

全脂奶粉中蛋白质和氨基酸组成的比较研究

王定坤¹, 冯志强¹, 文灿¹, 曾暖茜², 罗小宝², 周兴起²

(1. 广东省食品质量监督检验站, 广东广州 510308) (2. 广东省食品工业公共实验室, 广东广州 510308)

摘要: 利用凯氏定氮仪和氨基酸自动分析仪对全脂奶粉中的蛋白质和氨基酸进行分析, 测得全脂奶粉中氨基酸总量约占蛋白质含量的95%, 各种氨基酸含量占氨基酸总量的比值的极差均小于0.010, 氨基酸组成相对稳定, 特征氨基酸检测快速、准确, 各种分析数据可为建立系统的蛋白质监测技术体系提供理论依据。

关键词: 氨基酸; 蛋白质; 全脂奶粉

文章篇号: 1673-9078(2012)12-1803-1805

Comparative Studies of Protein and Amino Acid

Composition in the Whole Milk Powder

WANG Ding-kun¹, FENG Zhi-qiang¹, WEN Can¹, ZENG Nuan-xi², LUO Xiao-bao², ZHOU Xing-qi²

(1. Guangdong Food Quality Supervision and Inspection Station, Guangzhou 510308, China)

(2. Guangdong Provincial Food Industry Public Laboratory, Guangzhou 510308, China)

Abstract: Using the Kjeldahl apparatus and automatic amino acid analyzer to analyze protein and amino acid in the whole milk powder. Total contents of amino acid account for about 95% of protein in the whole milk powder. The range of ratio of each amino acid contents to total contents of amino acid is less than 0.010. The compositions of amino acid are relatively stable and the detection of characteristic amino acid is fast and accurate. These entire analytical data can provide theoretical basis to the establishment of a scientific protein monitoring technology system.

Key words: amino acid; protein; whole milk powder

目前, 测量奶粉中蛋白质含量的国家标准方法主要是凯氏定氮法, 其最大缺点是先从主观上存在着对目标物进行预先假设的盲区, 将样品本身含有或添加的非蛋白含氮物与蛋白质中的氮一同测出并换算为蛋白质, 客观上给造假者提供了可乘之机。而蛋白质是由氨基酸构成的, 直接检测氨基酸的组成并考虑特征氨基酸、氨基酸总量与蛋白质的关系, 要比仅用凯氏定氮法测定蛋白质准确可靠得多^[1]。全脂奶粉是鲜奶经消毒、脱水、喷雾干燥制成, 基本保持了乳中的原有营养成分, 有利于分析奶粉中固有的蛋白质与氨基酸之间的关系。本文通过全脂奶粉中氨基酸组成及蛋白质的测定, 对氨基酸总量与氨基酸组成和蛋白质的关系进行分析比较, 为建立系统的蛋白质监测技术体系提供理论依据。

1 材料与方法

收稿日期: 2012-09-03

基金项目: 广东省科技计划项目(2009B011300012)

作者简介: 王定坤(1978-), 男, 硕士, 工程师, 主要从事食品检验和质控工作

1803

1.1 仪器与试剂

海能K9840自动凯氏定氮仪、海能SH220石墨消解仪、日立L-8900氨基酸自动分析仪。

浓盐酸、氢氧化钠、浓硫酸等: 均为分析纯。

1.2 样品

本次实验所用未掺假全脂奶粉均由各地乳品企业直接提供。

1.3 实验方法

1.3.1 蛋白质的测定^[2]

称取0.7 g(精确至0.001 g)全脂奶粉样品于凯氏定氮消解管中, 加入0.2 g硫酸铜、3 g硫酸钾和10 mL浓硫酸, 摇匀后置于石墨炉消解仪上, 先用150 °C消解约0.5 h至内容物全部炭化, 然后升温至300 °C保持约0.5 h, 再将消化温度升至450 °C, 消化至消解管内液体呈蓝绿色澄清透明后, 再继续加热0.5 h, 取下放冷, 放置在自动定氮仪上测定各全脂奶粉试样的蛋白质含量。

1.3.2 氨基酸的测定^[3-6]

1.3.2.1 样品前处理

准确称取0.2 g(精确至0.0001 g)全脂奶粉样品于

水解管中,加6 mol/L盐酸 10 mL~15 mL(视试样蛋白质含量而定),加入新蒸馏的苯酚3滴~4滴,再将水解管放入冷冻剂中,冷冻3 min~5 min,再接到真空泵的抽气管上,抽真空(接近0 Pa),然后充入高纯氮气;再抽真空充氮气,重复三次后,在充氮气状态下封口,将已封口的水解管放在110 °C ± 1 °C的恒温干燥箱内,水解22 h后,取出冷却。

