

不同加工工艺对婴儿配方奶粉中唾液酸存在形态的影响

刘宁^{1,2}, 孙晨¹, 刘丽波¹, 李思捷³, 李春¹

(1. 东北农业大学食品学院, 乳品科学教育部重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150030) (2. 黑龙江省乳品工业技术开发中心(国家乳业工程技术研究中心), 黑龙江哈尔滨 150028) (3. 黑龙江省蚕业研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要: 人乳中唾液酸含量丰富, 它对婴儿成长发育起到重要作用。然而, 国内对于婴儿配方奶粉中唾液酸添加的工艺研究几乎没有开展。为了使婴儿配方奶粉中的唾液酸含量更接近人乳, 本研究采用干法和湿法两种加工工艺将游离唾液酸添加到婴儿配方奶粉中, 确定了两种加工工艺的婴儿配方奶粉中游离唾液酸的添加量范围, 并且根据人乳中唾液酸存在模式, 选择了最佳添加量。结果表明: 干法生产每吨婴儿配方奶粉添加 1.4~2.8 kg 游离唾液酸, 婴儿配方奶粉中的唾液酸含量为 348~559 mg/L; 湿法生产时游离唾液酸的添加量为 400~800 mg/L, 婴儿配方奶粉中唾液酸的含量为 343~557 mg/L。尽管两种工艺均能满足婴儿配方奶粉中唾液酸含量标准, 但干法工艺相比湿法工艺游离唾液酸的损耗小, 节约经济成本。研究发现, 随着游离唾液酸添加量逐渐增大, 蛋白质结合唾液酸比例逐渐降低。当干法生产添加量为 2.8 kg/t, 湿法生产添加量为 800 mg/L 时, 唾液酸在婴儿配方奶粉中的存在模式与人乳接近。

关键词: 唾液酸; 婴儿配方奶粉; 加工工艺; 添加量

文章编号: 1673-9078(2014)2-159-164

Effects of Different Processing Conditions on the Existing Pattern of Sialic Acid in Infant Formula

LIU Ning^{1,2}, SUN Chen¹, LIU Li-bo¹, LI Si-jie³, LI Chun¹

(1. Key Laboratory of Dairy Sciences, Ministry of Education, College of Food Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China) (2. Heilongjiang Dairy Industry Technical development center (National Dairy Engineering & Technical Research Center), Harbin 150028, China) (3. Heilongjiang Province Sericultural Research Institute, Harbin 150086, China)

Abstract: Sialic acid is rich in human milk, and it plays an important role in infants' growth and development. However, the study on the adding of sialic acid to infant formula was less reported. In order to make sialic acid content in infant formula closer to breast milk, sialic acid adding to infant formula by dry and wet process and the adding dosage of sialic acid in infant formula were determined. The results showed that one ton of infant formula made by dry process should be added from 1400 to 2800 g free sialic acid, and the content of sialic acid in infant formulas were 348~559 mg/L. Adding dose of free sialic acid in infant formula milk powder by wet method was 400~800 mg/L, and the content of sialic acid in infant formulas were 343~557 mg/L. Although the two technologies could meet the content of sialic acid in infant formula standards, but dry process was more economic. The present study also suggested that the proportion of glycoprotein-bound-sialic acid was decreased with the increasing of adding doses of free sialic acid. When adding dose by dry process was 2.8 kg/t and 800 mg/L by wet process, the sialic acids in infant formula was close to the existing pattern of sialic acids in human milk.

