牦牛奶中不同酪蛋白的提取及其功能特性研究

王高，周薇，赵存朝，魏光强，黄艾祥
（云南农业大学食品科学技术学院，云南昆明 650201）

摘要：本研究以新鲜牦牛乳为原料，添加钙盐后利用其等电点分离提取牦牛奶中的不同酪蛋白，利用单因素实验筛选牦牛奶中*α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白的提取分离参数；并利用电泳（SDS-PAGE）分析牦牛乳不同酪蛋白纯度。同时对牦牛乳中*α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白的溶解性、乳化性、发泡性进行分析比较。结果表明：牦牛奶不同酪蛋白分离的最佳Ca^{2+}浓度为 0.08 mol/L，最佳温度 2 ℃，此时牦牛乳中*α*-、*β*-酪蛋白分离效果较好。牦牛乳不同酪蛋白在等电点（pI）附近时，*α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白溶解性、乳化性、发泡能力最低，泡沫稳定性最好。等电点附近酪蛋白的溶解度最低，*α*-、*β*-酪蛋白 pH 值在 2.1 时溶解度最高（分别为 60%、80%），而 *k*-酪蛋白在 pH 值 6.22 时最高（43%）；在 40~80 ℃范围内，*κ*-酪蛋白溶解度受温度影响显著；当 pH 值为 2.1 时，*α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白的乳化能力和发泡能力都最大，其乳化稳定性则是远离等电点后逐渐上升；本研究旨在为牦牛乳酪蛋白的利用和深加工提供思路，为云南特色乳制品的开发利用提供科学依据。

关键词：牦牛奶；不同酪蛋白；分离提取；功能特性
文章篇号：1673-9078(2020)01-227-234 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.1.032

Study on Extraction and Functional Properties of Different Casein in Yak Milk

WANG Gao, ZHOU Wei, ZHAO Cun-chao, WEI Guang-qiang, HUANG Ai-xiang
(School of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: In this work, fresh yak milk was used as a raw material to separate and extract the different casein by adding calcium salt and employing its isoelectric point. Single factor experiments screened the extraction and separation parameters of *α-, β-, κ*-casein in yak milk. SDS-PAGE was applied to analyze the purity of different casein in yak milk. At the same time, the solubility, emulsification, and foamability of *α-, β-, κ*-casein in yak milk were analyzed and compared. The results showed that the optimum concentration of Ca^{2+} and the optimum temperature for casein components separation in yak milk were 0.08 mol/L and 2 ℃, respectively. At this point, the separation effect of *α*- and *β*-casein in yak milk was better compared to the other. When different casein in yak milk was close to isoelectric point (pI), the solubility, emulsification, and foaming ability were at the lowest. On the contrary, the foam stability was at its best. The solubility of the casein component which was close to the isoelectric point was the lowest, the solubility of *α-, β*-casein was at its highest at 2.1 (60%, 80%, respectively), while the *κ*-casein was at its highest at pH 6.22 (43%). In the range between 40 and 80 ℃, the solubility of *κ*-casein was significantly affected by temperature. In pH 2.1, the emulsification ability and foaming ability of *α-, β-, κ*-casein were at the largest, and the emulsion stability was gradually increased from the isoelectric point. This study aimed to provide ideas for the utilization and advanced processing of yak milk casein, as well as providing a scientific basis for the development and utilization of Yunnan's unique dairy products.

Key words: yak milk; different casein; separation and extraction; functional properties

牦牛是我国高寒地区的特有牛种，具有很强的适应性[1]。牦牛乳是营养价值极丰富的珍稀乳品，具有天然、纯净、绿色的特点，被视为“天然浓缩乳”，其中牦牛奶蛋白质含量约为 5.05%，且不易引起过敏，易消化吸收[2]。牦牛奶含 18 种氨基酸，种类齐全且各种氨基酸含量较高，相比其他牛奶更优质，矿物元素锌、铁、钙等的含量极为丰富[3]，维生素 A 和微量元素含量也高于普通牛乳[4]。

酪蛋白(Casein，CN)是牛乳中的主要蛋白质，约占牛乳总蛋白 80%，含人体必需 8 种氨基酸，等电点 4.6~4.8，包括α_{s1}-、α_{s2}-、*β*-、*κ*-酪蛋白四种主要单体[5]，*α*-酪蛋白约占酪蛋白总量 36%，*β*-酪蛋白约占酪蛋白

收稿日期：2019-08-02
基金项目：云南省现代农业奶牛产业技术体系资助项目（2019KJTX0014）；云岭产业技术领军人才项目（云发改人事[2014]1782 号）
作者简介：王高（1992-），男，硕士研究生，研究方向：食品加工与安全
通讯作者：黄艾祥（1963-），男，博士，教授，研究方向：食品新资源开发与乳品科学

总量 34%。牦牛乳中酪蛋白含量为 34.28~45.79 g/L，高于羊乳和人乳[6]。酪蛋白各组分在结构和性质上存在显著差异，单个酪蛋白组分在某些功能上更能体现酪蛋白的功能，而分离酪蛋白单体一直是研究关注的焦点。Hipp[7]首次应用沉淀法分离得到了 α-CN、β-CN 和 κ-CN，但产率较低。Thompson[8]、Bramanti 等人[9]实现了对 α-、β-、κ-酪蛋白的分离。张艳等[10]饶维桥等[11]用在碱性条件下利用钙盐辅助的等电点沉淀法对 α-、β-酪蛋白组分进行分离纯化。朱晓囡[12]刘纳[5]等利用反向高效液相色谱分离酪蛋白组分。李武祎等[13]用尿素沉淀法从牦牛乳干酪素中分离得高纯度的酪蛋白组分。张光地[14]用层析分离方法获得牦牛乳酪蛋白单体得率较高，与其他方法相比，更易工业化。牦牛乳酪蛋白有较高的营养价值和良好的功能特性，被广泛应用在食品工业和其他行业。酪蛋白可在水中形成胶体，具一定黏度和保湿、乳化等作用，被应用于冰淇淋生产；又因具有良好的乳化性和发泡性，还可将其应用在高脂类食品、肉制品、烘焙食品中[15,16]。