打开水解管,将水解液过滤后,用去离子水多次冲洗水解管,将水解液全部转移到50 mL容量瓶内用去离子水定容。吸取滤液1 mL于5 mL容量瓶内,用真空干燥器在40 °C~50 °C干燥,残留物用1 mL~2 mL水溶解,再干燥,反复进行两次,最后蒸干,用1 mL pH 2.2的缓冲液溶解,供仪器测定用。

1.3.2.2 定量分析

准确吸取0.200 mL混合氨基酸标准,用pH 2.2的缓冲液稀释到5 mL,此标准稀释液浓度为5.00 nmol/50 μL,作为上机测定用的氨基酸标准,用氨基酸自动分析仪以外标法测定试样测定液的氨基酸含量。

仪器分析条件:4.6×60 mm,填料为3 μm磺酸型阳离子树脂分离柱;缓冲液流速0.4 mL/min,反应液流速0.35 mL/min,柱温57 °C,标准样品浓度1.2 nmol/20 μL,每个样品分析时间约30 min。

2 结果与分析

2.1 全脂奶粉中蛋白质的分析研究

因为现行标准中测定蛋白质的常用方法存在一定的缺陷,以致不能完全杜绝蛋白质造假或误判的现象,所以找到一个合理准确测定判定蛋白含量的方法是必要的。

表1 各全脂奶粉样品中氨基酸和蛋白质含量

Table 1 Contents of amino acid and protein in the samples of different whole milk powder

名称	项目		
	氨基酸总量 /(10 ⁻² g/g)	蛋白质含量 /(10 ⁻² g/g)	[氨基酸总量/蛋白质]/%
新西兰全脂奶粉1	22.9	24.2	94.6
新西兰全脂奶粉2	23.8	24.9	95.6
陕西全脂奶粉3	23.3	24.3	95.9
甘肃全脂奶粉4	24.1	25.2	95.6
甘肃全脂奶粉5	24.1	25.4	94.9
山东全脂奶粉6	23.5	24.7	95.1
甘肃全脂牦牛粉7	24.6	25.9	95.0
陕西全脂羊奶粉8	18.0	19.0	94.7

注:氨基酸总量为按GB/T 5009.124-2003测得的16种氨基酸的总含量。

氨基酸是构成蛋白质的基本单元,以氨基酸的总量与以凯氏定氮法测得的蛋白质含量相比较,能找到其两者的相互关系。利用凯氏定氮法测定蛋白质含量,利用先盐酸水解再氨基酸分析仪测定的方法得出16种氨基酸的总量,将氨基酸总量与蛋白质含量相比,获得各奶粉中氨基酸总量占总蛋白的百分含量,见表1。

由表1可知,氨基酸总量占蛋白质含量的百分比为95%左右,这个量也较真实地反映了全脂奶粉中乳蛋白的含量,与文献资料所示结果一致^[7-8],也说明了盐酸消解较彻底,可以得到相对理想的蛋白质水解产物。利用氨基酸总量占蛋白质含量的百分率可初步判断全脂奶粉中是否添加类似三聚氰胺的非蛋白成分。

2.2 全脂奶粉中氨基酸的分析研究

先对全脂奶粉样品进行酸水解,再通过氨基酸自动分析仪对天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸和精氨酸等十六种氨基酸进行测定,并算出氨基酸总量。由于色氨酸在盐酸水解蛋白质的过程中易被分解,胱氨酸也容易在此过程中部分被破坏^[9],故对上述两种氨基酸暂不予以讨论。

