

乳制品中A1/A2 β -酪蛋白的理化特性、检测技术及胃肠道功能的研究进展

孙一林¹, 杨鑫焱¹, 满朝新¹, 张宇^{1*}, 姜毓君^{1,2*}

(1. 东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030)(2. 漯河中原食品实验室, 河南漯河 462300)

摘要: 乳中含有丰富的蛋白质, 其中大约 80% 是酪蛋白, 以酪蛋白胶束的形式在乳中稳定存在。根据 β -酪蛋白分子结构相应位置氨基酸的差异, β -酪蛋白具有多种亚型结构, 最常见的是 A1 和 A2 β -酪蛋白。近年来, 关于 β -酪蛋白的遗传变异体在乳制品理化特性和功能健康领域的影响成为人们关注的热点。单核苷酸基因突变影响了 β -酪蛋白的等电点和性质, 进而影响不同乳制品加工过程中的结构和理化特性。 β -酪蛋白是生物活性肽的主要来源, 水解后可以产生大量氨基酸以及活性肽段, 其构象的变化会影响消化酶酶切的模式, 使得水解产生的肽的种类和含量不同。A1 β -酪蛋白经消化酶水解产生 β -酪啡肽-7, 使得与 A2 β -酪蛋白相比更容易对人体的胃肠道消化吸收产生不利的影响。该文综述了 A1 和 A2 β -酪蛋白在乳制品加工过程中的胶束结构和稳定性、凝胶凝固性和界面特性的影响; 阐明了 A1 和 A2 β -酪蛋白经消化后对于人体胃肠道方面的影响, 并对该领域仍然存在的机遇和挑战作了系统的展望, 旨在为未来乳制品市场的发展提供理论指导。

关键词: A2 β -酪蛋白; 乳制品; 结构特性; 检测技术; 胃肠道健康

文章编号: 1673-9078(2024)12-426-434

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.12.1350

Research Progress on the Physicochemical Properties, Detection Techniques, and Gastrointestinal Function of A1 and A2 β -Casein in Dairy Products

SUN Yilin¹, YANG Xinyan¹, MAN Chaoxin¹, ZHANG Yu^{1*}, JIANG Yujun^{1,2*}

(1. Collge of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

(2. Luohe Zhongyuan Food Laboratory, Luohe 462300)

Abstract: Milk is rich in protein, with approximately 80% of it being casein, which is present in liquid milk in the form of casein micelles. Based on the differences in the amino acids at corresponding positions in the β -casein molecular structure, β -casein has a variety of subtype structures, with A1 and A2 β -casein being the predominant forms. In recent years, there has been a growing interest in the influence of β -casein genetic variants on the physicochemical properties and functional

引文格式:

孙一林, 杨鑫焱, 满朝新, 等. 乳制品中A1/A2 β -酪蛋白的理化特性、检测技术及胃肠道功能的研究进展[J]. 现代食品科技, 2024, 40(12): 426-434.

SUN Yilin, YANG Xinyan, MAN Chaoxin, et al. Research progress on the physicochemical properties, detection techniques, and gastrointestinal function of A1 and A2 β -casein in dairy products [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(12): 426-434.

收稿日期: 2023-11-11

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项(2021ZX12B01-03)

作者简介: 孙一林(1996-), 男, 博士, 研究方向: 乳制品与益生菌等功能成分研究, E-mail: syl115630519@163.com

通讯作者: 张宇(1992-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 乳加工、益生菌等功能成分研究, E-mail: 1019319500@qq.com; 共同通讯作者:

姜毓君(1971-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 乳制品及特殊医学用途配方食品研究, E-mail: yujun_jiang@163.com

health benefits of dairy products. Single nucleotide gene mutation affects the isoelectric point and properties of β -casein, thereby influencing the structure and physicochemical properties of various dairy products during processing. β -casein is the main source of bioactive peptides, generating numerous amino acids and active peptides through the process of hydrolysis. Variations in the structure of β -casein affect the pattern of digestion enzymatic cleavage, leading to the generation of different types and amounts of peptides through hydrolysis. A1 β -casein, when subjected to enzymatic hydrolysis, results in the formation β -casomorphin-7, which is more likely to adversely affect gastrointestinal digestion and absorption compared to A2 β -casein. This paper provides a comprehensive review of the effects of micellar structure and stability, gel coagulability, and interface properties of A1/A2 β -casein on the processing of dairy products. The effects of A1 and A2 β -casein on the gastrointestinal tract after digestion have been described. Furthermore, a comprehensive analysis was conducted to systematically assess the opportunities and challenges still existing in this field, aiming at providing theoretical guidance for future development of the dairy products market.

Key words: A2 β -casein; dairy products; structural properties; detection techniques; gastrointestinal health

牛乳是人类饮食中提供营养素的重要来源，其主要成分（如蛋白质、脂质、乳糖和矿物质）以适当的比例和形式存在^[1]。牛奶中含有丰富的优质蛋白，其成分复杂，与牛奶理化、功能和营养特性相关。牛奶蛋白中约 80% 是酪蛋白，分为四种不同的类型： α_{s1} -、 α_{s2} -、 β - 和 κ - 酪蛋白^[2]。 β -酪蛋白（ β -casein, β -CN）具有高度遗传变异性，目前已经确定了十二种不同的 β -CN 遗传变异类型（A1、A2、A3、B、C、D、E、F、G、H1、I、J），但最常见的是 A1 和 A2 β -CN 遗传变异体^[3]。近年来，携带“ A2 ”标签的乳制品（液态乳、发酵乳、奶酪和配方奶粉）频繁出现在大众视野，引起了科学界和工业界的广泛关注，迫切需要深入了解 β -CN 基因突变体对乳制品的结构和功能特性的影响。如图 1 所示，全球 A2 乳制品领域已逐渐形成了农场—实验室—市场的发展链条，从农场实现 A2 基因型奶牛的追溯和选育工作，来提供可靠的 A2 奶源，再到实验室进一步的筛选鉴定，不断推动 A2 乳制品市场的发展。

