

两种酪蛋白磷酸肽阻止钙沉淀形成的比较研究

梁肖娜¹, 孔彦文¹, 张居明¹, 陶冬冰¹, 丛敏¹, 杨梅¹, 刘彪², 武俊瑞¹, 岳喜庆¹

(1. 沈阳农业大学食品学院, 辽宁沈阳 110866)(2. 内蒙古伊利实业集团股份有限公司, 内蒙古呼和浩特 010050)

摘要:酪蛋白磷酸肽(casein phosphopeptides, CPP)是以牛乳酪蛋白为原料,含有成簇的磷酸丝氨酸的生物活性肽。本文通过比较两种不同氮磷摩尔比(N/P)的CPP样品抑制钙离子形成沉淀的功能以及pH值、温度和CPP浓度对其的影响,并与柠檬酸和木糖醇的协同作用进行比较研究。结果表明:CPP浓度是CPP作用效果的主要影响因素,pH值对CPP影响较大,其次是柠檬酸和木糖醇的添加。温度对CPP作用效果几乎没有影响;柠檬酸和木糖醇与两种CPP之间都有一定的协同作用并且两种CPP与柠檬酸的协同作用效果接近。且浓度越高,效果越好。在抑制金属离子沉淀,pH、CPP浓度和木糖醇协同作用上CPP II的作用效果较好,但温度对其两者都没有影响。两种CPP样品都具有良好的功能性质,但氮磷摩尔比(N/P)低的CPP II性质更优。本试验为我国研究开发富含CPP的功能性食品以及营养保健食品提供理论基础。

关键词:酪蛋白磷酸肽;氮磷摩尔比;钙离子;食品加工

文章编号:1673-9078(2017)3-60-66

DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.3.010

A Comparative Study on the Prevention of Calcium Precipitation by Two Types of Casein Phosphopeptides

LIANG Xiao-na¹, KONG Yan-wen¹, ZHANG Ju-ming¹, TAO Dong-bing¹, CONG Min¹, YANG Mei¹, LIU Biao², WU Jun-rui¹, YUE Xi-qing¹

(1. College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

(2. Inner Mongolia Yili Industrial Group Company Limited, Hohhot 010050, China)

Abstract: Casein phosphopeptides (CPPs) are biologically active peptides derived from milk casein that contain phosphoserine clusters. The ability of two CPP samples with different nitrogen/phosphorus (N/P) molar ratios to inhibit precipitation induced by calcium ions was compared, and the effect of pH, temperature, and CPP concentration on the inhibition, and synergistic effects of CPPs with citric acid and xylitol were assessed. The results show that the CPP concentration was the main influencing factor of CPP effectiveness, with pH having the largest effect on CPP, followed by addition of citric acid and xylitol. Temperature had nearly no effect on CPP activity; citric acid and xylitol had a certain synergistic effect on the two types of CPPs, and the synergistic effects of citric acid with the two types of CPPs were similar; effectiveness increased with increasing concentration. With respect to inhibition of metal ion precipitation, pH, CPP concentration, and xylitol synergism had better effectiveness on CPP II activity, but temperature had no effect on either of the CPPs. Both the types of CPPs had good functional properties, but CPP II, which had a lower N/P molar ratio, was better. This study provided a theoretical basis for research and development of CPP-rich functional and nutritional health foods in China.

Key words: casein phosphopeptides; molar ratio of N to P; calciumion; food processing

酪蛋白磷酸肽(Casein Phosphopeptides, 简称 CPP)由 Mellander 在 1950 年首次从酪蛋白的胰蛋白酶水解物中分离得到。是以牛乳酪蛋白为原料,在适宜的条件下经过单一或复合蛋白酶水解、分离纯化得到的一种富含特殊的簇磷酸丝氨酸结构的生物活性肽^[1]。CPP 在动物的小肠环境中能与钙、铁、锌和硒等二价

收稿日期:2015-12-23

基金项目:“十二五”农村领域国家科技计划课题(2013BAD18B03-02)

作者简介:梁肖娜(1990-),女,硕士,研究方向:动物性食品加工

通讯作者:岳喜庆(1966-),男,博士,教授,研究方向:畜产品加工

矿物质离子结合,防止产生磷酸盐沉淀,增强肠内可溶性矿物质的浓度,从而促进吸收利用,尤其是促进钙和铁的吸收和利用。被誉为“矿物质载体”^[2]。除此之外, CPP 还具有增强免疫力、抗龋齿^[3,4]以及促进动物体外受精^[5]等特殊生理功能。CPP 作为目前一种能够促钙吸收的活性肽,备受国内外研究学者的亲睐^[6,7]。如日本 *Suntory* 公司推出具有促钙活性的铁骨饮料等;德国推出的添加了 CPP 的饼干和液体饮料等^[9,10]。此外,将 CPP 添加到牙膏、漱口液或口服含片中,保护牙齿,预防龋齿以及制成生化制剂促进动物