牦牛乳目前市场供应的份额很少，一般是自产自销，难以走向商品化生产，牦牛乳及其酪蛋白拥有巨大的经济价值，未来乳及乳制品将大幅增加，生产开发高档牦牛乳制品具有广阔的市场前景[17]。目前，关于牦牛乳酪蛋白组分的分离提取及功能稳定性的研究相对较少，故本研究旨在为云南特色乳制品的深度开发和利用提供科学依据，为食品加工中酪蛋白功能性质的研究与利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

牦牛奶，香格里拉高山牧场；核桃油，大理漾濞核桃有限公司。氯化钙，天津市风船化学试剂科技有限公司；考马斯亮蓝 G-250，美仑生物有限公司；TRSI、SDS、Glycerol、Ammonium persulphate、Acrylamide、TEMED、β-巯基乙醇、溴酚蓝等电泳相关试剂，北京索莱宝科技有限公司。

1.2 仪器与设备

URA14M0018 紫外分光光度计，上海翱艺仪器有限公司；TGL20M 高速冷冻离心机，湖南湘立科学仪器有限公司；Bio-Rad Mini 电泳仪，美国伯乐；Thermo Multiskan™ FC 酶标仪，美国；Scientz-18N 真空冷冻干燥机，宁波新芝。PR224ZH-E 分析天平，奥豪斯；CS-B5A 搅拌器，上海新科仪器有限公司；TGrinder-H24 组织研磨均质仪，天根生化科技(北京)有限公司。

1.3 实验方法

牛乳中 α-酪蛋白和 β-酪蛋白含有的磷酸丝氨酸残基的多少决定了两种酪蛋白对钙的敏感性。碱性条件下，α-酪蛋白对 Ca^{2+}的亲和性比 β-酪蛋白高；而 β-酪蛋白疏水性强，低温条件下易游离，在酸性条件和低温条件下 β-酪蛋白可溶，α-酪蛋白不溶，利用此性质对牦牛奶中 α-、β-、κ-酪蛋白进行分离纯化。参考张艳等人[10]牛乳中 α_{s}-、β-酪蛋白分离方法，利用钙盐通过调节 pH 对牦牛乳中酪蛋白组分进行分离。

1.3.1 α-、β-、κ-酪蛋白分离工艺设计

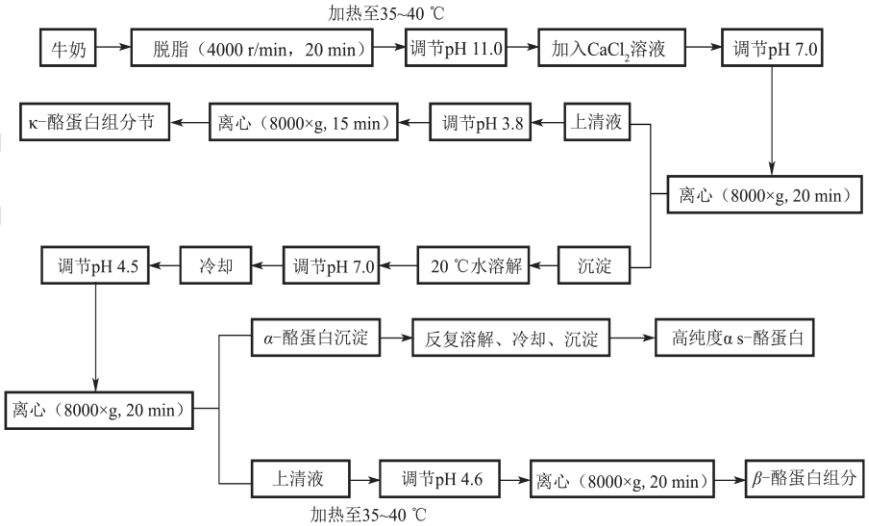


图 1 α-、β-、κ-酪蛋白分离工艺流程

Fig.1 Separation process of alpha-, beta-, kappa- casein

1.3.2 α-、β-、κ-酪蛋白分离工艺单因素实验

等电点是 α-、β-、κ-酪蛋白分离过程中的关键条件，同时发现 Ca^{2+}终浓度、冷却温度对分离效果影响较大，因此通过单因素实验确定最佳钙离子浓度及冷

却温度，以期获得最好的结果。

1.3.2.1 $CaCl_2$浓度对 *α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白分离的影响

本实验将 Ca^{2+}终浓度设置 5 个梯度，分别为 0.06、0.08、0.10、0.15、0.20 mol/L。按 1.3.1 节工艺流程进行操作，分离 *α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白，冷冻（-50 ℃，5~10 Pa）干燥 4 d，然后称重记为酪蛋白各组分含量。

1.3.2.2 冷却温度对 *α*-、*β*-酪蛋白分离的影响

温度主要是通过酪蛋白胶束内部或胶束之间的相互作用力影响其结构，温度升高时，分子运动更加剧烈，分子间的作用加强。按上述工艺流程进行操作，分别在 0、2、4、6、8 ℃的低温条件下进行冷却。分离 *α*-、*β*-酪蛋白，冷冻（-50 ℃，5~10 Pa）干燥 4 d，然后称重记为酪蛋白各组分含量。