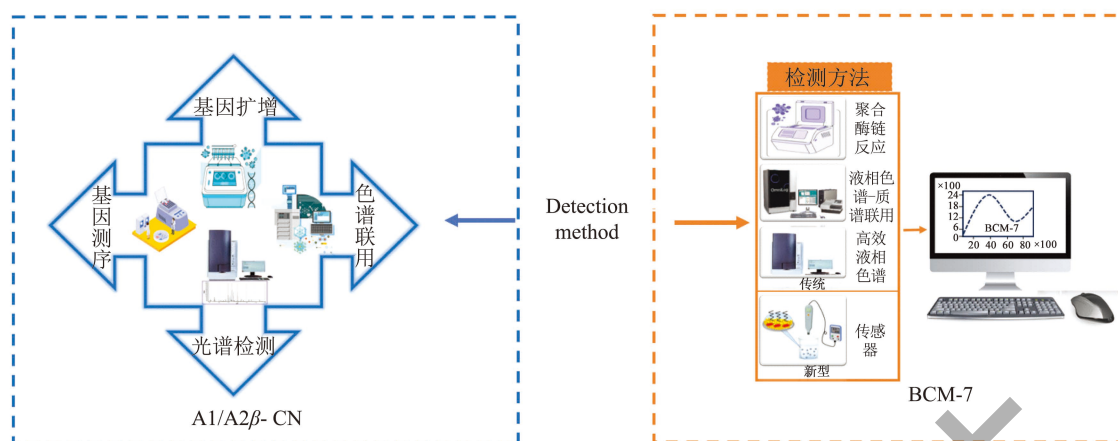


图 1 A2 乳制品领域发展链条

Fig.1 A2 dairy development chain

β -CN 含有 209 个氨基酸，是一种固有无序的蛋白质，在牛奶中与磷酸钙形成复合聚集体以酪蛋白胶束的形式存在^[4]。酪蛋白胶束结构对液态乳的加工生产中的稳定性具有重要意义。 β -CN 具有磷酸化丝氨酸残基（SerP）和脯氨酸，使得其具有较强的疏水性和螯合钙的能力，有利于胶束结构的形成^[5,6]。 β -CN 不同基因突变体的胶束尺寸和疏水特性不同，从而对酪蛋白胶束结构的稳定性有差异。A1 和 A2 β -CN 在特定位置上单个氨基酸的突变改变了蛋白质的等电点和电荷，最终影响乳制品的理化特性，如凝胶性、酸凝固性和界面特性。这些性质在不同乳制品加工中起着重要的作用，包括酸奶、奶酪、冰淇淋等。 β -CN 是生物活性肽的主要来源，在其多样化的突变类型中，A1 β -CN 在 67 号位组氨酸的存在影响了消化酶的酶切方式，进而释放较多的 β -酪啡肽-7（ β -casomorphin-7, BCM-7）^[7,8]。BCM-7 能够结合位于人类中枢神经系统和胃肠道中的 μ -阿片受体，对胃肠道消化有消极的影响，但现有研究仍然存在一定的局限性，对于 BCM-7 在人体中的消化代谢模式尚不清晰，缺乏科学的实验验证其与代谢疾病的关联性，需要进一步的探讨 BCM-7 影响人类健康的作用机制。

本文对 A1/A2 β -CN 在胶束结构和乳制品理化特性上的影响进行了总结分析，阐述了 BCM-7 对胃肠道消化的影响。同时，我们在最后提出了在 β -CN 基因突变体这一发展领域的仍然存在的挑战和发展方向，旨在为开发具有不同功能特性的乳制品提供了科学的理论支持。

图2 β -酪蛋白基因型与 BCM-7 检测方法Fig.2 β -casein genotype and BCM-7 detection method

1 β -酪蛋白基因突变体的类型

1.1 β -CN基因类型

β -CN 约占牛奶中蛋白质的 25%~30%，由 209 个氨基酸组成，分子量在 25.38 ku 左右^[2]。根据其分子结构相应位置氨基酸的差异， β -CN 具有多种亚型结构，但最常见的是 A1 β -CN 和 A2 β -CN 两种遗传变异体^[9]。最初，所有牛都是 A2 β -CN 遗传变异类型（最古老的变异），然而，由于几千年前欧洲奶牛群中的单个氨基酸突变，蛋白质第 67 位氨基酸上的胞嘧啶突变成鸟嘌呤后出现 A1 型，使得目前 A1 β -CN 遗传变异体盛行。在 β -CN 其他等位基因中 B 等位基因发生频率较高，为 0.01~0.10，而其他变异基因的发生频率更低，只在个别品种的牛群中发现^[10]。

1.2 β -CN基因型检测鉴定方法

仅含有 A2 β -CN 的牛奶因其独特的健康益处而在全球范围内广受欢迎。现有研究表明 A2 β -CN 的乳制品对人体具有潜在的健康有益的影响，特别是 A2 型乳制品被贴上有利于乳糖不耐受人群胃肠消化的标签。因此，牧场和企业对于纯种 A2 等位基因的需求增大，这无疑推动实验室和企业运用新型检测技术筛选增加奶牛种群中 β -CN A2 等位基因，刺激了 β -CN 基因变体的检测方法不断地更新和改良。