体外受精和细胞融合等^[11]。

CPP 的生物活性由其分子中的氨基酸组成与排序或磷酸根的分布所决定, CPP 的 N/P 摩尔比可反映 CPP 的纯度和磷酸根密度, 随氮磷摩尔比降低, CPP 阻止磷酸钙沉淀形成的最低有效浓度下降。本研究通过化学方法探索了两种不同氮磷摩尔比(N/P)的 CPP 抑制钙离子功能, 以及二者在阻止二价金属离子沉淀方面存在的差异, 并对食品加工条件(如 pH 值、温度以及 CPP 浓度)对其发挥功能作用的影响进行比较研究。另外, 本实验对两种 CPP 与木糖醇及柠檬酸之间是否存在协同作用进行了探究及比较。旨在全面系统地为我国研究开发富含 CPP 的功能性食品以及营养保健食品提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

CPP I (N/P=12.41) 自制; CPP II (N/P=5.45) 自制; CaCl₂、FeCl₂、NaH₂PO₄ 和 NaOH, 分析纯; 柠檬酸和木糖醇, 食品级。

1.2 主要仪器设备

DGF30/7-1A 电热鼓风干燥箱, 南京知热干燥设备厂; pHs-25cpH 计, 上海理达仪器厂; SX2-4-10 马弗炉, 北京华洋仪器有限公司; BS210S 电子天平, 上海精密仪器公司; KDN-08C 数显温控消化炉, 上海洪纪仪器设备有限公司。

1.3 方法

1.3.1 CPP 阻止 Ca²⁺沉淀的效果^[12]

在反应体系中有 CaCl₂ 和 NaH₂PO₄ 存在的情况下, 会生成 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀。其反应过程如下:



因(1)和(2)均产生 H⁺, 所以 CPP 对这些反应的影响可用 pH-Stat 法进行测定。首先, 在 500 mL 反应体系中加入适量 0.1 mol/L 的 NaH₂PO₄ 和 CPP, 并使得它们的浓度分别为 8 mmol/L 和 200 mg/kg。其次加入 0.1 mol/L 的 CaCl₂ 溶液, 使其浓度为 8 mmol/L。此时立即用浓度为 0.1 mol/L 的 NaOH 将溶液的 pH 值调到 7.2, 并通过连续的滴加 NaOH 将其 pH 稳定在 7.2。从调节 pH 值不变后开始记录 0.1 mol/L 的 NaOH 的添加量, 以时间为横坐标, 0.1 mol/L 的 NaOH 添加量为纵坐标, 其中与不添加 CPP 的作为对照组, 从图中曲线可以观察到 CPP 阻止钙离子沉淀的效果。同时

当 NaOH 添加量较少, 并且添加速度较慢时, 产生的磷酸钙沉淀量少、速度较慢, 因此说明 CPP 对于阻止 Ca²⁺沉淀的效果较好。

1.3.2 CPP 的浓度对阻止 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀影响

首先在 500 mL 反应体系中加入适量 0.1 mol/L 的 NaH₂PO₄ 和 CPP, 使得二者浓度分别为 8 mmol/L 和 0、100、300 mg/kg。其次加入 0.1 mol/L CaCl₂ 溶液, 使其浓度为 8 mmol/L, 其中不添加 CPP 的作为对照实验, 通过观察曲线最终的变化趋势来判断 CPP 浓度与阻止 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀效果之间的关系。

1.3.3 温度对 CPP 阻止 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀影响^[13]

一般情况下食品都需要进行加热处理, 便于人体消化吸收。而 CPP 作为功能性食品添加剂, 其温度是否稳定将直接影响其添加到食品中的效果, 因此我们要了解温度的变化对 CPP 功能性质的影响。将 CPP I 和 CPP II 分别加入到 500 mL 的体系中, 使其浓度为 100 mg/kg。将体系温度分别设为 40 °C、60 °C、80 °C 和 100 °C, 通过观察曲线最终的变化趋势来判断温度对 CPP 阻止 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀的影响。

1.3.4 pH 值对 CPP 阻止 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀影响

在反应体系中加入 NaH₂PO₄ 和 CaCl₂, 使其浓度为 8 mmol/L, 将 100 mg/kg 的 CPP I 和 CPP II 分别加入, 改变反应体系的 pH 值, 使 pH 值为 5.0、6.0、7.0 和 8.0, 通过观察曲线最终的变化趋势来判断 pH 对 CPP 阻止 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀的影响。

1.3.5 柠檬酸对 CPP 阻止 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀影响^[14]