Key words: sialic acid; infant formula milk powder; adding process; adding doses

唾液酸(sialic acid, 简称 SA)是一类酸性九碳单糖, 一种神经氨酸衍生物, 化学命名为 5-氨基-3,5-

收稿日期: 2013-08-22

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划课题(2011BAD09B0304); 食品安全与营养协同创新中心

作者简介: 刘宁(1960-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 营养与乳品加工

通讯作者: 李春(1977-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 乳品加工与发酵

二脱氧-D-甘油-D-半乳壬酮糖^[1]。唾液酸广泛分布于多种生物体中, 作为复合糖的组成成分镶嵌于所有细胞表面以及大多数脊椎动物糖蛋白和糖脂分子的末端最外侧, 其中, 在神经细胞膜上的含量是其它细胞膜的 20 倍^[2-3]。它参与人脑组织中神经节苷脂和糖蛋白的构成, 有助于增强神经突触发生, 促进婴儿脑部神经系统发育。所有哺乳动物(包括人)的肝脏都具有由

单糖合成唾液酸的能力,新生儿的肝脏发育尚不成熟,自身合成唾液酸很有限,因此满足不了大脑快速生长发育的需要^[4]。人乳中唾液酸的含量在 250~1500 mg/L。尽管有些婴儿配方奶粉更好的接近人乳,但婴儿配方奶粉的唾液酸含量不及 200 mg/L^[5]。有关动物模型的实验表明:外源性唾液酸影响大脑的生长并且可以提高学习能力。因此,婴儿配方奶粉中添加游离唾液酸会有效促进他们的神经系统和大脑的发育^[6]。人乳中唾液酸分为游离(free sialic acid)、低聚糖结合(oligosaccharide-bound-sialic acid)、蛋白质结合(glycoprotein-bound-sialic acid)和脂质结合(lipid-bound-sialic acid)四种形式,由于脂质结合含量低,主要考虑前三种形式^[7]。人乳唾液酸存在模式为:低聚糖结合占 73%,蛋白质结合占 23.7%,游离态约占 2.9%。目前,美国婴儿配方奶粉通过添加酪蛋白糖巨肽来增加唾液酸的含量,使其接近人乳中总含量^[8]。虽然在总含量上接近人乳,但蛋白质结合唾液酸约占 70%,游离、低聚糖结合约占 30%,这与人乳中唾液酸存在模式相差很大,可能会使婴儿配方奶粉中的唾液酸不能充分吸收和利用,对婴儿大脑神经系统发育产生不利影响。本研究以人乳中唾液酸存在模式为基准,在干法、湿法两种生产婴儿配方奶粉工艺过程中,添加游离唾液酸,确定游离唾液酸在这两种加工方式生产婴儿配方奶粉的添加量范围。通过添加游离唾液酸来降低婴儿配方奶粉中蛋白质结合唾液酸所占的比例,使其与人乳唾液酸存在模式更加接近,优化最佳添加量。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试剂:4,5-亚甲二氧基-1,2-邻苯二胺盐酸盐(4,5-methylenedioxy-1,2-phenylenediaminedi hydrochloride, DMB)、Neu5Ac 标准品,美国 Sigma 公司;甲醇与乙腈(均为色谱纯),天津市科密欧化学试剂有限公司;硫酸、三氟乙酸、三氯乙酸、冰醋酸、亚硫酸钠、硫代硫酸钠、β-巯基乙醇(均为分析纯),天津市光复化学精密研究所;半成品婴儿配方奶粉,内蒙古伊利乳业有限公司;脱盐乳清粉(市售);鲜奶(市售);复合营养素(哈阿爾賓歐諾科技有限公司);唾液酸(Neu5Ac),实验室自制。

实验仪器:高效液相色谱(带荧光检测器);依利特 RP-18 柱(250 mm×4 mm, 5 μm);0.22 μm 微孔滤膜;K-100 型超声仪;DKS-12 型电热恒温水浴锅;高速离心机;干粉混合机;均质机;喷雾干燥塔;灭菌

锅等。

1.2 实验方法

1.2.1 游离唾液酸的干法添加

(1) 游离唾液酸干法添加工艺的确

根据婴儿配方奶粉的干法^[9]生产流程,添加游离唾液酸的婴儿配方奶粉具体生产流程如图 1。



图 1 游离唾液酸干法添加工艺流程

Fig.1 Flow chart of adding free sialic acid by dry process

干法加工生产前对符合国家标准原料进行扒皮,扒皮完成后的高脂乳粉、脱盐乳清粉、蔗糖、复合营养素和游离唾液酸称量后,按用量多少依次排开,先以最小量混合,依次扩大。混料的环境温度在 20 °C 以下,相对湿度在 60% 以下。混料机装载系数在 50~80% 之间,混料时间为 25~40 min。混合均匀最后收集产品。