近年来，从农场到餐桌，携带“A2 型”标签的乳制品频繁出现在大众的视野中，引起了科学家和农民的极大关注。中国、澳大利亚、新西兰等国家对于 A2 型牛奶消费量呈快速增长趋势。2022 年，

中国的圣牧启动了 A2 型牛奶项目，致力于打造纯种的功能性 A2 原奶品牌。消费者也更加关注于更高品质的产品，如图 2 所示，这推动了乳制品中 A1/A2 两种 β -CN 表现型的检测方法的发展。

BCM-7 对人类健康的负面影响导致企业和消费者对含有纯种 A2 β -CN 乳制品的需求不断增长，有力地推动了 β -CN 基因分型技术的发展，以生产多样化的 A2 型乳制品。传统的检测方法可以通过蛋白质电荷数的不同来实现分离的目的，原理是通过不同基因型蛋白质的迁移速率不同来实现 β -CN 基因型的筛选。Duarte-Vazquez 等^[11]和 Ghafoori 等^[12]分别通过聚丙烯酰胺凝胶电泳和毛细管电泳分离出 A1 β -CN 和 A2 β -CN。后来，DNA 测序^[13]和聚合酶链反应结合多种技术促进了蛋白质分离和检测技术的发展，如双限制性内切位点人工合成^[14]、等位基因特异性^[15]、限制性内切片长度多态性^[16]、等电聚焦^[17]、核酸锁定修饰^[18,19]、高分辨率熔融^[20]等。现在，基于实验室仪器的检测技术，如色谱法、质谱法^[21-23]和光谱法^[24-26]，广泛应用于不同基因型的 β -CN 检测。

2 β -CN基因突变对乳制品性质的影响

2.1 酪蛋白胶束结构

酪蛋白不是单独存在于牛乳中，与乳清蛋白坚实的球体结构相反，酪蛋白因大量脯氨酸的存在，呈现无规则的线性、松散的结构，可以与钙结合并组装成独特的球形胶束结构，称为酪蛋白胶束^[14]。酪蛋白胶束由蛋白质（ $\approx 94\%$ ）、胶体磷酸钙（CCP）（ $\approx 6\%$ ）以及少量镁和柠檬酸盐组成^[27]。在 β -CN

的遗传变异体中发现 A2 β -CN 具有更多的聚脯氨酸 II (PPII) 构象和较少的 α -螺旋结构,这是由于额外的脯氨酸在 β -CN 胶束中活跃并产生疏水环境导致的^[28]。A2 β -CN 中额外的脯氨酸将促进 PPII 螺旋的形成,增强 β -CN 与其他酪蛋白的相互作用,导致酪蛋白胶束内结构更紧密^[29,30]。此外,脯氨酸由于缺少氢键,破坏 α -螺旋结构,导致 A2 β -CN 疏水空腔暴露,引起界面性质改变,使得疏水性增加^[31,32]。 β -CN 含有 5 个磷酸丝氨酸残基,其高度磷酸化使得该蛋白具有很强的两亲性^[33]。极性部分可以与 CCP 静电作用形成纳米团簇,而非极性部分可以通过与其他酪蛋白形成疏水键来增强胶束稳定性,这使得相较于 A1 β -CN, A2 β -CN 在一定程度上更有利于液态乳的稳定性。 β -CN 对液态奶的稳定性还体现在分子伴侣特性上,有研究表明与含有 A2 β -CN 的牛奶相比,加热含有 A1 β -CN 的牛奶中可溶性 β -酪蛋白和未变性乳清蛋白的量更低,这说明 A2 β -CN 对热诱导乳清蛋白聚集具有较强的伴侣活性,有利于液态奶的稳定性。

2.2 凝胶和凝固特性

牛奶可以通过酸或凝乳酶诱导凝胶化,是酸奶和奶酪加工中最关键的过程。牛奶的凝胶强度、凝乳结构和持水能力决定了发酵乳制品的品质和感官,牛乳 β -CN 的遗传变异体对乳制品的凝胶特性有很大的影响^[34]。酸诱导凝胶的过程中, Daniloski 等^[35]研究发现 A1 牛奶凝胶表现出更高的凝胶强度,其储能模量 G' 和表观粘度 η 均高于 A2 牛奶凝胶。Nguyen 等^[36]的研究中也发现, A2 酸奶凝胶的微观结构表现出多孔的结构和更细的蛋白质链,表明该凝胶容易在外力作用下破裂变形。在凝乳酶凝固作用下也发现 A2 β -CN 与较差的乳制品凝固性有关^[37]。这可能与 A1 和 A2 β -CN 在牛奶凝固过程中的胶束结构、二级结构、钙含量和相互作用的差异有关。

凝乳酶诱导的牛奶凝固是两个阶段过程,首先是 κ -CN 的酶水解,然后是 CN 胶束的聚集和凝胶形成^[38]。有研究发现 CN 胶束尺寸与 κ -CN 的含量成反比^[39]。Daniloski 等^[22]在 A2 牛奶中发现总 κ -CN 的水平较低,凝固性较差;可能的原因在于 A2 β -CN 具有额外的脯氨酸,有形成 PPII 结构的倾向,导致开放和延伸的超分子结构,从而获得更大的酪蛋白胶束尺寸;同时, PPII 结构支持低亲和力结合,这通常是蛋白质固有无序区域的特征,也是其凝胶凝

固特性差的原因。有研究发现在 A2 凝胶中含有更多的 β -CN 胶束, A2 β -CN 是在其凝胶中形成无规卷曲的驱动因素^[35]。同时 A2 β -CN 由于含有更多的脯氨酸残基破坏了 α -螺旋结构,使得 α -螺旋含量较少;二级结构的减少,蛋白质开始表现为无规卷曲,并且它们的凝胶形成也受到阻碍;在 A1 凝胶中未观察到无规卷曲结构,表明蛋白质二级结构的展开较少,因此表现出最佳的凝胶强度^[40]。