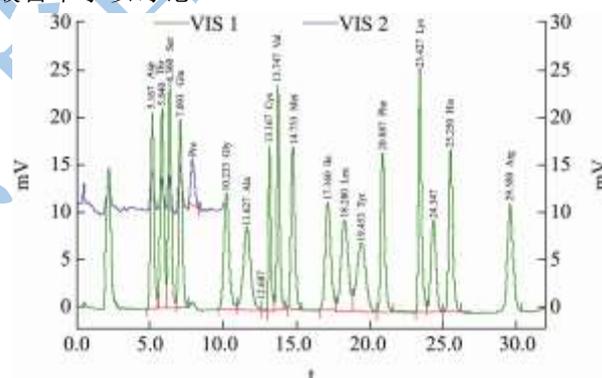


图1 氨基酸液体混标的分离色谱图

Fig.1 The separation chromatogram of liquid mixed sample of amino acid

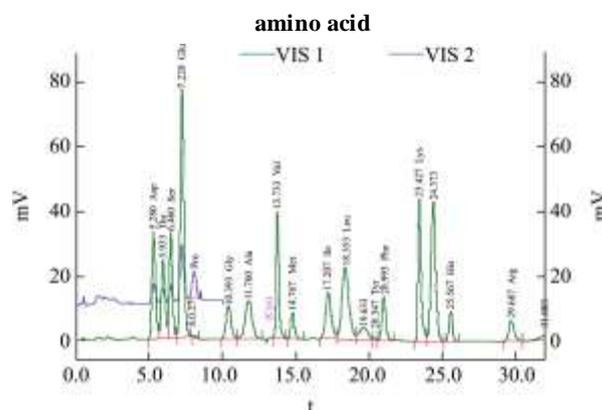


图2 全脂奶粉中各氨基酸的分离色谱图

Fig.2 The separation chromatogram of each amino acid in the whole milk powder

图1和图2分别为氨基酸液体混标及全脂奶粉中分离出的各种氨基酸。图中VIS2 (440 nm) 用于检测脯氨酸, VIS1 (570 nm) 用于检测除脯氨酸以外的其他氨基酸。

在图1中, 将原装氨基酸液体混标稀释后直接上机测定, 可使其中的17种氨基酸(包括脯氨酸)在30 min内得到十分理想的分离效果。在图2中, 全脂奶粉经盐

酸水解后, 其待测液中几乎没有杂质吸收峰, 且各氨基酸的峰形都很好, 出峰时间与峰形与标准均较一致, 且各种氨基酸的分离效果良好, 说明此法可以较准确地获得各种水解氨基酸含量。利用氨基酸自动分析仪对盐酸水解后的8个样品进行分析测定, 对其获得的结果进行整理, 得到奶粉中各种氨基酸含量占氨基酸总量的比值及比值范围, 如表2和图3所示。

表2 全脂奶粉样品中各氨基酸含量占氨基酸总量的比值及范围

Table 2 The range and ratio of each amino acid contents to total contents of amino acid in the whole milk powder

名称	新~1	新~2	陕~3	甘~4	甘~5	山~6	甘~7	陕~8	比值范围
天冬氨酸	0.075	0.076	0.077	0.079	0.076	0.077	0.077	0.075	0.075~0.079
苏氨酸	0.043	0.044	0.044	0.045	0.043	0.044	0.044	0.046	0.043~0.046
丝氨酸	0.054	0.054	0.053	0.053	0.052	0.053	0.051	0.051	0.051~0.054
谷氨酸	0.212	0.211	0.212	0.207	0.210	0.210	0.208	0.211	0.207~0.212
甘氨酸	0.020	0.018	0.018	0.019	0.019	0.018	0.019	0.019	0.018~0.020
丙氨酸	0.034	0.032	0.032	0.032	0.033	0.032	0.032	0.033	0.032~0.034
缬氨酸	0.066	0.066	0.066	0.068	0.067	0.067	0.067	0.070	0.066~0.070
蛋氨酸	0.026	0.027	0.026	0.027	0.026	0.025	0.026	0.024	0.024~0.027
异亮氨酸	0.053	0.052	0.052	0.053	0.052	0.051	0.053	0.052	0.051~0.053
亮氨酸	0.100	0.100	0.100	0.094	0.099	0.099	0.097	0.100	0.094~0.100
酪氨酸	0.033	0.035	0.037	0.039	0.036	0.031	0.037	0.031	0.031~0.039
苯丙氨酸	0.050	0.049	0.050	0.048	0.049	0.050	0.049	0.049	0.048~0.050
赖氨酸	0.081	0.082	0.084	0.088	0.083	0.085	0.086	0.082	0.081~0.088
组氨酸	0.027	0.027	0.027	0.026	0.027	0.027	0.026	0.028	0.026~0.028
精氨酸	0.033	0.034	0.030	0.033	0.034	0.033	0.034	0.032	0.030~0.034
脯氨酸	0.094	0.093	0.091	0.090	0.094	0.097	0.095	0.096	0.090~0.097