1.4 SDS-PAGE 电泳测定牦牛奶 *α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白纯度

1.4.1 样品制备

称取 2 mg 待分析的样品于 1.5 mL 的离心管中，以 1:4 的比例加入纯水，待其溶解后取 20 μL 于另一离心管中，然后添加 20 μL 的 *β*-巯基乙醇(*β*-ME)和 15 μL 的饱和溴酚蓝溶液，充分混合均匀，95 ℃金属浴反应 10 min，备用。

1.4.2 电泳分析牦牛奶酪蛋白组分纯度

通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分析测定 *α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白纯度。利用 4%的浓缩胶，12%的分离胶进行 SDS-PAGE 电泳，冻干粉浓度为 2 mg/mL，上样量 10 μL。电泳结束后，对电泳胶片进行固定（30%乙醇固定 30 min），染色（0.1%考马斯亮蓝 G-250、5%磷酸、5%硫酸铵、10%甲醇摇床染色 5 h），脱色（冰乙酸：甲醇=7:5 脱色至底色基本脱除），扫描分析[18]。

1.5 牦牛奶酪蛋白组分的功能特性测定

参考牛欣等[19]人酪蛋白分离方法，略作修改。采用高速离心法对牦牛奶酪蛋白进行分离。将鲜乳 76000 g 高速离心 1 h，使脂肪、乳清、乳清蛋白、酪蛋白分离，于-50 ℃ 3~6 MPa 条件下冷冻干燥，-80 ℃储存备用。

1.5.1 溶解性

采用考马斯亮蓝法[20]测定溶解性。

1.5.2 乳化性

参照蔡立志等[21]人的方法，测定乳化能力和乳化稳定性。

1.5.3 发泡性

采用发泡能力和泡沫稳定性衡量酪蛋白组分发泡性，参考蔡慧农[22]等人的方法。

1.5.4 数据处理

采用 Excel 2010 和 SPASS.21 对实验数据进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 牦牛奶 *α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白提取分离

2.1.1 钙离子浓度确定

在天然乳中，酪蛋白组分以胶束形式存在，钙以一定的方式与酪蛋白胶粒结合，形成胶体[14]。Ca^{2+}转移能够促进 *β*-酪蛋白的可逆性解离，进而使酪蛋白胶束解离，Ca^{2+}的增加也会导致酪蛋白聚集[23]。不同 Ca^{2+}浓度对 *α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白分离效果的影响如图 2 所示。

由图可知，钙离子浓度为 0.08 mol/L 时，分离出的 *α*-CN 和 *β*-CN 含量较高，分别为 14.50 g 和 17.00 g，而 *κ*-酪蛋白为 4.60 g。可能是 *α*-CN 比 *β*-CN 有更多磷酸丝氨酸基团，在碱性条件下带有更多的负电荷，与钙离子结合的能力更强。Ca^{2+}浓度越高，它和 α_s-酪蛋白的亲和性也越高，就越容易打破酪蛋白胶束，从而使 α_s-酪蛋白发生沉淀。但是在低温条件下，*β*-酪蛋白往往是游离态的，温度越低也就越易分离到 *β*-酪蛋白。

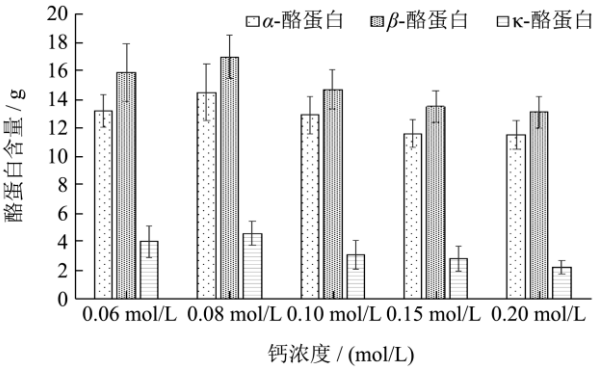


图 2 不同钙离子浓度对不同酪蛋白分离的影响

Fig.2 Effects of different calcium ion concentrations on the separation of different casein

2.1.2 冷却温度确定

温度对酪蛋白结构的影响主要是通过酪蛋白胶束之间的相互作用力，冷却温度影响酪蛋白的分离效果，温度降低时，分子运动减弱，分子间的作用也减小。不同冷却温度对 *α*-、*β*-酪蛋白分离效果的影响如图 3 所示。

β-CN 在低温下可呈游离状态。实验结果表明，温度在 2 ℃得到的 *β*-CN 含量较高为 16.90 g。随着温度的升高，*α*-CN 和 *β*-CN 的含量均有所降低，而在 0 ℃时 *α*-CN 和 *β*-CN 的含量低于 2 ℃时的含量，故选取 2 ℃作为不同酪蛋白分离温度。张艳等[10]研究表明：

温度 2 ℃，$CaCl_2$ 溶液浓度 0.065 mol/L 时也可分离得到 α_s-CN 和 β-CN 组分。

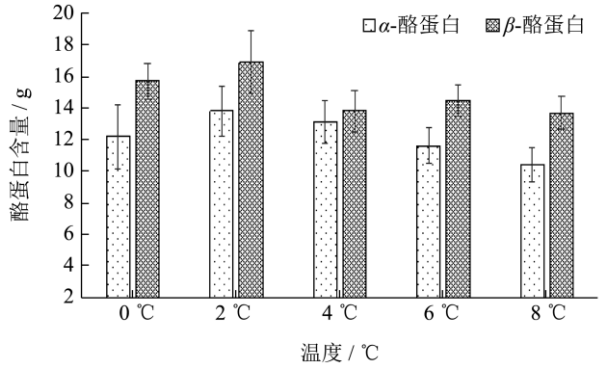


图 3 冷却温度对不同酪蛋白分离的影响

Fig.3 Effect of cooling temperature on separation of different casein

2.1.3 电泳测定牦牛奶酪蛋白组分纯度

将提取出的牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白进行 SDS-PAGE 电泳，结果如图 4 所示。