钙元素参与酪蛋白胶束的形成,在牛奶凝固中也起着重要作用^[41]。 β -CN 的不同遗传变异体可能导致牛奶中钙分布和平衡的差异,对酪蛋白自组装形成胶束结构有很大的影响;有研究发现凝固的牛奶样品比非凝固样品含有更高水平的总钙和胶束钙^[42];离子钙对牛奶和乳制品的凝固、热稳定性和流变特性也有重大影响;酸化凝胶后发现,总钙含量 A1 和 A2 牛奶没有明显差异,但 A2 牛奶中可溶性的钙(离子钙)含量显著增加,表明 A2 牛奶中 β -CN 胶束结合钙的比例低导致凝胶强度较弱^[36]。Gustavsson 等^[43]发现较小的酪蛋白胶束尺寸也与牛奶中总钙和离子钙水平较高有关;酪蛋白胶束结构的更大重排是由更高水平的胶束钙引发的,这也是说明了 A1 凝胶具有高 G' 值和弹性的原因^[44]。

热处理是发酵乳和奶酪等乳制品的生产工艺中必不可少的一步。Morand 等^[45]研究发现热诱导的乳清蛋白聚集提高了酸诱导脱脂牛奶凝胶的硬度。原因在于热处理导致牛奶中乳清蛋白反应性巯醇基团的暴露,并通过分子间疏水相互作用和分子间二硫键的形成而聚集。含有巯醇的 κ -CN 也可以与热变性的乳清蛋白共聚集,诱导大部分乳清蛋白聚集体附着在酪蛋白胶束表面来提高凝胶硬度^[46]。与 A1 β -CN 相比, A2 β -CN 表现出更强的分子伴侣特性,这可能是含有 A2 β -CN 的牛奶凝胶硬度较差的原因。

综上所述,与 A1 牛奶相比, A2 牛奶具有较差的凝胶和凝固特性,给发酵乳制品(如酸奶和奶酪)的生产带来不利的影响。然而因其凝胶强度小,带来更柔软的口感,似乎不会影响消费者的感官接受度^[47]。未来仍然需要结合更多市场调研,将实验室研究与实际生产需求相结合,推动乳制品多元化的发展。

2.3 起泡和界面特性

β -CN 是一种固有的无序两亲性蛋白,亲水性 N 端和疏水性 C 端使得 β -CN 能够充当表面活性分

子^[48]。 β -CN 的 N 末端的磷酸化丝氨酸残基能够在油滴周围的吸附层中赋予空间位阻稳定性，从而降低乳液中的界面张力，对于乳液的形成和稳定较为重要^[49]。有研究在比较乳液和泡沫形成的稳定性时发现，A2/A2 牛奶比 A1/A1 牛奶能更好的形成泡沫，但两种牛奶类型形成的泡沫稳定性差异不大^[36]。此外，A2 β -CN 具有更优越的乳液性能的原因在于其 C 端尾部和表面之间的疏水相互作用驱动，以及固有无序的结构；其蛋白质的溶解度提高，向界面层的迁移和吸附更快；同时 A2 β -CN 存在额外的脯氨酸，可以增加 PPII 螺旋构象的形成^[50]。A1 β -CN 在界面上分布更为广泛，并促进了相关界面层的快速建立和形成。使得 A1 β -CN 比 A2 β -CN 具有更佳的发泡性能（更丰盈的泡沫，稳定性更高），这是根据表面压力和界面流变学测量结果中发现的。

3 A2 β -CN与胃肠道健康

3.1 BCM-7的概述

A1 和 A2 β -CN 在第 67 位处脯氨酸或组氨酸的差异对 BCM-7 的释放产生重大影响。A1 β -CN 由于位于第 67 位的组氨酸的存在，允许不同胃肠道酶在该位置切割释放 BCM-7^[7]。A2 β -CN 在该位置具有脯氨酸，阻碍消化水解酶裂解，生成较少的 BCM-7^[51]。如图 3 所示，与 A2 β -CN 相比，A1 β -CN 能够被消化酶水解产生大量的 BCM-7。BCM-7 是阿片受体

激动剂，能够作用位于哺乳动物生物体的神经、内分泌和免疫系统以及肠道中带的阿片受体，与各种不良生物学反应如胃肠道消化疾病、I 型糖尿病、心脏病、神经系统疾病，如自闭症和精神分裂症和婴儿猝死综合症^[2]。关于 β -CN 的基因突变体对人类健康的影响始终是一个极具争议的话题，更多的体现在胃肠道消化疾病。

3.2 胃肠道健康

相较于 A2 β -CN，A1 β -CN 水解产生的 BCM-7 更多，有研究表明在 A1 和 A2 犊牛的血浆中检测到完整的 BCM-7，但 A1 犊牛的 BCM-7 含量几乎是 A2 犊牛的 5 倍^[52]。因此可推断相较于 A1 β -CN，A2 β -CN 不易释放 BCM-7。目前 A1 和 A2 β -CN 水解产生的 BCM-7 与胃肠道消化疾病之间的联系引起了广泛的关注，特别是乳糖不耐症。He 等^[53]研究发现，部分人群对乳制品的不耐受可能与消耗 A1 β -CN 有关，而不是乳糖本身；Milan 等^[54]进行了一场人体实验，受试者是自我报告乳糖不耐受的女性，消费仅含有 A2 β -CN 的牛奶改善了含乳糖牛奶的乳糖吸收不良症状。此外，自我报告的没有乳制品不耐受特征的受试者，在摄入牛奶后仍出现消化不良，证明这部分人群对乳制品不耐受可能与乳糖无关^[53]。这两项人体研究仍具有局限性，它们研究中的受试人群是自我报告具有乳糖不耐受症状，其中缺乏科学的诊断证明，可能会影响实验结果的准确性。