(2) 游离唾液酸干法添加量的确定

表 1 干法生产婴儿奶粉的唾液酸添加量

Table 1 Adding doses of free sialic acid in infant formula milk powder by dry process

组别	婴儿配方奶粉含量/g	唾液酸添加量/mg
空白组	141	0
第一组	141	100
第二组	141	200
第三组	141	300
第四组	141	400
第五组	141	500
第六组	141	600

人乳中唾液酸的含量在 250~1550 mg/L^[10],美国专利中将婴儿配方奶粉中的唾液酸含量标准定为 300~600 mg/L^[8]。因此,确定干法添加游离唾液酸分 7 个添加量^[11~12]。依据惠氏、美赞臣、雀巢等公司生产的婴儿配方奶粉在冲调时的标准:100 mL 液态奶

≈14.1 g 幼儿配方奶粉+90 mL 水, 因此, 每升液态奶中含有 141 g 婴儿配方奶粉, 在此基础上添加不同量的游离唾液酸, 添加量见表 1。

1.2.2 游离唾液酸的湿法添加

(1) 游离唾液酸湿法添加工艺确定

湿法添加游离唾液酸的婴儿配方奶粉生产流程如图 2。



图 2 游离唾液酸湿法添加工艺流程

Fig.2 Flow chart of adding free sialic acid by wet process

湿法添加采用 10 °C 左右经过预处理的原料乳在高速搅拌缸内溶解乳清粉、糖等配料, 以及维生素、微量元素和游离唾液酸。混合后的物料预热到 55 °C, 加入脂肪部分, 然后进行均质, 均质压力为 15~20 MPa。经 85 °C 和 16 s 杀菌后, 物料浓缩至 18 °Be' (波美度) 之后进行喷雾干燥, 进风温度为 155~160 °C, 排风温度为 80~85 °C, 塔内负压 196.133 Pa。最后收集成品。

(2) 游离唾液酸湿法添加量的确定

根据人乳中唾液酸的含量以及美国专利中婴儿配方奶粉中的唾液酸含量标准, 确定婴儿配方奶粉中游离唾液酸的湿法添加的添加量为 0、200、400、600、800 和 1000 mg/L (以喷粉前鲜奶为标准) [11~12]。

1.2.3 两种工艺添加不同量游离唾液酸婴儿配方奶粉的比较分析

对两种工艺添加游离唾液酸生产的奶粉进行唾液酸含量分析^[13~14]。虽然乳中唾液酸分为游离、低聚糖结合、蛋白质结合和脂质结合四种形式, 但由于脂质结合含量特别低 (<0.5%), 所以本研究未单独分析脂质结合唾液酸 (包含于游离和与低聚糖结合唾液酸中)。故婴儿配方乳粉中总唾液酸含量为游离唾液酸、低聚糖结合唾液酸和蛋白结合唾液酸含量之和。将不同添加量婴儿配方奶粉的唾液酸含量测定结果与人乳及美国专利中婴儿配方奶粉中的唾液酸含量标准进行对比分析, 确定婴儿配方奶粉中唾液酸的添加量范围。

分析随着游离唾液酸的添加量不同, 游离、低聚糖结合唾液酸和蛋白质结合唾液酸比例的变化情况, 根据人乳的唾液酸存在模式来确定最佳添加量。

1.2.4 添加游离唾液酸的婴儿配方奶粉的感官指标测定

对添加的游离唾液酸婴儿配方奶粉进行感官指标

滋气味、组织状态、冲调性、色泽项目的检验, 判定添加游离唾液酸的婴儿配方奶粉的感官指标是否符合国家标准。

1.3 统计分析

采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 软件进行统计分析, 数据处理, 用 origin 软件进行绘图。除非特别说明, 所有数据都是三次测试的平均值。