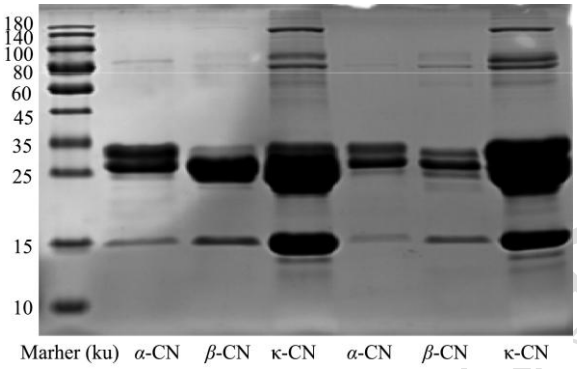


图 4 牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白分离效果

Fig.4 Separation effect of alpha-, beta-, kappa-casein from yak milk

注：α-CN、β-CN、κ-CN 表示 α-、β-、κ-酪蛋白。

酪蛋白不是单一的蛋白质，而是由一类在结构和性质上相近的蛋白质组成[6]。研究表明：α-CN 分子量 27.1 ku，β-CN 分子量 24.9 ku，κ-CN 分子量 19.0 ku。从图 4 可知，两次分离的酪蛋白组分主要为 α-CN、β-CN、κ-CN，但是纯度低，α-CN、β-CN 的纯度高于 κ-CN。κ-CN 的纯度和含量都较低可能是因为 κ-CN 中含有乳清蛋白成分，且在牦牛乳酪蛋白组分分离过程中，当 pH 7.0 时，Ca^{2+}在上清液中的含量最低，胶束结构较为稳定，尽管调节降低了上清液的 pH，酪蛋白单体的含量都有所增加，但是其变化并不显著[24]。

2.2 牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白功能特性分析

蛋白质的水溶性、乳化性、发泡性和其他功能特性与食品稳定性、风味等密切相关。

2.2.1 不同 pH 值对酪蛋白组分溶解性的影响

溶解性是蛋白质最基础的功能特性，表示蛋白质在溶液中溶解的性能[25]。牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白溶解度随 pH 值变化关系如图 5 所示。

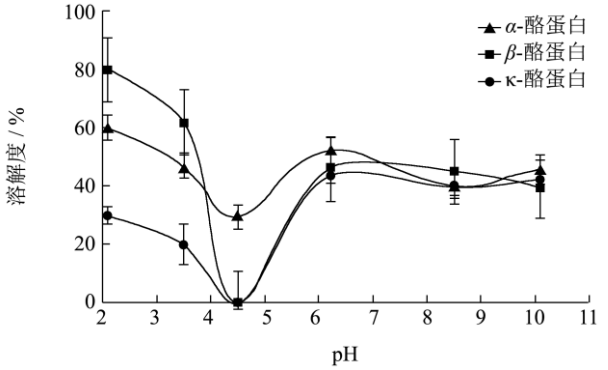


图 5 牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白随 pH 变化溶解度曲线

Fig.5 Changes of alpha-, beta-, kappa-casein in yak milk with ph solubility curve

由图 5 可知，随着 pH 增大，牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白溶解度呈现先降低后增加，然后趋于平缓的趋势；等电点附近酪蛋白组分的溶解度最低，α-、β-酪蛋白 pH 值在 2.1 时溶解度最高，溶解度分别为 60%、80%，而 κ-酪蛋白在 pH 值 6.22 时最高，溶解度为 43%。曹灿[26]发现核桃分离蛋白 pH 值在等电点附近时，蛋白质溶解性较低，偏离等电点越远，溶解性越好，与本实验研究结果类似。原因可能是随着 pH 值的变化，蛋白质变性，分子内的大部分疏水基团外露，肽键的特定结构遭到破坏，影响水分子与蛋白质间的相互结合，水化作用减小，从而降低了蛋白质的溶解度。牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白溶解度随温度变化关系如图 6 所示。

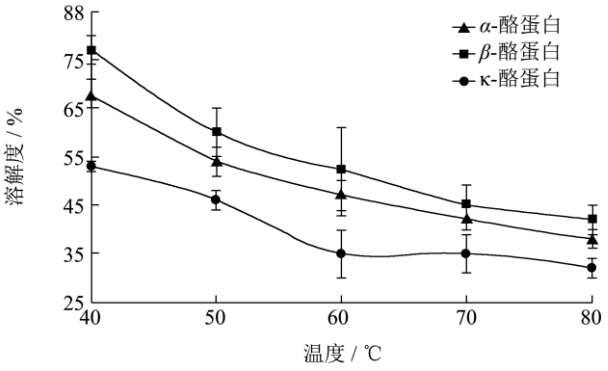


图 6 牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白随温度变化溶解度曲线

Fig.6 Solubility curve of alpha-, beta-, kappa-casein in yak milk with temperature

由图 6 可知，在 40~80 ℃范围内，牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白溶解度逐渐降低，而在 40 ℃时溶解度最高，分别为：68%、77%、53%，其中 κ-酪蛋白受温度影响显著，溶解度从 53%降至 32%；原因可能是加热使蛋白质分子内部的非极性基团暴露，蛋白分子极化，