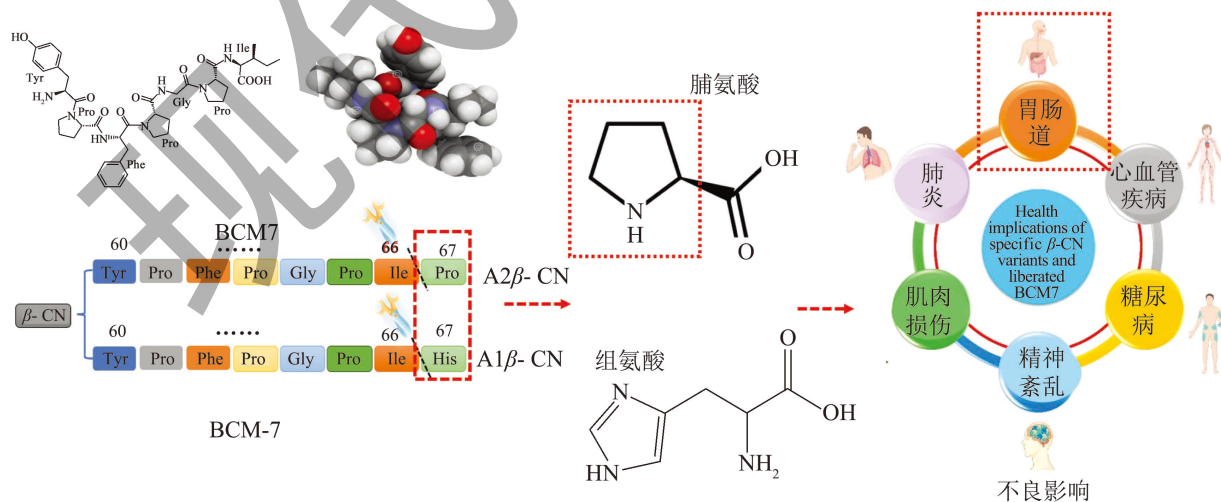


图 3 A1 β -酪蛋白与 A2 β -酪蛋白酶解位点及对人体健康影响

Fig.3 Enzymatic hydrolysis sites of A1 β -casein and A2 β -casein and their effects on human health

其影响肠道健康的可能机制在于调节胃肠道转运时间、肠道炎症和肠道微环境。Barnett 等^[55]在动物试验中通过使用二氧化钛作为标志物验证了 A1 和 A2 β -CN 对胃肠道转运时间的影响, 结果发现 A1 β -CN 通过阿片类药物依赖性(胃肠道转运和髓过氧化物酶活性)和阿片类药物非依赖性通路对胃肠功能有直接影响。Sun 等^[56]在人体实验中通过智能药丸检测了 A1 和 A2 β -CN 在小肠、结肠和全肠道的转运时间, 结果发现服用仅含有 A2 β -CN 牛奶的肠道转运时间更短, 仅服用含有 A1 β -CN 的牛奶与胃肠道炎症增加、运输延迟以及认知处理速度和准确性降低有关。便秘是胃肠道消化和乳糖不耐症的标志性症状, 粪便频率和形式(包括结块、稠度)与结肠转运时间也具有一定的相关性^[57]。Sheng 等^[58]在 5-6 岁的儿童中研究了常规牛奶与仅含有 A2 β -CN 的牛奶对胃肠道症状的影响, 结果发现仅摄入 A2 β -CN 牛奶儿童的大便频率降低, 粪便稠度改善, 食用含有 A1 β -CN 传统牛奶还导致血清炎症和免疫生物标志物增加, 大便频率显著升高, 这不仅仅体现在儿童中, 在成年人中也得到类似的结果。Ho 等^[59]在 41 名健康成年人中比较了饮用含有 A1 和 A2 β -CN 的牛奶对胃肠道效应的差异, 结果发现与 A2 β -CN 牛奶相比, 消费 A1 β -CN 牛奶的成年人粪便稠度值更高。这两项人体实验研究都证明 A2 β -CN 可以改善粪便稠度, 间接地反映了结肠转运时间的缩减。因此, 猜测从 A1 β -CN 释放的 BCM-7 减慢食物通过消化系统的速度(与其他阿片类药物一样), 为乳糖发酵提供了更长的时间, 从而引起腹泻等胃肠道疾病症状。有研究表明 A1 β -CN 能够引起炎症作用, 而炎症反应也是引起胃肠道消化疾病的重要因素。Haq 等^[60]进行了 A1 和 A2 β -CN 影响肠道炎症的动物实验, 结果发现与 A2 β -CN 相比, 消耗 A1 β -CN 能通过激活 Th2 途径诱导肠道炎症反应。A1 β -CN 还可以通过增加血清炎症和免疫生物标志物来引起肠道炎症, 进而出现胃肠道消化不良的症状。Guantario 等^[61]通过小鼠实验发现喂养 A2 β -CN 牛奶, 可以通过增加肠道短链脂肪酸(SCFAs)的水平调节肠道微生物群, 有利于肠道健康。Liu 等^[62]通过动物实验验证了食用 A2 β -CN 牛奶对宿主免疫系统和肠道健康的潜在益处, 结果发现消耗 A2 β -CN 牛奶通过增加肠道菌群的相对丰度来调节肠道菌群的组成和多样性; 然而该研究发现 A2 β -CN 对炎症没有明显的抑制作用, 这似乎与一些研究结果相悖, 可能