柠檬酸作为食品中常用的添加剂之一, 它也具有螯合金属离子的能力, 因此有必要了解柠檬酸和 CPP 的协同作用。在反应体系中加入 NaH₂PO₄ 和 CaCl₂, 使其浓度为 8 mmol/L, 将 100 mg/kg 的 CPP I 和 CPP II 分别加入, 再分别加入 0、200、400 和 600 mg/kg 的柠檬酸, 通过观察曲线最终的变化趋势来判断 CPP 和柠檬酸之间的协同作用。

1.3.6 木糖醇对 CPP 阻止 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀影响

在所有的甜味剂中木糖醇的抗龋齿特性效果最好, 在口香糖中得到了广泛应用, 同样, CPP 也具有很好的抗龋齿特性, 因此, 对二者之间的协同作用进行实验研究有一定的研究意义。在反应体系中加入 NaH₂PO₄ 和 CaCl₂, 使其浓度为 8 mmol/L, 将 100 mg/kg 的 CPP I 和 CPP II 分别加入, 再分别加入 0、200、400 和 600 mg/kg 的木糖醇, 通过观察曲线最终的变化趋势来判断 CPP 与木糖醇之间的协同作用。

1.3.7 CPP 总氮的测定

根据 GB 5009.5-2010 食品安全国家标准食品中蛋

白质的测定方法进行 CPP 总氮含量的测定。

1.3.8 CPP 总磷的测定

根据 GB/T 5009.87-2003 食品中磷的测定方法进行 CPP 总磷含量的测定。

1.3.9 根据 1.3.7 和 1.3.8 得出的总氮含量和总磷含量计算氮与磷的摩尔比

$$N/P \text{ (摩尔比)} = \frac{\text{CPP产品的总氮含量}/14}{\text{CPP产品的总磷含量}/31}$$

1.3.10 CPP 灰分的测定

称取制得的定量 CPP 放入坩埚中→将坩埚放置在电炉中燃烧直至没有烟产生→继续放在马弗炉中, 800 °C 下烘 1 h→冷却到室温后→称重→继续燃烧一小时→冷却→称重。

$$\text{灰分}(\%) = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100$$

式中, m_1 为空坩埚质量(g); m_2 为样品加空坩埚质量(g); m_3 为残留物加空坩埚质量(g)。

1.3.11 CPP 水分含量的测定

称量前先对称量皿进行清洗→将其放入干燥箱中干燥, 称至恒重→称取一定量样品放入称量皿→装入已调好温度的烘箱中(100~105 °C)烘 2 h→冷却到室温后→称量→继续干燥半小时→称重。

$$\text{水分含量} = \frac{G_2 - G_1}{W} \times 100$$

式中, G_1 为恒重后称量皿重量(g); G_2 为称量皿和样品共同的重量(g); W 为样品重量(g)。

1.3.12 数据统计分析

以上试验数据均进行 3 次平行测定, 试验结果以平均值±标准偏差表示, 采用 Excel 和 Statistica 6.0 软件对试验所得数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 CPP 产品指标比较

表 1 CPP 产品指标

Table 1 The indicators of CPP production

指标	测定结果	
	CPP I	CPP II
色泽	淡黄色	乳白色
气味	无异味	无异味
粗蛋白质(干基)%	78.12±2.04	90.34±2.59
水分/%	12.35±1.05	3.45±2.13
灰分/%	3.10±0.17	0.45±0.32
N/P	12.41±0.38	5.45±1.04

从表 1 中可以看出, N/P 摩尔比较低的 CPP II 与 CPP I 相比粗蛋白含量高, 水分和灰分含量低, 颜色

乳白, 反映其纯度较高, 杂质少, 可知 N/P 摩尔低的 CPP 产品各指标优越, CPP II 阻止 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 沉淀及在食品加工中表现优越的结论。