蛋白质空间构象发生改变，内部的疏水基团外露，蛋白分子与共价键作用形成新的分子聚集体，从而导致了溶解度的下降[27]。

2.2.2 不同 pH 值对酪蛋白组分乳化性的影响

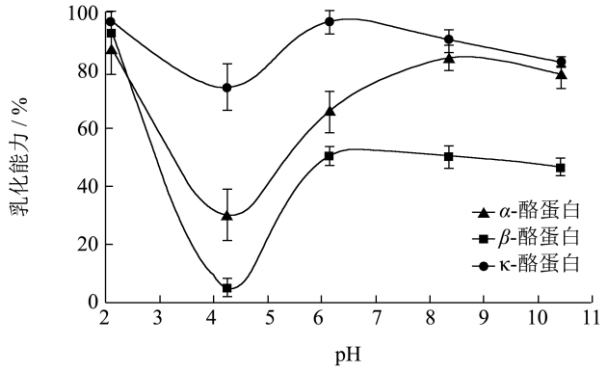


图 7 牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白随 pH 变化乳化能力变化曲线

Fig.7 Changes of emulsifying capacity of yak milk alpha-, beta-, kappa-casein with pH

乳化能力是指乳状液破裂时单位质量的蛋白质所能乳化的油的体积；乳化稳定性是指蛋白质维持油水混合不分离的乳化特性对外界条件的抗应变能力[28]。蛋白质的乳化活性能够提高食品(如冰淇淋、香肠、巧克力)的质构、外观，改变食品的口感，掩盖不期望有的风味。乳化性和乳化稳定性是评价蛋白质保持乳化体系油水界面的能力的重要指标。牦牛酪蛋白组分的乳化能力(EC)及乳化稳定性结果如图 7、8 所示。

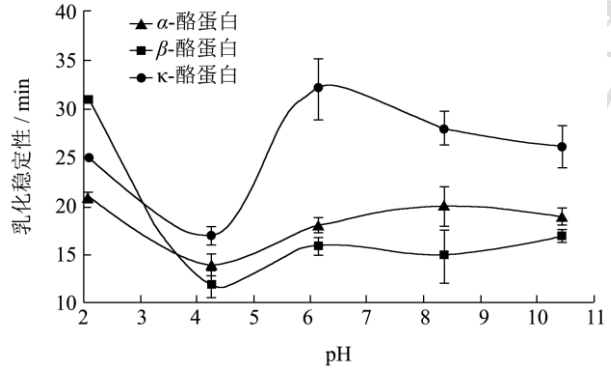


图 8 牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白随 pH 变化乳化稳定性变化曲线

Fig.8 The emulsification stability curve of domestic yak milk alpha-, beta-, kappa-casein with pH change

由图 7 可知，随着 pH 值逐渐升高，牦牛乳 α-、β-、κ-酪蛋白的乳化能力呈现先下降后上升最后变化平缓的趋势；在 pH 值 2.1 时 α-、β-、κ-酪蛋白的乳化能力达到最高，分别为 87.5%、92.5%、96.25%。Luciano Fachin 研究发现[29]，pH 可以使蛋白质轻微变性，使静电斥力增加，暴露出更多的疏水基团，从而促进乳化特性的提高。肖连东、程爽[30]等发现大豆分离蛋白 pH 值在等电点 4.5 时，乳化性最小，与本实验研究结果类似。蛋白质的乳化能力取决于其在水中的溶解度[31]，而酪蛋白具有亲水和亲油基团，蛋白溶解导致分子内部疏水性基团的暴露，疏水部分趋向油相，亲水部分趋向水相，有效提高蛋白在油-水界面的吸附，乳化性得到改善。

由图 7、8 可知，pH 值在 4~5 时，α-、β-、κ-酪蛋白的乳化能力及乳化稳定性最低，其中 pH 值在 2.1 时 α-、β-酪蛋白和 pH 值在 6.15 时 κ-酪蛋白的乳化稳定性达到最佳。因为分子间的静电排斥作用，导致可溶性蛋白减少，进而导致乳化稳定性降低；当 pH 偏离等电点时，蛋白质具有了一定的电荷力，乳化液滴间的相互作用增强，防止或减缓液滴絮凝和聚结，且参与乳化的蛋白分子增多，油水界面张力降低，并形成薄膜，乳化能力及乳化稳定性逐渐上升[32-35]。

2.2.3 不同 pH 值对酪蛋白组分发泡性的影响

发泡性是指在搅打过程中，蛋白质降低气-液界面张力形成气泡的能力。泡沫稳定性指在外力作用下，泡沫保持液体不被析出的能力[36]。牦牛乳酪蛋白组分发泡能力及泡沫稳定性如图 9、10 所示。

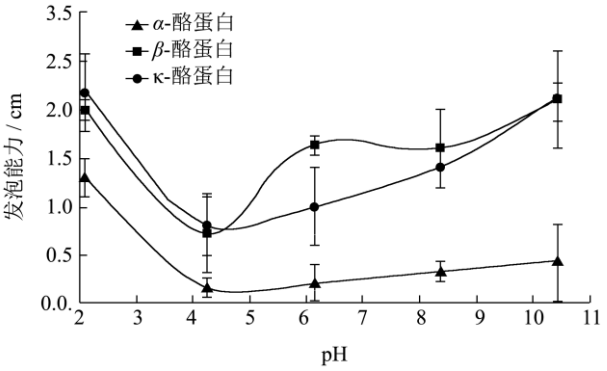


图 9 牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白随 pH 变化发泡能力变化曲线

Fig.9 The foaming capacity curve of yak milk alpha-, beta-, kappa-casein with the change of pH