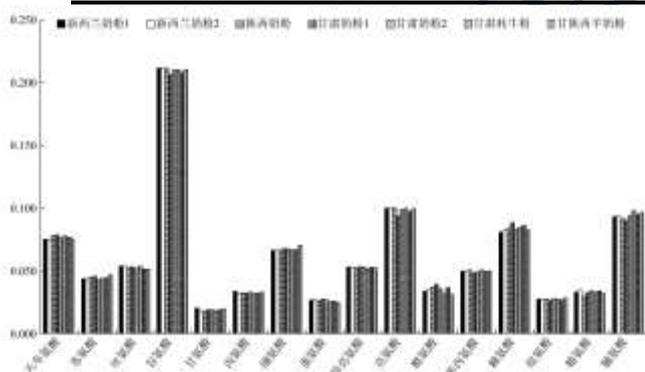


图3 全脂奶粉样品中各氨基酸含量占氨基酸总量的比值

Fig.3 Ratio of each amino acid contents to total contents of amino acid in the whole milk powder

从表2和图3可以看出, 在各氨基酸组分中, 谷氨酸的含量最高, 约占总量的21%, 含量在5%以上的氨基酸还有天冬氨酸、丝氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸和脯氨酸; 且不同奶粉样品中同一种氨基酸含量占氨基酸总量的比值相差不大, 其比值的极差均小于0.010(用百分比表示即为小于1.0%), 说明各地出产的全脂奶粉虽然蛋白质含量和氨基酸总量不

一样, 但其各种氨基酸的组成是相对稳定的。利用这一特性, 我们可以建立氨基酸组成成分表, 设定各种氨基酸含量占氨基酸总量的比值的合理上下限要求, 以此来控制由氨基酸或蛋白质造假造成的数据偏差, 从而判定是否添加有其它氨基酸或蛋白质成分。

还可利用该氨基酸析分析方法对样品中的游离甘氨酸^[4]、羟脯氨酸^[5]、牛磺酸^[6]等特征氨基酸含量进行分析测定, 该方法样品处理简便易操作, 可以直接进行分析, 避免了衍生产品的多样性, 也不涉及样品中氨基酸衍生不彻底等问题, 能快速、准确地测定出样品中各种特征氨基酸的含量, 并以此判定样品中是否有外加游离氨基酸或其它蛋白质成分。

3 结论

3.1 利用氨基酸总量占蛋白质含量的百分率可初步判断全脂奶粉中是否添加有非蛋白氮的成分, 全脂奶粉中氨基酸总量约占蛋白质含量的95%, 过低或过高的百分比都可能说明存在异常情况。

3.2 利用全脂奶粉中各氨基酸组成相对稳定的特性,

建立氨基酸组成成分表并设定氨基酸比值的合理上下限要求(本文分析得出的数据表明,各种氨基酸含量占氨基酸总量的比值的极差均小于0.010),如果出现偏离上下限值的情况则可以判定添加有其它氨基酸或蛋白质成分。

3.3 通过分析游离甘氨酸、羟脯氨酸、牛磺酸等特征性氨基酸的含量与存在情况,也可作为判定全脂奶粉中是否添加游离氨基酸或其它蛋白质的依据。

参考文献

- [1] 王波,冷云伟,蒋德林等.原奶中氨基酸组成分析[J].甘肃科技,2010,26(17):61-63
- [2] GB/T 5009.5-2003,食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S]
- [3] GB/T 5009.124-2003,食品中氨基酸的测定[S].
- [4] 冯志强,周兴起,庄俊钰.氨基酸分析仪测定含乳饮料中游离甘氨酸的方法研究[J].现代食品科技,2007,23(7):89-91
- [5] 曾暖茜,王洪健,周兴起等.氨基酸自动分析仪对乳制品中羟脯氨酸的测定方法研究[J].现代食品科技,2008,24(7):719-721
- [6] 王洪健,周兴起,冯志强等.氨基酸自动分析仪测定食品中牛磺酸的方法建立[J].现代食品科技,2012,28(3):348-350
- [7] 金世琳.乳与乳制品生产[M].北京:轻工业出版社,1985
- [8] 刘东红,唐佳妮,吕元等.乳品真蛋白-定义、分析方法、计价及影响因素[J].中国食品学报,2008,8(5):115-119
- [9] 李菁,舒森,陈文彬.用氨基酸自动分析仪测定婴幼儿配方奶粉中的16种氨基酸[J].食品工业科技,2012,33(4):64-69