2.2 CPP 阻止 Ca^{2+} 沉淀的效果

研究 CPP I 和 CPP II 阻止 Ca^{2+} 沉淀的效果, 结果如图 1 和图 2 所示。

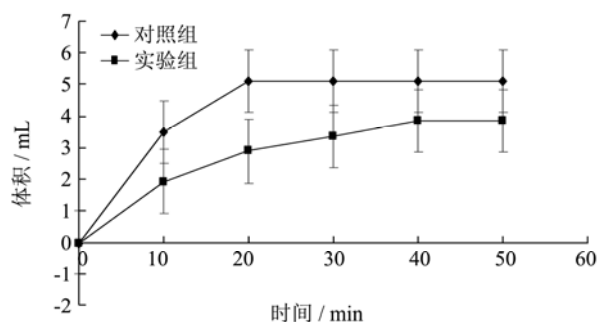


图 1 CPP I 阻止 Ca^{2+} 沉淀效果

Fig.1 Effect of CPP I on preventing of Ca^{2+} sedimentation

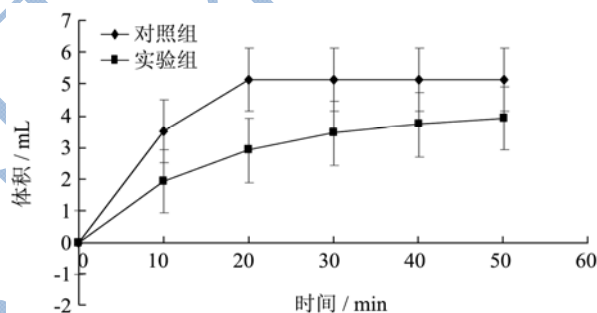


图 2 CPP II 阻止 Ca^{2+} 沉淀效果

Fig.2 Effect of CPP II on preventing of Ca^{2+} sedimentation

如图 1 所示, 前 20 min 内, 实验组曲线斜率小于对照组, 说明实验组阻止沉淀的效果好于对照组, 对照组 $Ca_3(PO_4)_2$ 沉淀达到最大值时需要 20 min, 实验组 $Ca_3(PO_4)_2$ 沉淀达到最大时需要 40 min, 说明添加 CPP I 后可以延缓 $Ca_3(PO_4)_2$ 沉淀生成的时间长达 20 min, 两组间数据有显著性差异($p \leq 0.05$)。

如图 2 所示, 对照组在 20 min 时形成 $Ca_3(PO_4)_2$ 沉淀, 实验组在 50 min 时形成 $Ca_3(PO_4)_2$ 沉淀, 具有数据统计学显著性差异($p \leq 0.05$), 说明添加 CPP II 后可以延长 $Ca_3(PO_4)_2$ 沉淀生成的时间长达 30 min, 比 CPP I 延长 $Ca_3(PO_4)_2$ 沉淀生成的时间的多 10 min。

以上两组实验说明, 添加 CPP I 和 CPP II 后, $Ca_3(PO_4)_2$ 沉淀生成的时间明显延长, 说明二者对阻止 Ca^{2+} 沉淀效果显著, 并且 CPP II 的阻止效果要优于 CPP I, 该结果证实, N/P 摩尔比越小其阻止 Ca^{2+} 沉淀的效果越好, 这是因为 N/P 摩尔比越小, 说明 CPP

中发挥功能作用的磷酸丝氨酸基团的密度越大,与Ca²⁺结合的机会也就越大,从而结合能力越强,阻止效果越好。

2.3 CPP 的浓度对阻止 Ca²⁺沉淀的影响

研究 CPP I 和 CPP II 浓度对阻止 Ca²⁺沉淀的效果,结果如图 3 和图 4 所示。

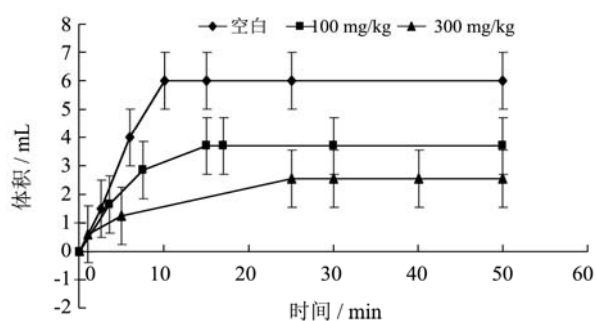


图 3 CPP I 的浓度对阻止 Ca²⁺沉淀效果的影响

Fig.3 Effect of different CPP I concentrations on preventing Ca²⁺ sedimentation

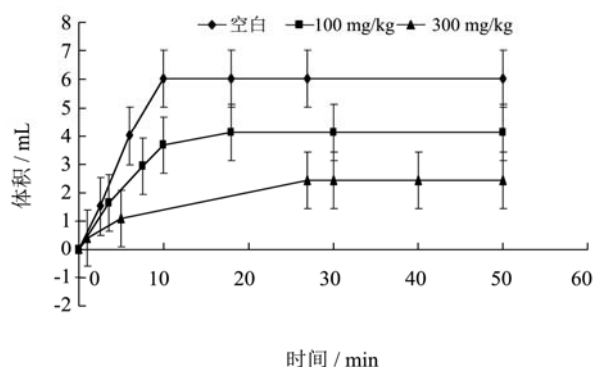


图 4 CPP II 的浓度对阻止 Ca²⁺沉淀效果的影响

Fig.4 Effect of CPP II different concentrations on preventing Ca²⁺ sedimentation

如图 3 所示,10 min 时,对照组中 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀基本形成,15 min 后,添加 100×10⁻⁶ CPP I 的体系中 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀形成,25 min 以后,添加 300 mg/kg CPP I 的体系中沉淀形成,与对照组相比数据有统计学显著性差异(p<0.05),沉淀形成时间延长 15 min,随着 CPP I 浓度的增大,沉淀形成的时间增加。