是作用到小鼠的时间太短导致的。

综上所述, A2 β -CN 对胃肠道健康表现出积极的影响, 除了上述提到的减少胃肠道转运时间和调节肠道菌群以外, A2 β -CN 较弱的凝胶和凝固特性, 也使得 A2 型乳制品更容易消化吸收。

4 总结与展望

本文介绍了 A1 和 A2 β -CN 对乳制品结构、理化和功能特性的研究现状, 总结了两种 β -CN 基因型的检测方法。同时, 我们也提出了 A2 β -CN 领域面临的挑战和未来的发展方向, 旨在为开发具有不同功能特性的乳制品提供潜在的理论依据。结构和理化功能上, 与 A1 β -CN 相比, A2 β -CN 由于含有额外的脯氨酸, 具有更好的疏水性和分子伴侣特性, 更有利于胶束结构的稳定, 这对液态奶的生产至关重要。然而, A1 β -CN 的凝胶性和凝固性优于 A2 β -CN, 使得 A2 β -CN 形成的凝胶强度较低, 不适合生产酸奶和奶酪。由于 A1 β -CN 在第 67 位氨基酸上组氨酸的存在, 使得消化酶水解会产生 BCM-7; BCM-7 能够与位于胃肠道的 μ -阿片受体结合, 对肠道消化产生负面影响。全面了解 β -CN 的基因突变类型对于指导乳制品加工生产具有重要意义, 但这一前景广阔的领域仍然存在许多挑战。当前针对 A1 和 A2 β -CN 对于胃肠道疾病影响的研究还存在一定的局限性, 缺乏系统、完善的人体实验进行验证; 同时对于 BCM-7 在人体内的消化方式和机制还不明确, 未来还需建立完善的人体消化模型以作进一步的研究。当前, 结合计算机模拟技术预测筛选不同基因型的 β -酪蛋白肽的功能活性, 有目的的获取特定水解肽具有重要前景和意义。随着基因工程技术的推广, 新兴的基于 CRISPR/Cas 系统的现场检测技术在农业食品检测中显示出的巨大的潜力, 也给我们对于 β -CN 不同基因型的筛选和检测提供了思路。传统上的检测技术如基因检测(如基因测序、大型仪器检测等)常用于鉴定具有纯种的 A2 β -CN 基因的奶牛。这类传统检测方式更加适用于实验室操作, 而对于大型牧场来说昂贵且耗时。通过近几年检测技术的发展, 基于小型仪器检测和便携式传感器类检测技术兴起。未来应注重将实验室检测方法与便携式的检测技术(基于纳米孔检测设备和智能手机的检测设备等)相结合, 开发出适用于农场企业化的便携式检测设备, 对实现 A2 等位基因高效率的筛选具有重要意义。