2 结果与分析

2.1 婴儿配方奶粉中唾液酸分析方法的确定

本研究对配置好的 10、20、40、60、80 μg/mL 的唾液酸标准溶液进行 HPLC 测定。根据不同质量浓度唾液酸标准溶液的出峰面积, 以唾液酸质量浓度 X (μg/mL) 为横坐标, 峰面积 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线图 (如图 3)。

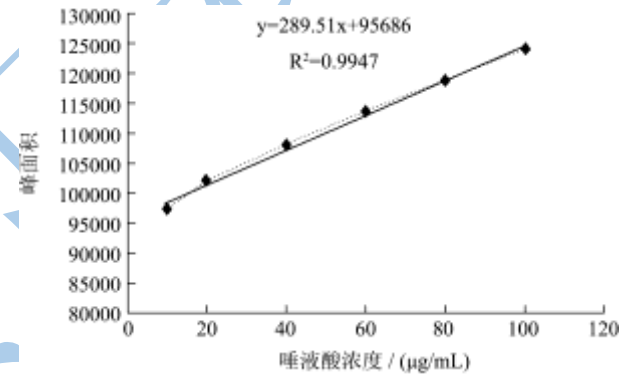


图 3 唾液酸标准曲线

Fig.3 Standard curve of sialic acid

由图 3 可知, 唾液酸在 10~100 μg/mL 范围内峰面积与浓度的线性回归方程: $Y=289.51X+95686$, 相关系数 $R^2=0.9947$ 。结果表明, 唾液酸在此质量浓度范围内线性关系良好。

2.2 唾液酸在两种添加工艺中添加量的确定

本研究按照婴儿配方奶粉干法、湿法两种加工工艺在生产过程中添加游离唾液酸, 每种工艺都设定了不同添加量, 最终确定游离唾液酸的添加量范围。对干法、湿法两种工艺中不同游离唾液酸添加量的婴儿配方奶粉进行唾液酸含量的测定, 添加量的确定结果如图 4 和图 5 所示。

从图 4 中可以看出, 干法添加时, 空白组婴儿配方奶粉中唾液酸的含量为 192 mg/L。随着游离唾液酸添加量的增大, 婴儿配方奶粉中唾液酸的浓度逐渐增大。当游离唾液酸的添加量为 200~400 mg 时, 婴儿配方奶粉中的唾液酸含量为 348~559 mg/L。因此, 根

据检测结果,干法生产 141 g 婴幼儿配方奶粉中添加 200~400 mg 游离的唾液酸能达到婴儿配方奶粉中唾液酸的含量标准^[8]。通过换算,每吨婴幼儿配方奶粉的游离唾液酸添加量为 1.4~2.8 kg。从图 5 可以看出,湿法添加游离唾液酸,空白组中唾液酸的含量为 158 mg/L。当游离唾液酸的添加量为 400~800 mg/L 时,婴儿配方奶粉中唾液酸的含量 343~557 mg/L,达到婴儿配方奶粉中唾液酸的含量标准^[8]。

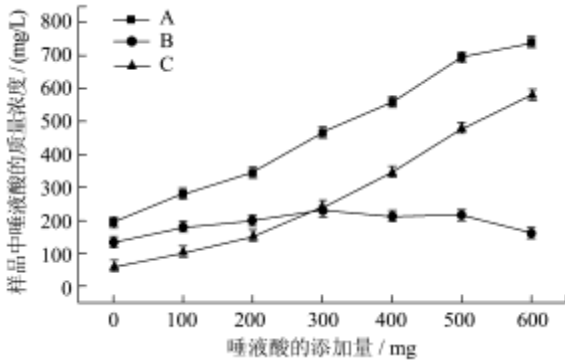


图 4 干法添加不同量游离唾液酸的婴儿配方奶粉中唾液酸的质量浓度

Fig.4 The mass concentration of sialic acid after adding different doses of free sialic acid to infant formula milk powder by dry process