如图 4 所示,10 min 时,对照组形成 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀,18 min 后,添加 100 mg/kg CPP II 的体系中形成 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀,27 min 后,添加 300 mg/kg CPP 精制产品的体系中沉淀形成,与对照组相比,沉淀形成时间延长 17 min,两组间数据差异有显著性差异(p<0.05),随着 CPP II 浓度的提高,沉淀形成时间增加。

以上两组试验对比显示, CPP I 和 CPP II 的浓度都对其阻止 Ca²⁺沉淀有一定的影响,浓度越高,效果

越好。并且在高浓度 300 mg/kg 下, CPP II 的阻止时间 27 min,较 CPP I 延长 2 min,这是因为,在相同的浓度下, CPP II 中包含的功能基团磷酸丝氨酸基密度大于 CPP I,但 2 min 的延长相对于 25 min 并不明显,说明尽管 CPP II 效果更好但考虑成本时 CPP I 即为较优的选择。

2.4 温度对 CPP 阻止 Ca²⁺沉淀的影响

研究温度对 CPP I 和 CPP II 阻止 Ca²⁺沉淀的效果,结果如图 5 和图 6 所示。

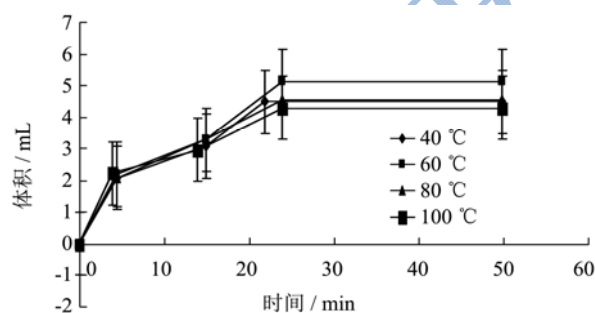


图 5 温度对 CPP I 阻止 Ca²⁺沉淀效果的影响

Fig.5 Effect of CPP I on preventing Ca²⁺ sedimentation at different temperatures

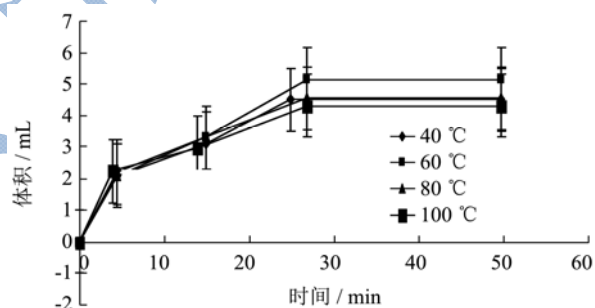


图 6 温度对 CPP II 阻止 Ca²⁺沉淀效果的影响

Fig.6 Effect of CPP II on preventing Ca²⁺ sedimentation at different temperatures

如图 5 所示,40 °C 时, Ca₃(PO₄)₂ 在 22 min 时形成沉淀,高于 40 °C 后, Ca₃(PO₄)₂ 沉淀形成的时间相差不大,两组间数据差异不显著(p>0.05),都在 22~25 min,另外观察曲线可以得出,四条曲线变化趋势相似,即斜率大小相近,说明 100 °C 以下的高温并不会对 CPP I 阻止 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀形成的效果造成影响。

如图 6 所示,40 °C 时, Ca₃(PO₄)₂ 在 25 min 时形成沉淀,高于 40 °C 后, Ca₃(PO₄)₂ 形成的时间相差不大,数据没有统计学显著性差异(p>0.05),都在 25~30 min,另外观察曲线可以得出,0~15 min 时,曲线斜率大小相近,15~30 min 时,随着温度的升高,曲线

斜率稍有增大, 总体而言, 100 °C 以下的高温对 CPP II 阻止 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀影响不大。

以上两组试验表明, 温度对 CPP II 和 CPP I 阻止 Ca^{2+} 沉淀效果影响不明显, 两组数据均差异不显著 ($p>0.05$), CPP II 的平均时间 27 min 比 CPP I 的平均时间 25 min 高 2 min, 效果较好。因此, 当这两种产品添加到食品中时, 一般的加热温度不会使其失去阻止 Ca^{2+} 沉淀的功能。