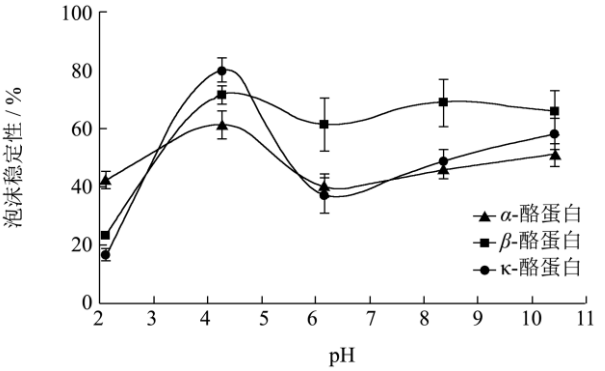


图 10 牦牛奶 α-、β-、κ-酪蛋白随 pH 变化泡沫稳定性变化曲线

Fig.10 The foam stability curve of yak milk alpha-, beta-, kappa-casein with pH change

由图 9、10 可知，pH 值在 2~11 之间，α-、β-、κ-

酪蛋白组分的起泡性大致呈“U”型，pH 值在 2.1 时发泡能力最好，分别为 1.3 cm、2 cm、2.17 cm，而 pH 值在 4.26 时泡沫稳定性最好，分别为 61.18%、71.50%、79.72%。因为蛋白质是两性电解质，处于等电点时，所带电荷为零，牦牛乳酪蛋白组分的溶解性下降。此外，由于在界面和吸附分子之间的排斥作用小，有助于蛋白质吸附在气-液界面处，从而使起泡性降低[37]；当偏离等电点时，蛋白质的溶解性提高，分子间的自由度增加，蛋白质在气-液界面快速排列展开并捕获空气分子，起泡性呈上升趋势[38,39]。赵唯高等[40]研究表明：多数蛋白质在等电点处只有部分溶解蛋白参与发泡性，表现为发泡性最差，而泡沫稳定性最好。钟芹等[38]对打瓜籽蛋白功能特性的分析中发现当 pH 值为 2 时起泡性最差，pH 值为 10 时泡沫稳定性最差。

3 结论

本研究对牦牛奶中不同酪蛋白分离及功能特性进行了初步的研究，得出：牦牛奶不同酪蛋白分离的最佳 Ca^{2+}浓度为 0.08 mol/L，最佳温度 2 ℃，在此条件下分离效果较好。通过对不同酪蛋白的功能特性研究得出如下结论：牦牛乳酪蛋白在 pI 附近时，溶解度、乳化能力、乳化稳定性和发泡能力最低；pH 值在 2.1 时 *α*-、*β*-酪蛋白的溶解度最高为 60%和 80%，pH 值 6.22 时 *k*-酪蛋白溶解度最高为 43%；pH 值 2.1 时 *α*-、*β*-、*κ*-酪蛋白的乳化能力（87.5%、92.5%、96.25%）和发泡能力（1.3 cm、2 cm、2.17 cm）达到最高，而 *κ*-酪蛋白则在 pH 为 6.15 时乳化稳定性达到最佳；在一定范围内，随着温度的升高溶解度逐渐降低，其中 *κ*-酪蛋白受温度影响显著，溶解度低于 *α*-、*β*-酪蛋白；牦牛乳不同酪蛋白在 pI 附近时起泡性最差，而在 pH 值为 4.26 时泡沫稳定性最好，分别为 61.18%、71.50%、79.72%。

参考文献

[1] 牛春娥,张利平,孙俊锋,等.我国牦牛资源现状及其产品开发利用前景分析[J].安徽农业科学, 2009,37(17):8003-8005
NIU Chun-e, ZHANG Li-ping, SUN Jun-feng, et al. Analysis on the current situation of chinese yak resources and the development and utilization foreground of its products [J]. Anhui Agricultural Science, 2009, 37(17): 8003-8005

[2] 周让,王秀英,吕晓华.牦牛乳作为婴儿配方奶粉奶源的营养与安全性[J].乳业科学与技术,2014,37(1):27-30
ZHOU Rang, WANG Xiu-ying, LYU Xiao-hua. Nutrition and safety of yak milk as infant formula milk source [J]. Dairy Science and Technology, 2014, 37(1): 27-30

[3] 李亚茹,郝力壮,牛建章,等.牦牛乳与其他哺乳动物乳功能性营养成分的比较分析[J].食品科学, 2016,37(7):249-253
LI Ya-ru, HAO Li-zhuang, NIU Jian-zhang, et al. Comparative analysis of functional components of yak milk with other mammalian milk [J]. Food Science, 2016, 37(7): 249-253

[4] 罗玉珠,闫忠心,靳义超.不同地区牦牛乳矿物质元素比较研究[J].黑龙江畜牧兽医,2017,12:206-208
LUO Yu-zhu, YAN Zhong-li, JIN Yi-chao. Comparative study on mineral elements of yak milk in different regions [J]. Heilongjiang Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2017, 12: 206-208

[5] 刘纳.酪蛋白组分分离、纯化研究[D].成都:西华大学,2010
LIU Na. Studies on fractionation and purification of casein individuals [D]. Chengdu: Xihua University, 2010

[6] 刘冬,黄玉军,赵海晴,等.牦牛乳蛋白质组成及特性[J].乳业科学与技术,2013,36(3):20-23
LIU Dong, HUANG Yu-jun, ZHAO Hai-qing, et al. Protein composition and characteristics of yak milk [J]. Dairy Science and Technology, 2013, 36(3): 20-23

[7] Hipp N J, Groves M L, Custer J H, et al. Separation of α, *β*-, and γ-casein [J]. Ournal of Dairy Science, 1952, 35(3): 272-281

[8] Thompson M P. DEAE-Cellulose-Urea chromatography of casein in the presence of 2-mercaptoethanol [J]. Journal of Dairy Science, 1966, 49(7): 792-795

[9] 黄宇.中国人乳 *β*-酪蛋白的分离和鉴定研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2013
HUANG Yu. Separation and Identification of *β*-casein from Chinese human milk [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013