注: A-蛋白结合唾液酸; B-游离唾液酸和低聚糖结合唾液酸; C-总唾液酸含量。

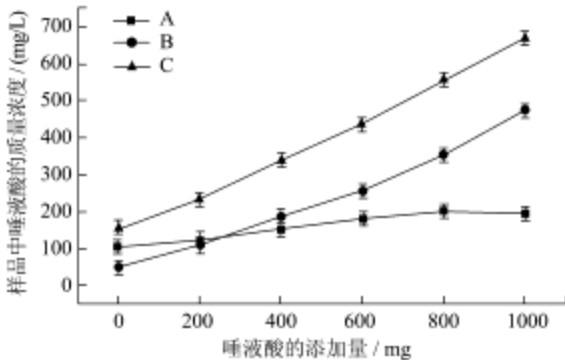


图 5 湿法添加不同量游离唾液酸的婴儿配方奶粉中唾液酸的质量浓度

Fig.5 The mass concentration of sialic acid after adding different doses of free sialic acid to infant formula milk powder by wet process

注: A-蛋白结合的唾液酸; B-游离唾液酸和低聚糖结合唾液酸; C-总唾液酸含量

经计算,干法添加工艺中游离唾液酸损耗率为 22.5%,湿法添加工艺中游离唾液酸损耗率为 53.7%。由此可见,湿法工艺相比干法工艺对游离唾液酸的损耗较大。

2.3 优化婴儿配方奶粉中唾液酸存在模式

本研究通过添加游离唾液酸来降低婴儿配方奶粉中蛋白质结合唾液酸的比例。对两种工艺不同游离唾液酸添加量的婴儿配方奶粉进行分析,比较随着游离唾液酸的添加量不同,游离、低聚糖结合唾液酸和蛋白质结合唾液酸比例的变化情况,根据人乳的存在模式来确定最佳添加量,结果如图 6 和图 7。

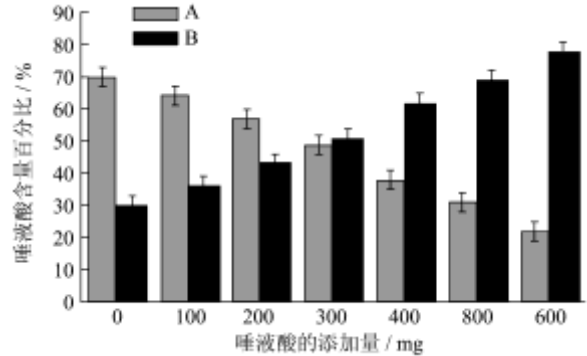


图 6 唾液酸在干法加工婴儿配方奶粉中不同存在形式的百分比

Fig.6 The percentage of different existing forms of sialic acid in infant formula milk powder by dry process

注: A-蛋白结合唾液酸; B-游离唾液酸和低聚糖结合唾液酸。

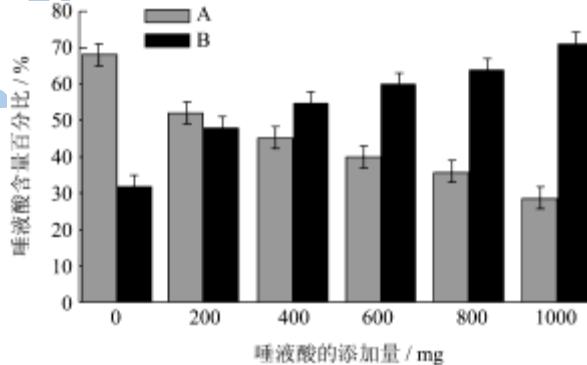


图 7 唾液酸在湿法加工婴儿配方奶粉中不同存在形式的百分比

Fig.7 The percentage of different existing forms of sialic acid in infant formula milk powder by wet process

注: A-蛋白结合唾液酸; B-游离唾液酸和低聚糖结合唾液酸

人乳中游离、低聚糖结合唾液酸约占总唾液酸含量的 75.9%,蛋白质结合唾液酸约占 23.7%^[6]。干法工艺空白组中,游离、低聚糖结合比例占 30%,蛋白质结合比例占 70%;当干法添加唾液酸的添加量为 2.8 kg/t 时,游离、低聚糖结合唾液酸占总唾液酸含量的 66.8%,蛋白质结合唾液酸占 33.2%(如图 6),这与