参考文献

- [1] BOGAHAWATHTHA D, ASHRAF R, CHANDRAPALA J, et al. *In vitro* immunogenicity of various native and thermally processed bovine milk proteins and their mixtures [J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(10): 8726-8736.
- [2] 邱月, 鲁杏茹, 沈玉, 等. A2 β -酪蛋白的功能性及其在乳制品中应用的研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2023, 44(11): 42-43.
- [3] 周鹏, 张玉梅, 刘彪, 等. 乳类食物中 β -酪蛋白的结构及营养功能 [J]. *中国食物与营养*, 2020, 26(4): 52-56.
- [4] 徐小爽, 韩翼宇, 李逍遥, 等. A1与A2 β -酪蛋白酸奶产品特性的比较 [J]. *食品科学*, 2022, 43(16): 68-72.
- [5] LI M, WEN X, WANG K, et al. Maillard induced glycation of β -casein for enhanced stability of the self-assembly micelles against acidic and calcium environment [J]. *Food Chemistry*, 2022, 387: 132914.
- [6] MARKOSKA T, DANILOSKI D, VASILJEVIC T, et al. Structural changes of β -casein induced by temperature and pH analysed by nuclear magnetic resonance, fourier-transform infrared spectroscopy, and chemometrics [J]. *Molecules*, 2021, 26(24): 7650.
- [7] KASKOUS S. A1-and A2-milk and their effect on human health [J]. *Journal of Food Engineering and Technology*, 2020, 9(1): 15-21.
- [8] SUMMER A, FRANGIA F D, MARSAN P A, et al. Occurrence, biological properties and potential effects on human health of β -casomorphin 7: current knowledge and concerns [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 60(21): 3705-3723.
- [9] 高彩雯, 罗龙龙, 任卫合, 等. 牛乳中A2 β -酪蛋白功效特点及其检测方法研究进展 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2022, 3: 19-24.
- [10] 赵炬影, 刘振民, 雍靖怡, 等. 牛乳酪蛋白基因多态性研究进展 [J]. *乳业科学与技术*, 2021, 44(1): 44-50.
- [11] DUARTE-VÁZQUEZ M A, GARCÍA-UGALDE C R, ÁLVAREZ B E, et al. Use of urea-polyacrylamide electrophoresis for discrimination of A1 and A2 beta casein variants in raw cow's milk [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 55: 1942-1947.
- [12] GHAFOORI Z, TEHRANI T, PONT L, et al. Separation and characterization of bovine milk proteins by capillary electrophoresis-mass spectrometry [J]. *Journal of Separation Science*, 2022, 45: 3614-3623.
- [13] SEBASTIANI C, ARCANGELI C, TORRICELLI M, et al. Marker-assisted selection of dairy cows for β -casein gene A2 variant [J]. *Italian Journal of Food Science*, 2022, 34(2): 21-27.
- [14] ŞAHİN Ö, BOZTEPE S. Assessment of A1 and A2 variants in the CNS2 gene of some cattle breeds by using ACRS-PCR method [J]. *Animal Biotechnology*, 2022, 34(4): 1505-1513.
- [15] RISTANĆ M, NIKŠIĆ A, NIKETIĆ M, et al. Use of allele specific pcr to investigate the presence of β -casein polymorphism in holstein-friesian cows [J]. *Veterinarski Glasnik*, 2022, 76(1): 17-24.
- [16] VIGOLO V, FRANZOI M, CENDRON F, et al. Characterization of the genetic polymorphism linked to the β -casein A1/A2 alleles using different molecular and biochemical methods [J]. *Journal of Dairy Science*, 2022, 105: 8946-8955.
- [17] BISUTTI V, PEGOLO S, GIANNUZZI D, et al. The β -casein (CSN2) A2 allelic variant alters milk protein profile and slightly worsens coagulation properties in Holstein cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2022, 105: 3794-3809.
- [18] GUO D, DENG X, GU S, et al. Online trypsin digestion coupled with LC-MS/MS for detecting of A1 and A2 types of β -casein proteins in pasteurized milk using biomarker peptides [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 59(8): 2983-2991.
- [19] GIVENS I, AIKMAN P, GIBSON T, et al. Proportions of A1, A2, B and C β -casein protein variants in retail milk in the UK [J]. *Food Chemistry*, 2013, 139: 549-552.
- [20] DE P R, DE D E, GRITTI E, et al. Development of an LC-MS method for the identification of β -casein genetic variants in bovine milk [J]. *Food Analytical Methods*, 2020, 13: 2177-2187.
- [21] VINCENT D, ELKINS A, CONDINA M R, et al. Quantitation and identification of intact major milk proteins for high-throughput LC-ESI-Q-TOF MS analyses [J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0163471.
- [22] DANILOSKI D, MCCARTHY N A, MARKOSKA T, et al. Conformational and physicochemical characteristics of bovine skim milk obtained from cows with different genetic variants of β -casein [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 123: 107186.
- [23] FUERER C, JENNI R, CARDINAUX L, et al. Protein fingerprinting and quantification of β -casein variants by ultra-performance liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry [J]. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103: 1193-1207.
- [24] MAYER H K, LENZ K, HALBAUER E M. "A2 milk" authentication using isoelectric focusing and different PCR techniques [J]. *Food Research International*, 2021, 147: 110523.
- [25] GIGLIOTI R, OKINO C H, AZEVEDO B T, et al. Novel LNA probe-based assay for the A1 and A2 identification of β -casein gene in milk samples [J]. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 2021, 3: 100055.
- [26] GIGLIOTI R, GUTMANIS G, KATIKI L M, et al. New high-sensitive rhAmp method for A1 allele detection in A2 milk samples [J]. *Food Chemistry*, 2020, 313: 126167.
- [27] HAHAM M, ISH-SHALOM S, NODELMAN M, et al.

