H_2O_2 溶液,混和均匀,立即测定吸光度的变化 ($\Delta A/\Delta t, \text{min}^{-1}$)^[12~14]。酶活定义:将每分钟氧化 1μmol 的 ABTS 所消耗的酶量为一个单位^[12]。

$$\text{酶活} = (\Delta A/\Delta t) \times n/(\xi \times V)$$

$\Delta A/\Delta t$:每分钟吸光度的变化; n :乳清稀释倍数(即 8 倍); ξ :ABTS 的摩尔消光系数(32400×10^3); V :乳清稀释液的体积(30μL)。

1.3.3 乳过氧化物酶最适温度的测定 将 pH4.3 的醋酸盐缓冲液及 1mmol/L 的 ABTS 溶液置于小烧杯中,分别在 20、30、40、45、50、55、60、70、75、80℃ 下保温,于 1h 后取出,用该试剂按 1.3.2 所述方法立即测定羊奶中乳过氧化物酶活性。

1.3.4 乳过氧化物酶热稳定性的测定 取 3mL 12.5% 乳清稀释液加入到小试管中,分别在 20、30、40、50、55、60、70、75、80℃ 下保温,于 0.5、1、2、3h 时分别取样,按 1.3.2 所述方法测定酶活。

1.3.5 乳过氧化物酶的最适 pH 的测定 在一系列小烧杯中加入 20mL pH 分别为 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0 的醋酸盐缓冲液,再分别加入 4mL 12.5% 乳清稀释液,立即取样,按 1.3.2 所述方法测定酶活。

1.3.6 乳过氧化物酶的 pH 稳定性的测定 在一系列小烧杯中加入 12.5% 乳清稀释液,用 NaOH 或 HCl 将其 pH 分别调为 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0,将以上处理过的乳清稀释液置于 0~4℃ 下保存,分别在 1、4、8、12、18、24h 后取样,按 1.3.2 所述方法立即测定酶活。

1.3.7 光对乳过氧化物酶活性的影响 将 20mL 12.5% 乳清稀释液置于日光灯下和不透光的箱子中,分别于 1、2、3h 后按 1.3.2 所述方法测定酶活。

2 结果与分析

2.1 乳过氧化物酶的最适温度

由图 1 可看出,羊乳中乳过氧化物酶在 45~55℃ 之间具有较高的活性。温度小于 45℃ 时,随着反应温度的升高,乳过氧化物酶活性逐渐增大;但当温度高于 55℃ 时,酶活性迅速降低;当温度大于 75℃ 时,酶活性几乎完全丧失。由此可见,羊乳中的乳过氧化物酶最适作用温度为 45~55℃,这与牛乳中的乳过氧化物酶不一致。Kussendrager 和 Girgis^[7] 报道乳过氧化物酶的最适温度为 70℃,这与乳过氧化物酶的

来源有关。

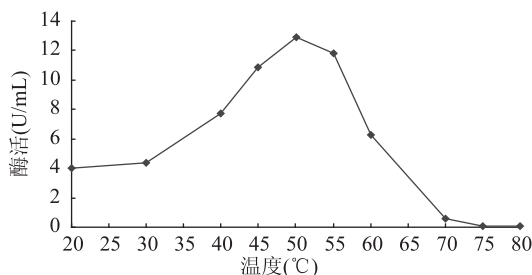


图 1 乳过氧化物酶的最适温度

2.2 乳过氧化物酶的热稳定性

由图 2 可以看出,在 20~30℃ 处理 3h 时,羊乳中乳过氧化物酶残留活性在 90% 以上;在 40~50℃ 处理 3h 时,乳过氧化物酶残留活性在 80% 以上;在 55~60℃ 处理 3h 时,乳过氧化物酶残留活性在 60% 以上;在 70℃ 处理 3h 时,乳过氧化物酶残留活性不足 16%;而在 75℃ 处理 3h 时,乳过氧化物酶几乎失活;80℃ 加热 0.5h 时,乳过氧化物酶完全失活。由此可见,乳过氧化物酶在较低温度(20~50℃)下稳定性较高,在较高温度下,随着热处理时间的延长,一部分乳过氧化物酶可能变性失活,从而使其活性降低。