乳中唾液酸存在模式的比例相差不到 10%。湿法工艺空白组中,游离、低聚糖结合比例占 32%,蛋白质结合比例占 68%;当湿法添加唾液酸的添加量为 800 mg/L 时,游离、低聚糖结合唾液酸占总唾液酸含量的 64%,蛋白质结合唾液酸占 36%(如图 7),这与人乳中唾液酸存在模式的比例相差不到 15%。

从结果可以看出,随着游离唾液酸添加量的增大,游离、低聚糖结合唾液酸比例增大,蛋白结合唾液酸比例减小。虽然干法添加量在 1.4~2.8 kg/t,湿法添加量 400~800 mg/L 时,婴儿配方奶粉中的唾液酸含量达到人乳含量的要求,但是与人乳唾液酸的存在模式有很大不同。根据实验结果,可以确定:干法添加量 2.8 kg/t 和湿法添加量 800 mg/L 时,婴儿配方奶粉中唾液酸的含量和存在模式都更接近人乳,因此两者为最优添加量。

2.4 添加游离唾液酸婴儿配方奶粉感官指标

表 2 添加唾液酸的产品与未添加唾液酸产品的感官指标分析

Table 2 Sensory indexes for the products of added sialic acid and non-added sialic acid

指标	国家标准 GB 19644-2010 的要求 ^[15]	干法添加唾液酸的产品	湿法添加唾液酸的产品	未添加唾液酸的产品
色泽	呈均匀一致的乳黄色	呈均匀一致的乳黄色	呈均匀一致的乳黄色	呈均匀一致的乳黄色
滋味和气味	具有纯正的乳香味	具有纯正的乳香味	具有纯正的乳香味	具有纯正的乳香味
组织状态	干燥均匀的粉末	干燥均匀的粉末	干燥均匀的粉末	干燥均匀的粉末
冲调性	润湿下沉快,无团块	润湿下沉快,无团块	润湿下沉快,无团块	润湿下沉快,无团块

3 结论

3.1 添加游离唾液酸到婴儿配方奶粉中,对于前 4 个月的混合喂养和人工喂养的婴儿神经系统生长发育来说,是至关重要的。干法生产每吨婴儿配方奶粉中添加 1.4~2.8 kg 游离唾液酸,湿法加工唾液酸添加量为 400~800 mg/L 可达到婴儿配方奶粉中唾液酸含量要求,感官指标符合国家标准。随着游离唾液酸添加量的增大,蛋白质结合唾液酸的比例随之降低。当干法加工添加游离唾液酸为 2.8 kg/t 时,婴儿配方奶粉中游离、低聚糖结合唾液酸占总唾液酸含量的 66.8%,蛋白结合唾液酸为 33.2%;当湿法添加游离唾液酸的添加量为 800 mg/L 时,游离、低聚糖结合唾液酸占总唾液酸含量的 64%,蛋白质结合唾液酸占 36%。这两种工艺的游离唾液酸量使婴儿配方奶粉中唾液酸含量和存在模式更接近人乳,因此为最佳添加量。

3.2 虽然干法、湿法加工工艺均能满足生产要求,但湿法加工时游离唾液酸的损耗比较大。原因是湿法添加时灭菌、均质和喷雾干燥等因素对游离唾液酸的损耗。干法生产省去乳清粉等配料重新溶解再喷雾干燥

的分析

对添加游离唾液酸的婴儿配方奶粉和未添加游离唾液酸的除唾液酸以外相同配方的婴儿配方奶粉进行感官指标分析,结果如表 2 所示。

目前,婴儿配方奶粉的生产大多采用湿法或半干法,需要将大量的粉状配料重新溶解,然后和牛乳及营养添加剂混合干燥,生产周期长,能耗大,成本高。而干法生产则将生产婴儿配方奶粉的原料用特殊的干混设备加以混合,然后再包装出厂的一种工艺。干法生产的婴儿配方奶粉感官质量欠佳,维生素和微量元素容易混不均匀。然而通过结果可以看出,本研究干法添加唾液酸的婴儿配方奶粉在色泽,滋味气味,组织状态和冲调性方面符合国家标准,无异味,颜色以及组织状态的变化。因此,唾液酸的在婴儿配方奶粉中的添加不会出现混合不均匀的问题,干法和湿法添加均可以达到感官要求。