2.5 pH 值对 CPP 阻止 Ca^{2+} 沉淀的影响

研究 pH 值对 CPP I 和 CPP II 阻止 Ca^{2+} 沉淀的效果, 结果如图 7 和图 8 所示。

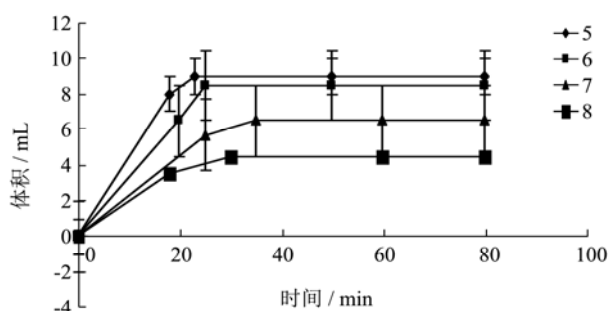


图 7 pH 值对 CPP I 阻止 Ca^{2+} 沉淀的影响

Fig.7 Effect of CPP I on preventing Ca^{2+} sedimentation at different pH

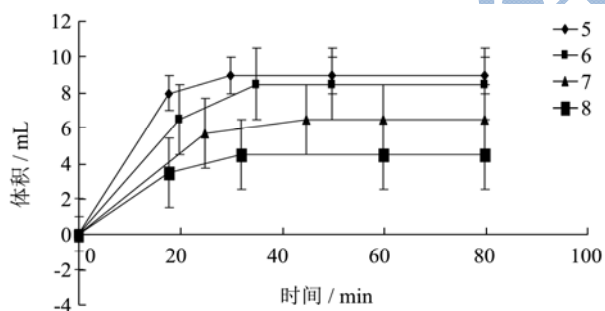


图 8 pH 值对 CPP II 阻止 Ca^{2+} 沉淀的影响

Fig.8 Effect of CPP II on preventing Ca^{2+} sedimentation at different pH

如图 7 所示, 当 pH 为 5.0 和 6.0 时, CPP I 对阻止 Ca^{2+} 沉淀形成的时间相同, 都是在 30 min 左右时产生沉淀, pH 为 7.0 时, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀在 35 min 时完全生成, 在此 pH 时, CPP I 阻止 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀形成的效果最好, 两组间数据差异非常显著 ($p\leq 0.01$), 当 pH 增大到 8 时, 需要 30 min 沉淀才完全形成, 说明阻止沉淀形成的时间明显较少。

如图 8 所示, 当 pH 为 5 时, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀完全形成需要 38 min, 随着 pH 的增大, 沉淀形成需要的

时间越长, 当 pH 为 7 时, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀完全形成需要 45 min, 形成沉淀时间明显延长, 效果非常显著 ($p\leq 0.01$), pH 为 8 时, 沉淀形成的时间有所减少。

以上两组试验说明, pH 值对 CPP II 和 CPP I 阻止 Ca^{2+} 沉淀生成时间先增大再降低, 到 pH 等于 7, 达到最大值, 相对于 CPP I, CPP II 阻止沉淀生成时间略长, 效果略好, 在 pH 为 7 时, CPP II 阻止沉淀生成时间为 45 min, 高于 CPP I 的 30 min。

2.6 柠檬酸对 CPP 阻止 Ca^{2+} 沉淀的影响

研究柠檬酸对 CPP I 和 CPP II 阻止 Ca^{2+} 沉淀的效果, 其中 CPP 为 100 mg/kg, 结果如图 9 和图 10 所示。

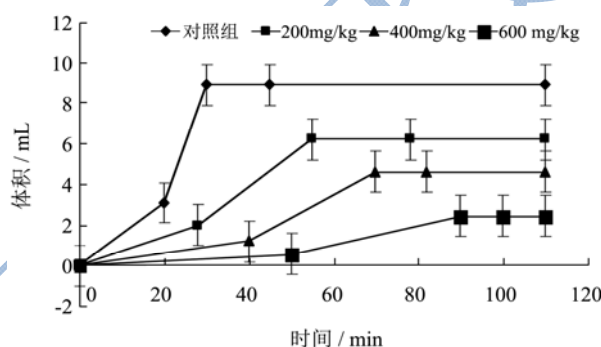


图 9 CPP I 与柠檬酸的协同作用

Fig.9 Synergism of CPP I with citric acid to prevent calcium phosphate sedimentation

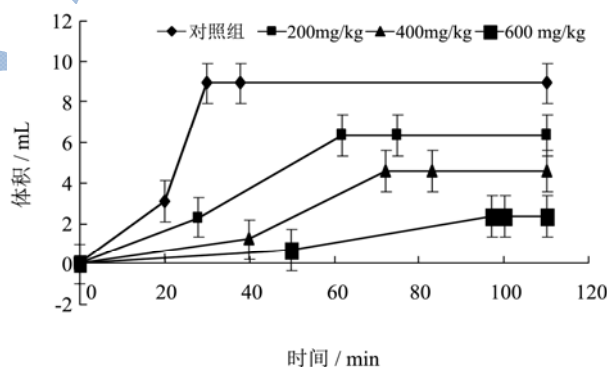


图 10 CPP II 与柠檬酸的协同作用

Fig.10 Synergism of CPP II with citric acid to prevent calcium phosphate sedimentation