[10] 张艳,胡志和,赖宜萍.牛乳中 α_s-、*β*-酪蛋白组分的分离[J].食品科学,2009,30(14):31-36
ZHANG Yan, HU Zhi-he, LAI Yi-ping. Separation of α_s- and *β*-caseins from milk [J]. Journal of Food Science, 2009, 30 (14): 31-36

[11] 饶维桥,肖伟敏,张继远,等.改良的蛋白质电泳考马斯亮蓝染色方法研究[J].生物技术通报,2014,9:58-64
RAO Wei-qiao, XIAO Wei-min, ZHANG Ji-yuan,et al. The research of an improved method for protein staining in electrophoresis with coomassie brilliant blue [J]. Biotechnology Bulletin, 2014, 9: 58-64

[12] 朱晓囡,苏志国.反相液相色谱在蛋白质及多肽分离分析中的应用[J].分析化学,2004,2:248-254
ZHU Xiao-yi, SU Zhi-guo. Application of reversed-phase

liquid chromatography in separation and analysis of proteins and peptides [J]. Analytical Chemistry, 2004, 2: 248-254

[13] 李武祎,郭顺堂,俞树孝,等.酪蛋白组分分离技术及消化性测定[J].食品科学,2005,7:70-73
LI Wu-yi, GUO Shun-tang, YU Shu-xiao, et al. Study on the separation of α-casein and β-casein fromyak casein and digestibility of the product [J]. Food Science, 2005,7: 70-73

[14] 张光地.牦牛乳酪蛋白胶束结构及其单体分离工艺研究[D].兰州:甘肃农业大学,2018
ZHANG Guang-di. Study on micellar structure and monomer separation process of yak casein [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2018

[15] 王鹏杰.牦牛乳酪蛋白胶束理化性质的研究[D].兰州:甘肃农业大学,2013
WANG Peng-jie. The physico-chemical properties of yak casein micelles [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2013

[16] 张建忠,郦一心.酪蛋白和酪蛋白制品的开发[J].中国乳品工业,1998,6:30-31
ZHANG Jian-zhong, LI Yi-xin. Development of casein and casein products [J]. China Dairy Industry, 1998, 6: 30-31

[17] 梁春年.牦牛乳的特性及利用现状[A].中国畜牧业协会牛业分会.《2009 中国牛业进展》论文集[C].中国畜牧业协会牛业分会:中国畜牧业协会,2009:4
LIANG Chun-nian. Characteristics and utilization status of yak milk [A]. Cattle branch of china animal husbandry association. proceedings of 2009 Chinese cattle industry progress [C]. Cattle Branch of China Animal Husbandry Association: China Animal Husbandry Association, 2009: 4

[18] 李海梅,马莺,崔艳华,等.牦牛乳中主要过敏原的分离纯化[J].哈尔滨工业大学学报,2012,44(4):80-85
LI Hai-mei, MA Ying, CUI Yan-hua, et al. Separation and purification of major allergens in yak milk [J]. Journal of Harbin Institute of Technology, 2012, 44(4): 80-85

[19] 牛欣,何迎春.牛乳中酪蛋白的分离及其特性研究[J].乳业科学与技术,2010,33(5):212-215
NIU Xin, HE Ying-chun. The separation and particularities research of casein in milk [J]. Dairy Science and Technology, 2010, 33(5): 212-215

[20] 董润安.大学本科生物化学实验课的设计与实践[J].实验技术与管理,2005,22(4):98-100
DONG Run-an. Design and practice of undergraduate biochemistry experiment course [J]. Experimental Technology and Management, 2005, 22(4): 98-100

[21] 蔡立志,宋玉兰,黄丽卿.大豆蛋白的乳化功能及表征研究[J].食品科学,1999,10:20-23
CAI Li-zhi, SONG Yu-lan, HUANG Li-qing. Emulsification and characterization of soybean protein [J]. Food Science, 1999, 10: 20-23

[22] 蔡慧农,李亚玲,陈发河.谷氨酰胺转胺酶对酪蛋白的改性效应[J].食品科学,2004,2:107-111
CAI Hui-nong, LI Ya-ling, CHEN Fa-he. Modification study on goat milk casein by transglutaminase [J]. Food Science, 2004, 2: 107-111

[23] Holt C. Casein micelle substructure and calcium phosphate interactions studied by sephacryl column chromatography [J]. Journal of Dairy Science, 1998, 81(11): 0-3003

[24] Nguyen B T, Chassenieux C, Nicolai T, et al. Effect of the pH and NaCl on the microstructure and rheology of mixtures of whey protein isolate and casein micelles upon heating [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 70: 114-122

[25] 黎芳,王子靖海,李欣萍,等.环境因素对 3 种功能性蛋白物性的影响[J].食品科技,2018,43(3):64-68
LI Fang, WANG Zi-jing-hai, LI Xin-ping, et al. Effects of environmental factors on properties of three functional proteins [J]. Food Science and Technology, 2008, 43(3): 64-68

[26] 曹灿.不同处理条件对核桃蛋白特性的影响[D].西安:陕西科技大学,2018
CAO Can. Effects of different treatment condition on the properties of walnut protein isolates [D]. Xi`an: Shaanxi University of Science and Technology, 2018

[27] 王国骄,甘伯中,文鹏程,等.热处理和酸诱导对鲜牦牛乳酪蛋白功能性质的影响[J].甘肃农业大学学报,2013,48(1):129-134
WANG Guo-jiao, GAN Bo-zhong, WEN Peng-cheng, et al. Effects of heat treatment and pH-induced on some functional properties of yak casein [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2013, 48(1): 129-134

[28] 潘秋琴,沈蓓英.花生蛋白质的磷酸化改性[J].中国油脂,1997,1:25-27
PAN Qiu-qin, SHEN Bei-ying. Phosphorylation modification of peanut protein [J]. China Oils and Fats, 1997, 1: 25-27