- Stability and bioavailability of vitamin D nanoencapsulated in casein micelles [J]. *Food & Function*, 2012, 3: 737-744.
- [28] THORN D C, ECROYD H, CARVER J A, et al. Casein structures in the context of unfolded proteins [J]. *International Dairy Journal*, 2015, 46: 2-11.
- [29] MCSWEENEY P L, FOX P F. *Advanced dairy chemistry. Proteins: Basic aspects*, 2013, 1A: 43-85.
- [30] RAYNES J K, DAY L, AUGUSTIN M A, et al. Structural differences between bovine A1 and A2 β -casein alter micelle self-assembly and influence molecular chaperone activity [J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98: 2172-2182.
- [31] WÖRLE E, NEWMAN A, D'SILVA J, et al. Allosteric activation of CRISPR-Cas12a requires the concerted movement of the bridge helix and helix 1 of the RuvC II domain [J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50: 10153-10168.
- [32] DANILOSKI D, MCCARTHY N A, VASILJEVIC T. Impact of heating on the properties of A1/A1, A1/A2, and A2/A2 β -casein milk phenotypes [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 128: 107604.
- [33] MCCARTHY N A, KELLY A L, O'MAHONY J A, et al. The physical characteristics and emulsification properties of partially dephosphorylated bovine β -casein [J]. *Food Chemistry*, 2013, 138: 1304-1311.
- [34] JENSEN H B, HOLLAND J W, POULSEN N A, et al. Milk protein genetic variants and isoforms identified in bovine milk representing extremes in coagulation properties [J]. *Journal of Dairy Science*, 2012, 95: 2891-2903.
- [35] DANILOSKI D, MCCARTHY N A, GAZI I, et al. Rheological and structural properties of acid-induced milk gels as a function of β -casein phenotype [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 131: 107846.
- [36] NGUYEN H T, SCHWENDEL H, HARLAND D, et al. Differences in the yoghurt gel microstructure and physicochemical properties of bovine milk containing A1A1 and A2A2 β -casein phenotypes [J]. *Food Research International*, 2018, 112: 217-224.
- [37] JENSEN H B, POULSEN N A, ANDERSEN K K, et al. Distinct composition of bovine milk from Jersey and Holstein-Friesian cows with good, poor, or noncoagulation properties as reflected in protein genetic variants and isoforms [J]. *Journal of Dairy Science*, 2012, 95: 6905-6917.
- [38] POULSEN N A, BERTELSEN H P, JENSEN H B, et al. The occurrence of noncoagulating milk and the association of bovine milk coagulation properties with genetic variants of the caseins in 3 Scandinavian dairy breeds [J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96: 4830-4842.
- [39] DAY L, WILLIAMS R P W, OTTER D, et al. Casein polymorphism heterogeneity influences casein micelle size in milk of individual cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98: 3633-3644.
- [40] NISHINARI K, ZHANG H, IKEDA S. Hydrocolloid gels of polysaccharides and proteins [J]. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 2000, 5: 195-201.
- [41] VIGOLO V, FRANZOI M, PENASA M, et al. β -Casein variants differently affect bulk milk mineral content, protein composition, and technological traits [J]. *International Dairy Journal*, 2022, 124: 105221.
- [42] POULSEN N A, GLANTZ M, ROSENGAARD A K, et al. Comparison of milk protein composition and rennet coagulation properties in native Swedish dairy cow breeds and high-yielding Swedish Red cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100: 8722-8734.
- [43] GUSTAVSSON F, GLANTZ M, BUITENHUIS A J, et al. Factors influencing chymosin-induced gelation of milk from individual dairy cows: Major effects of casein micelle size and calcium [J]. *International Dairy Journal*, 2014, 39: 201-208.
- [44] OZCAN-YILSAY T, LEE W J, HORNE D, et al. Effect of trisodium citrate on rheological and physical properties and microstructure of yogurt [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90: 1644-1652.
- [45] MORAND M, DEKKARI A, GUYOMARCH F, et al. Increasing the hydrophobicity of the heat-induced whey protein complexes improves the acid gelation of skim milk [J]. *International Dairy Journal*, 2012, 25: 103-111.
- [46] OBEID S, GUYOMARC' H F, TANGUY G, et al. The adhesion of homogenized fat globules to proteins is increased by milk heat treatment and acidic pH: Quantitative insights provided by AFM force spectroscopy [J]. *Food Research International*, 2020, 129: 108847.
- [47] MENDES M O, DE M M F, RODRIGUES J F. A2A2 milk: Brazilian consumers' opinions and effect on sensory characteristics of Petit Suisse and Minas cheeses [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 108: 207-213.
- [48] 梁杰, 耿晓晖, 刘延平, 等. 牛乳 β -酪蛋白多态性及其对人体健康影响的研究进展[J]. *乳业科学与技术*, 2019, 42(2): 45-49.
- [49] DANILOSKI D, MCCARTHY N A, AULDIST M J, et al. Properties of sodium caseinate as affected by the β -casein phenotypes [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2022, 626, 939-950.
- [50] FARRELL J H, WICKHAM E, UNRUH J, et al. Secondary structural studies of bovine caseins: temperature dependence of β -casein structure as analyzed by circular dichroism and FT-IR spectroscopy and correlation with micellization [J]. *Food Hydrocolloids*, 2001, 15 (4-6): 341-354.
- [51] CATTANEO S, MASOTTI F, STUKNYT M, DE NONI I. Impact of *in vitro* static digestion method on the release of β -casomorphin-7 from bovine milk and cheeses with A1 or A2

- β*-casein phenotypes [J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134617.
- [52] HOHMANN L G, YIN T, SCHWEIZER H, GIAMBRA I J, et al. Comparative effects of milk containing A1 versus A2 *β*-casein on health, growth and *β*-casomorphin-7 level in plasma of neonatal dairy calves [J]. Animals, 2021, 11(1): 55.
- [53] HE M, SUN J, JIANG Z Q, et al. Effects of cow's milk beta-casein variants on symptoms of milk intolerance in Chinese adults: a multicentre, randomised controlled study [J]. Nutrition Journal, 2017, 16: 1-12.
- [54] MILAN A M, SHRESTHA A, KARLSTRÖM H J, et al. Comparison of the impact of bovine milk *β*-casein variants on digestive comfort in females self-reporting dairy intolerance: a randomized controlled trial [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2020, 111: 149-160.
- [55] BARNETT M P, MCNABB W C, ROY N C, et al. Dietary A1 *β*-casein affects gastrointestinal transit time, dipeptidyl peptidase-4 activity, and Inflammatory Status relative to A2 *β*-casein in Wistar rats [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2014, 65: 720-727.
- [56] SUN J, XU L, XIA L, et al. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk [J]. Nutrition Journal, 2015, 15: 1-16.
- [57] JARUVONGVANICH V, PATCHARATRAKUL T, GONLACHANVIT S. Prediction of delayed colonic transit using Bristol stool form and stool frequency in eastern constipated patients: a difference from the west [J]. Journal of Neurogastroenterology and Motility, 2017, 23: 561.
- [58] SHENG X, LI Z, NI J, et al. Effects of conventional milk versus milk containing only A2 *β*-casein on digestion in Chinese children: a randomized study [J]. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2019, 69: 375.
- [59] HO S, WOODFORD K, KUKULJAN S, et al. Comparative effects of A1 versus A2 beta-casein on gastrointestinal measures: a blinded randomised cross-over pilot study [J]. European Journal of Nutrition, 2014, 68: 994-1000.
- [60] HAQ M R U, KAPILA R, SHARMA R, et al. Comparative evaluation of cow *β*-casein variants (A1/A2) consumption on Th2-mediated inflammatory response in mouse gut [J]. European Journal of Nutrition, 2014, 53: 1039-1049.
- [61] GUANTARIO B, GIRIBALDI M, DEVIRGILIIS C, et al. A comprehensive evaluation of the impact of bovine milk containing different beta-casein profiles on gut health of ageing mice [J]. Nutrients, 2020, 12: 2147.
- [62] LIU B, QIAO W, ZHANG M, et al. Bovine milk with variant *β*-casein types on immunological mediated intestinal changes and gut health of mice [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 970685.