的耗能过程,节约能源。而且它缩短生产周期,防止加热过程对唾液酸的破坏,既保存营养物质又降低成本。尽管目前唾液酸的价格比较昂贵,但由于唾液酸对婴儿的营养生理作用巨大,添加唾液酸到婴儿配方奶粉中必将成为一种趋势。

参考文献

- [1] Roland Schauer. Sialic acids: fascinating sugars in higher animals and man [J]. Zoology, 2004, 107: 49-64
- [2] Huan Nie, Yu Li, Xue-Long Sun. Recent advances in sialic acid-focused glycomics [J]. Journal of Proteomics, 2012, 75: 3098-3112
- [3] Ajit Varki. Sialic acids in human health and disease [J]. Cell, 2008, 14(8): 351-360
- [4] Bing Wang, Janette Brand-Miller. The role and potential of sialic acid in human nutrition [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2003, 57: 1351-1369
- [5] Bing Wang, Janette Brand-Miller, Patricia Mcveagh, et al. Concentration and distribution of sialic acid in human milk and infant formulas [J]. The American Journal of Clinical

- Nutrition, 2001, 74: 510-515
- [6] Morgan BLG, Winick M. Effects of administration of N-acetylneuraminic acid (NANA) on brain NANA content and behaviour. *Journal of Nutrition*, 1980, 110: 416-424
- [7] Ramón Lacomba, Jaime Salcedo, Amparo Alegría, et al. Sialic acid (N-acetyl and N-glycolylneuraminic acid) and ganglioside in whey protein concentrates and infant formulae [J]. *International Dairy Journal*, 2011, 21: 887-895
- [8] M Cmahon, et al. Compositions and methods of formulation for enteral formulas containing sialic acid: United States, US 2005/0096295 A1. May 5, 2005
- [9] 陈辉, 霍贵成. 干法生产婴儿配方乳粉[J]. *中国乳品工业*, 2002, 30(5): 103-105
CHEN Hui, HUO Gui cheng. Production of Infant Formula with the Method of Drying Mixing [J]. *China Dairy Industry*, 2002, 30(5): 103-105
- [10] Véronique Spichtig, Julien Michaud, Sean Austin. Determination of sialic acids in milks and milk-based products [J]. *Analytical Biochemistry*, 2010, 405: 28-40
- [11] 张明江, 孙敏杰, 王麟艳, 等. 婴幼儿配方奶粉中溶菌酶添加工艺的研究[J]. *现代食品科技*, 2009, 25: 405-407
ZHANG Ming-jiang, SUN Min-jie, WANG Lin-yan, et al. Development of a New Lysozyme Adding Technology in Infant Formula [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2009, 25: 405-407
- [12] 蔡晶, 许新德. 婴幼儿配方奶粉中叶黄素的添加[J]. *中国乳品工业*, 2009, 31: 40-41
CAI Jing, XU Xin-de. Addition of Lutein to Infant Formula Milk Powder [J]. *China Dairy Industry*, 2009, 31: 40-41
- [13] Jaime Salcedo, Ramón Lacomba, Amparo Alegría, et al. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determining sialic acid in infant formulas [J]. *Food Chemistry*, 2011, 127: 1905-1910
- [14] 陈海娇, 王萍, 陈越, 等. 高效液相色谱法测定母乳中唾液酸含量[J]. *食品科学*, 2011, 32(16): 308-311
CHEN Hai-jiao, WANG Ping, CHEN Yue, et al. Determination of Total Sialic Acid Content in Human Milk by HPLC-FLD [J]. *Food Science*, 2011, 32(16): 308-311
- [15] GB 19644-2010, 乳粉[S]
GB 19644-2010, Milk Powder [S]