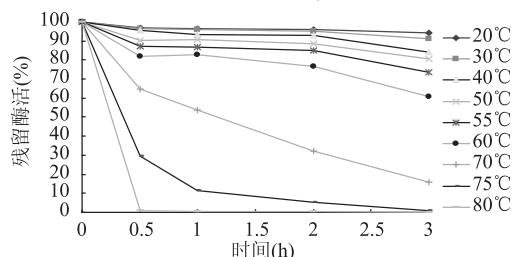


图 2 乳过氧化物酶的热稳定性

2.3 乳过氧化物酶的最适 pH

由图 3 可以看出,羊乳中的乳过氧化物酶在 pH5.5 时活性最高;当 pH 小于 5.5 时,随着 pH 增高,乳过氧化物酶的活性逐渐增大;但当 pH 大于 5.5 时,乳过氧化物酶的活性随 pH 增加,逐渐降低;pH 在 5.0~6.0 时,酶活性差异不显著($p > 0.05$),因此,羊乳中乳过氧化物酶的最适 pH 为 5.0~6.0,这与文献报道稍有差异。据 Kuma^[15] 等人报道,牛乳中乳过氧化物酶的最适 pH 为 6.0,Mustapha^[14] 等人报道,牛乳中乳过氧化物酶最适 pH 为 6.7,差异很可能是由于所测乳过氧化物酶的来源不同,也可能是由于测定酶活的方法不同。

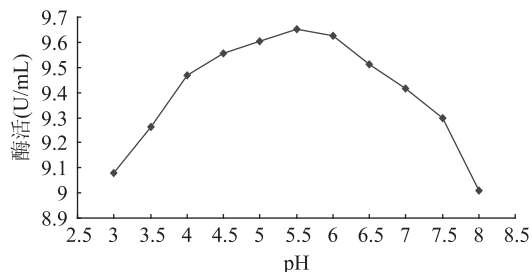


图 3 乳过氧化物酶的最适 pH

2.4 乳过氧化物酶的 pH 稳定性

由图 4 可看出,乳过氧化物酶在 pH 3.0~8.0 时比较稳定,酶活残留率在 90% 以上。这与卢蓉蓉等人^[7]

报道的乳过氧化物酶在 pH3.0~8.0 内十分稳定相一致。从图 4 还可看出,羊乳中乳过氧化物酶在酸性环境中残留活性低于其在碱性环境,而以上两种环境中的酶活又低于其在偏中性环境中的,说明酸和碱对酶活有一定的抑制作用,而酸的抑制作用更强一些。

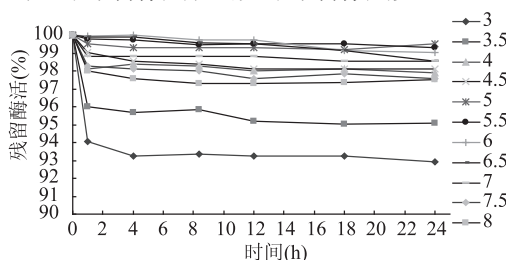


图 4 乳过氧化物酶的 pH 稳定性

2.5 光对乳过氧化物酶活性的影响

由图 5 可看出,光对乳过氧化物酶的活性有很大的影响。避光条件下,羊乳中乳过氧化物酶的活性随时间的延长稍有降低,在 3h 后酶活仅下降 7.74%。但在光照下,乳过氧化物酶的活性随着时间的延长迅速下降,1h 后酶活下降了 24.30%,3h 后酶活下降了 31.74%,与避光相比较,酶活性差异显著 ($p < 0.05$)。由此可见,乳过氧化物酶是一种光敏性酶,光对其活性有显著的抑制作用。

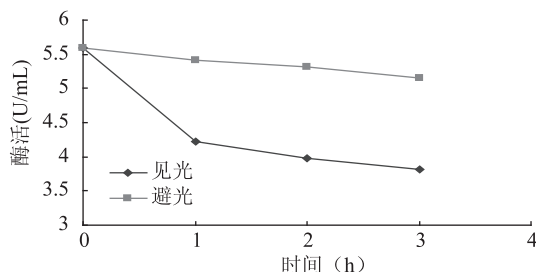


图 5 光对乳过氧化物酶活性的影响

3 结论

羊乳中乳过氧化物酶的最适温度为 45~55℃;在较低温度(20~50℃)下稳定性较高,在较高温度下,随着热处理时间的延长,一部分乳过氧化物酶可能变性失活,从而使其活性降低;酶的最适 pH 为 5.5~6.0;在 pH3.0~8.0 时比较稳定,酶活残留率在 90% 以上,酸或碱对酶活有一定的抑制作用,而酸的抑制作用更强一些;光对乳过氧化物酶的活性影响较大,乳过氧化物酶是一种光敏性酶。