[29] Fachin L, Walkíria H Viotto. Effect of pH and heat treatment of cheese whey on solubility and emulsifying properties of whey protein concentrate produced by ultrafiltration [J]. International Dairy Journal, 2005, 15(4): 330-332

[30] 肖连冬,程爽,李杰.大豆分离蛋白起泡性和乳化性影响因素的研究[J].中国酿造,2014,33(4):83-86
XIAO Lian-don, CHENG Shuang, LI Jie. Influence factors

of foaming properties and emulsifying properties of soybean protein isolate [J]. Chinese Brewing, 2014, 33(4): 83-86

[31] 王艳菲.黑木耳四种蛋白质的提取及特性研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2017
WANG Yan-fei. Extraction technics and property identity of four proteins in *Auricularia auricular* [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2017

[32] 张波,黄英,薛文通.红小豆分离蛋白功能特性研究[J].食品科学,2012,33(19):71-74
ZHANG Bo, HUANG Ying, XUE Wen-tong. Functional properties of adzuki bean protein isolate [J]. Food Science, 2012, 33(19): 71-74

[33] 赵国华,师树.胡麻籽分离蛋白的乳化及凝胶特性研究[J].中国粮油学报,2009,24(12):84-87
ZHAO Guo-hua, SHI Shu. Emulsifying and gelling properties of falxseed protein isolate [J]. Chinese Journal of Cereals and Oils, 2009, 24(12): 84-87

[34] 郭兴凤,阮诗丰.影响大豆分离蛋白乳化稳定性测定的几种因素研究[J].食品研究与开发,2006,6:59-61
GUO Xing-feng, RUAN Shi-feng. The effect factors of the determination of emulsion stability of SPI [J]. Food Research and Development, 2006, 6: 59-61

[35] 张根生,岳晓霞,李继光,等.大豆分离蛋白乳化性影响因素的研究[J].食品科学,2006, 27(7):48-51
ZHANG Gen-sheng, YUE Xiao-xia, LI Ji-guang, et al. Study on affecting factors of emulsification properties of soybean isolated protein [J]. Food Science, 2006, 27(7): 48-51

[36] 杜艳萍,刘春雷,闵伟红,等.长白山榛仁分离蛋白及其主要组分的功能性质研究[J].现代食品科技,2015,5:109-115
DU Yan-ping, LIU Chun-lei, MIN Wei-hong, et al. Major components and functional properties of Changbai mountain hazelnut protein isolate [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 5: 109-115

[37] 杨博,王永华,姚汝华.蛋白质的泡沫分离[J].食品与发酵工业,2001,27(2):76-79
YANG Bo, WANG Yong-hua, YAO Ru-hua. Foam fractionation of proteins [J]. Food and Fermentation Industry, 2001, 27(2): 76-79

[38] 周伟,于笛,迟志平,等.梨小豆蛋白功能特性及消化特性的研究[J].中国食品添加剂,2018,8:166-173
ZHOU Wei, YU Di, CHI Zhi-ping, et al. Study on Functional and digestive characteristics of pear bean protein [J]. China Food Additive, 2018, 8: 166-173

[39] 钟芹,陈国刚.打瓜籽蛋白功能特性的分析研究[J].农产品加工,2015,8:46-50
ZHONG Qin, CHEN Guo-gang. Functional characteristic of black water melon seeds protein [J]. Processing of Agricultural Products, 2015, 8: 46-50

[40] 赵维高,刘文营,黄丽燕,等.食品加工中蛋白质起泡性的研究[J].农产品加工(学刊),2012,11:69-72
ZHAO Wei-gao, LIU Wen-ying, HUANG Li-yan, et al. Review of the research on protein foaming ability in food processing [J]. Journal of Agricultural Products Processing, 2012, 11: 69-72

（上接第 261 页）

[22] 李金林,涂宗财,张露,等. SPME-GC-MS 法分析草鱼汤烹制过程中挥发性成分变化[J].食品科学,2016,37(22): 149-154
LI Jin-lin, TU Zong-cai, ZHANG Lu, et al. SPME-GC- MS analysis of changes in volatile compounds during preparation of grass carp soup [J]. Food Science, 2016, 37(22): 149-154

[23] 刘琳琳,秦小明,刘亚,等.香港牡蛎挥发性成分及其加热处理变化[J].广东海洋大学学报,2018,38(5):41-49
LIU Lin-lin, QIN Xiao-ming, LIU Ya, et al. Analysis of volatile components in Hongkong oyster meat and its changes after heating treatment [J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2018, 38(5): 41-49

[24] 高瑞昌,苏丽,黄星奕,等.水产品风味物质的研究进展[J].水产科学,2013,32(1):59-62
GAO Rui-chang, SU Li, HUANG Xing-yi, et al. Research progress of flavor components in fishery products [J]. Fisheries Science, 2013, 32(1): 59-62

[25] 崔方超,李婷婷,杨兵,等.电子鼻结合 GC-MS 分析草鱼脱腥前后风味变化[J].食品科学,2014,35(20):126-130
CUI Fang-chao, LI Ting-ting, YANG Bing, et al. Flavor compounds of fresh and deodorized grass carps as determined by electronic nose combined with GC-MS [J]. Food Science, 2014, 35(20): 126-130

[26] 杨昭,姚玉静,黄佳佳,等.微波和烘烤工艺对鲳鱼脆片挥发性物质成分的影响[J].食品科技,2018,43(10):186-194
YANG Zhao, YAO Yu-jing, HUANG Jia-jia, et al. Influence of microwave heating and baking treatments on the volatile components of pomfret crisp [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(10): 186-194