如图 9 所示, 当柠檬酸添加量为 200 mg/kg 时, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀形成需要 55 min, 当柠檬酸添加量为 400 mg/kg 时, 与 200 mg/kg 时的相比, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀形成的时间增加 15min。与对照组相比, 沉淀形成的时间延长到 60 min 左右, 两组间数据有显著性差异 ($p\leq 0.05$)。当柠檬酸添加量进一步增大, 达到 600 mg/kg 时, 沉淀形成时间推迟到 90 min 左右。由此可见, 随着柠檬酸添加量的增多, CPP I 阻止 Ca^{2+} 沉淀的效果逐渐明显。

如图 10 所示, 当柠檬酸添加量为 200 mg/kg 时, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀形成的时间是 62 min, 当柠檬酸添加量为 400 mg/kg 时, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀形成的时间增加 16 min, 600 mg/kg 时, 沉淀形成的时间为 95 min, 与对照组相比两组间数据差异显著 ($p \leq 0.05$), 沉淀形成的时间延长 75 min, 可见, 随着柠檬酸添加量的增加, CPP II 阻止 Ca^{2+} 沉淀的效果改善明显。

两组结果对比, 柠檬酸与 CPP II 和 CPP I 之间在阻止 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀的形成过程中存在协同作用, 柠檬酸添加量为 200 mg/kg 时, CPP II 阻止沉淀形成时间为 62 min, 比 CPP I 高 7 min, 随着柠檬酸添加量增加, CPP II 的效果与 CPP I 的差距逐渐缩小, 到 600 mg/kg 时, 延迟沉淀生成时间基本接近。

2.7 木糖醇对 CPP 阻止 Ca^{2+} 沉淀的影响

研究木糖醇对 CPP I 和 CPP II 阻止 Ca^{2+} 沉淀的效果, 其中 CPP 为 100 mg/kg, 结果如图 11 和图 12 所示。

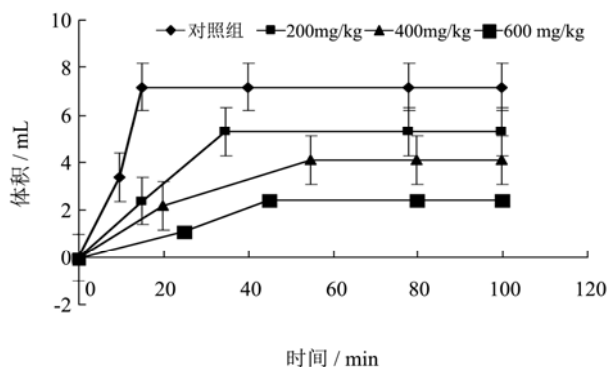


图 11 CPP I 与木糖醇的协同作用

Fig.11 Synergism of CPP I with xylitol to prevent calcium phosphate sedimentation

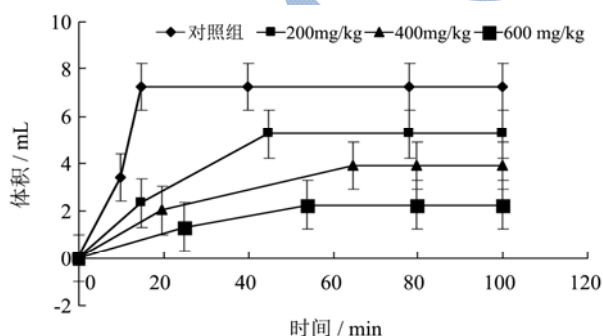


图 12 CPP II 与木糖醇的协同作用

Fig.12 Synergism of CPP II with xylitol to prevent calcium phosphate sedimentation

如图 11 所示, 对照组在 15 min 时 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀基本形成, 200 mg/kg 时, 35 min 后形成 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀, 400 mg/kg 时, 55 min 后形成沉淀, 600 mg/kg 时,

沉淀形成的时间有所减少, 两组间数据具有非常显著性差异 ($p \leq 0.01$), 为 45 min。说明当木糖醇添加量大于 400 mg/kg 时, 阻止沉淀形成的效果有所下降。

如图 12 所示, 对照组在 15 min 时 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀基本形成, 200 mg/kg 时, 45 min 后形成 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀, 400 mg/kg 时, 65 min 后形成沉淀, 600 mg/kg 时, 沉淀形成的时间为 54 min, 根据数据统计具有非常显著性的差异 ($p \leq 0.01$)。同样说明木糖醇添加量大于 400 mg/kg 时, 阻止沉淀形成的效果有所下降。

以上两组试验说明, 木糖醇对 CPP I 和 CPP II 阻止 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀形成都有一定的增强作用, 添加量为 400 mg/kg 时与 CPP 协同作用最好, 此时 CPP II 阻止沉淀生成时间为 65 min, 高于 CPP I 10 min。