(上接第 159 页)

酸和 0.020% 的乙酸锌复合护色液中浸泡 1h。

绿叶蔬菜传统采用硫护色,一直以来效果比较好。但是随着中国进入 WTO 后,进行的国际贸易越来越多,从长远来看,要想蔬菜制品的贸易在国际上有一席之地,蔬菜的无硫护色终将代替传统的硫护色工艺,其无硫护色工艺有待进一步研究。本实验只是在油菜上做了一定的工作,不一定适合其他的蔬菜,仅能提供一定的理论参考。

参考文献:

[1] 李英丽,果秀敏,方正,等. 15 种蔬菜营养成分评价[J]. 中国农学通报,2007,23(4):98~100.

参考文献:

[1] 沈尔安. 温润补虚最宜人[J]. 饮食科学,2004(12):26.
 [2] 王琳. 喝羊奶别具风味[J]. 中国保健营养,2003(5):48.
 [3] 芳文. 羊奶异军突起,欲分羹乳品市场[J]. 中国食品工业,2005(10):26~28.
 [4] 姜冬梅,梁丽霞,梁先会. 关于提高收购牛奶质量的几点建议[J]. 中国乳品工业,1998,26(5):42~44.
 [5] 徐红华,刘慧. 聚赖氨酸在牛奶保鲜中的应用研究[J]. 食品与发酵工业,2000(2):24~33.
 [6] 李萌. 乳过氧化物酶体系的性质及利用[J]. 新疆畜牧业,2000(3):20~22.
 [7] 卢蓉蓉,许时婴,王璋. 乳过氧化物酶的分离纯化和酶学性质研究[J]. 食品科学,2006(2):100~104.
 [8] 牛健英. 生鲜牛奶保鲜方法研究报告[J]. 中国乳品工业,1990(5):16~18.
 [9] Eyassu Seifu, Elna M Buys, E F Donkin. Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications; a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2005(16):137~154.
 [10] 曹劲松. 初乳功能性食品[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000.
 [11] 江波涛,黄玉贤,孟淑珍,白虹,王骋. 乳过氧化物酶体系对原料奶保鲜作用的研究[J]. 畜牧与饲料科学. 2004(2):1~52.
 [12] Valerie M E Marshall, Wendy M Cole, A John Bramley. Influence of the lactoperoxidase system on susceptibility of the udder to Streptococcus uberis infection[J]. Journal of Dairy Research, 1986(53):507~514.
 [13] Eyassu Seifu, Elna M Buys, E F Donkin. Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications; a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2005(16):137~154.
 [14] Mustapha Blel, Marie - France Guingamp, Jean - Luc Gaillard, Gérard Humbert. Improvement of a method for the measurement of lactoperoxidase activity in milk[J]. International Dairy Journal, 2001(11):795~799.
 [15] Kumar R, Bhatia K L. Standardization of method for lactoperoxidase assay in milk[J]. Lait, 1999, 79:269~274.

[2] 姜绍通,罗志刚,郑志,等. 甘薯加工过程酶促褐变及控制研究[J]. 农业工程学报,2001,17(2):136~139.
 [3] 石启龙,张培正. 脱水苹果的非硫护色工艺研究[J]. 食品工业科技,2001,22(2):50~51.
 [4] 郭香凤,史国安,向进乐. 银条加工中烫漂护色工艺的研究[J]. 食品科学,2007,28(9):222~225.
 [5] 莫开菊,汪兴平,程超. 糖姜片的无硫护色及加工工艺研究[J]. 农业工程学报,2005,21(1):155~158.
 [6] Sigmund H Schanderl. Color reversion in processed vegetable les[J]. J Agric Food Chem, 1979, 24:312~315.
 [7] 大连轻工业学院. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,1982.162~165.