3 结论

本实验通过以上化学方法研究了两种不同 N/P 摩尔比的 CPP 对钙离子的抑制功能以及 pH 值、温度和 CPP 浓度对其的影响, 并与柠檬酸和木糖醇的协同作用进行比较。实验结果表明: CPP 可以较好的阻止钙离子沉淀的形成, 其中 CPP 浓度是 CPP 作用效果的主要影响因素; pH 值对 CPP 影响较大; 其次是柠檬酸和木糖醇的添加量, 柠檬酸和木糖醇与两种 CPP 之间存在一定的协同作用, 并且浓度越高, 效果越好; 温度对 CPP 作用效果的影响较小。同时在抑制金属离子沉淀、pH、CPP 浓度、柠檬酸和木糖醇协同作用上 CPP II 的作用效果较好, 但温度对其两者的影响都较少。两种 CPP 样品都具有良好的功能性质, 但氮磷摩尔比 (N/P) 低的 CPP II 性质更加优越。为今后深入研究 CPP 的功能性质及其在功能食品中的应用, 提供了理论基础。

参考文献

- [1] 王玉莹,陈锡威,冯凤琴,等.酪蛋白磷酸肽的研究进展[J].食品工业,2014,5:204-208
WANG Yu-ying, CHEN Xi-wei, FENG Feng-qin, et al. Research progress in casein phosphopeptides [J]. Food Industry, 2014, 5: 204-208
- [2] Tulipano G, Bulgari O, Chessa S, et al. Direct effects of casein phosphopeptides on growth and differentiation of *in vitro* cultured osteoblastic cells (MC3T3-E1) [J]. Regulatory Peptides, 2010, 160(1-3): 168-174
- [3] Roslyn J. M, Nathan J. C, Eric C. R, et al. *In vitro* study of the effect of casein phosphopeptide amorphous calcium fluoride phosphate on iatrogenic damage to enamel during orthodontic adhesive removal [J]. American Journal of

- Orthodontics & Dentofacial Orthopedics, 2011, 139(6): 543-551
- [4] Kargul B, Altinok B, Welbury R. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel surface rehardening. an *in vitro* study [J]. European Journal of Paediatric Dentistry, 2012, 13(2): 123-127
- [5] 李如兰,王立克,章文,等.酪蛋白磷酸肽对肉仔鸡生产性能的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2012,21:61-62
LI Ru-lan, WANG Li-ke, ZHANG Wen, et al. Effect of casein phosphopeptides on the production performance of broilers [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2012, 21: 61-62
- [6] 孙延春.酪蛋白磷酸肽应用研究进展[J].中国乳品工业, 2011,39(2):53-55
SUN Yan-chun. Application research progress in casein phosphopeptides [J]. China Dairy Industry, 2011, 39(2): 53-55
- [7] Silvia Perego, Alessandra Zabeo, Emiliano Marasco, et al. Casein phosphopeptides modulate calcium uptake and apoptosis in Caco2 cells through their interaction with the TRPV6 calcium channel [J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(2): 847-857
- [8] Walker Glenn, Cai Fan, Shen Pei-yan, et al. Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate [J]. Journal of Dairy Research, 2006,73(1): 146-149
- [9] Ferrazzano G F, Coda M, Sangianantoni G, et al. SEM investigation on casein phosphopeptides capability in contrasting cola drinks enamel erosion: an *in vitro* preliminary study [J]. European Journal of Paediatric Dentistry, 2012, 13(4): 285-288
- [10] García-Nebot M J, Alegría A, Barberá R, et al. Bovine versus casein phosphopeptides added to fruit beverage: resistance and release from simulated gastrointestinal digestion [J]. Peptides, 2010, 3(1): 555-561
- [11] Manton D J, Cai F, Yuan Y, et al. Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate added to acidic beverages on enamel erosion *in vitro* [J]. Australian Dental Journal, 2010, 55(3): 256-260
- [12] 王瑛瑶,胡俊刚,杜东平,等.酪蛋白磷酸肽的体外功能试验[J].无锡轻工业大学学报,2001,20(3):243-247
WANG Ying-yao, HU Jun-gang, DU Dong-ping, et al. *In vitro* functional test casein phosphopeptides [J]. January of Wuxi University of Light Industry, 2001, 20(3): 243-247
- [13] 唐婷,覃海元.对不同温度酶解液制备酪蛋白磷酸肽的探讨[J].食品研究与开发,2011,32(6):1-3
TANG Ting, TAN Hai-yuan. Study on the preparation of casein phosphopeptides from different temperatures [J]. Food research and development, 2011, 32(6): 1-3
- [14] 徐曼,何东平,卫娜,等.酪蛋白磷酸肽持钙能力的研究[J].现代食品科技,2012,28(3):278-281
XU Man, HE Dong-ping, WEI Na, et al. Study on calcium retention ability of casein phosphopeptides [J]. Modern food science and technology, 2012, 28(3): 278-281