

# 发酵法去除牛初乳中酪蛋白 提高 IgG 含量的研究

张小平, 顾瑞霞\*

(扬州大学乳品研究所, 江苏扬州 225001)

**摘要:**利用乳酸菌发酵牛初乳从而降低 pH 达到酪蛋白等电点, 通过离心去除酪蛋白, 提高免疫球蛋白 G(IgG)含量。结果表明, 发酵法去除酪蛋白的最适 pH 为 4.65, 离心条件为 1500×g, 30min; 随着 pH 的下降, 酪蛋白被去除, 初乳中的 IgG 含量上升, pH 由 4.70 降低到 4.65 时, IgG 含量有显著性变化( $P<0.01$ )。2~7d 原料初乳中 IgG 含量平均为 20.09mg/g, 经发酵后乳清 IgG 含量提高约 1.5 倍, 平均达到 52.07mg/g。

**关键词:**牛初乳, 发酵, 免疫球蛋白 G

**Abstract:**The article studies a method to remove the casein from bovine colostrums by lactic acid bacteria fermentation to reduce the pH value to isoelectric point of casein and therefore increase the content of immunoglobulin G(IgG). The results indicated that the best pH and centrifugation condition to remove the casein was 4.65 and 1500 ×g for 30min, and with the reduction in pH value, the content of IgG was improved simultaneously, at the pH 4.70~4.65, the content of IgG had notable change ( $P<0.01$ ). In colostrums (2~7 day), the content of IgG was 20.09mg/g, after fermentation the content increased by about one and half times up to 52.07mg/g.

**Key words:**bovine colostrums; ferment; immunoglobulin G

中图分类号: TS252.1 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2005)07-0064-03

牛初乳是指乳牛产犊后 3d 内所分泌的乳汁, 与常乳比较, 牛初乳除了含有丰富的优质蛋白质、维生素和矿物质等营养成分外, 还富含免疫球蛋白。第 1d 初乳中的 IgG 含量在 50~90mg/mL 左右, 而到第 2d 则下降为 5~10 mg/mL 左右。

近二十年, 国际上对免疫球蛋白作为功能因子进行了深入研究。Hilpert 首先于 1977 年提出了将牛初乳清中的免疫球蛋白富集后应用于婴儿奶粉中的设想; 印度研究人员发现口服免疫球蛋白可以防治低体重婴儿的感染发病率; 美国科学家甚至发现成人也可

收稿日期: 2004-11-15 \* 通讯联系人

作者简介: 张小平(1980-), 男, 硕士研究生, 主要从事乳品工艺方面的研究。

基金项目: 江苏省农业三项工程 SX(2003)043。

通过服用免疫球蛋白来防止因致病性大肠杆菌等肠道致病菌引起的腹泻等。目前, 免疫球蛋白已经成为保健乳制品的主要添加成分, 市场容量不断扩大。

如何从富含 IgG 的初乳中提取分离这些物质并添加到食品中具有重要的意义。要提高 IgG 含量必先除去初乳中的脂肪、酪蛋白、乳糖等, 其中脂肪和乳糖可分别通过离心和超滤的方法去除。而初乳中酪蛋白约占总蛋白的 50%左右, 常规的除酪蛋白的方法有酸沉淀法及凝乳酶法。而据郭成宇叙述, 最适宜沉淀酪蛋白的是乳酸, 它能形成硬的颗粒。牛乳在发酵时, 由于乳酸菌的作用而使乳糖分解产生乳酸, 使牛乳的 pH 降低, 乳酸将酪蛋白酸钙中的钙分离而形成乳酸钙和酪蛋白沉淀。

本文以酸沉淀法作对照, 对乳酸菌发酵去除初乳中的酪蛋白提高 IgG 含量的条件进行了摸索, 确定去除酪蛋白的最适 pH 和离心条件; 同时, 通过发酵提高初乳中 IgG 含量, 为初乳功能食品的开发进行探索。

## 1 材料与设备

### 1.1 材料与设备

牛初乳 扬州大学实验农牧场; 混合菌株 由德氏乳杆菌保加利亚亚种和嗜热链球菌以 1:2 混合而成, 扬州大学乳品研究所分离保藏; 兔抗牛 IgG 血清 自制, 效价 1:64。

精密 pH 计 (PHS-25), 双稳定式电泳仪 (DYY-8B), 双板夹心式电泳槽 (DYCZ-28D), 高速冷冻离心机 (Eppendorf 5804R), 大容量离心机, 低温冰柜 (BD-IOOLT), 恒温培养箱, 水浴锅。

### 1.2 实验方法

1.2.1 初乳发酵 将脱脂牛初乳进行低温巴氏杀菌, 然后冷却至 42℃左右, 按 3% 接入乳酸菌, 于恒温培养箱 42℃发酵, 设置 pH 为 4.80、4.75、4.70、4.65、4.60、4.55, 到达预定 pH 后, 停止发酵。

1.2.2 初乳酸沉淀 脱脂牛初乳进行低温巴氏杀菌, 冷却至常温, 用 1mol/L 的盐酸溶液调整 pH 为 4.65、4.60、4.55、4.50、4.45、4.40。

1.2.3 酪蛋白去除效果定性分析——聚丙烯酰胺凝胶电泳法(SDS-PAGE) 初乳样品到达预定 pH 后,离心过滤得乳清,通过聚丙烯酰胺凝胶电泳法定性分析酪蛋白去除情况。电泳分离胶质量分数为 7.5%,50mA 恒流电泳。

1.2.4 乳清中 IgG 含量测定 单向免疫扩散法测定乳清中 IgG 含量(指 IgG 占乳清固形物的含量,mg/g,以下相同),进行平行测定。

1.2.5 初乳发酵去除酪蛋白提高 IgG 含量的测定 第 2~7d 的初乳经发酵后,以上述去除酪蛋白的最适 pH 和离心条件进行处理,测定乳清中 IgG 含量,进行平行测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 pH 对酪蛋白去除效果的影响

2.1.1 去除酪蛋白的最适 pH 确定 初乳发酵到达预定 pH 后,以离心力 5000×g,离心 30min,过滤得乳清,以酸沉淀法做对照,进行 SDS-PAGE,结果见图 1、图 2。

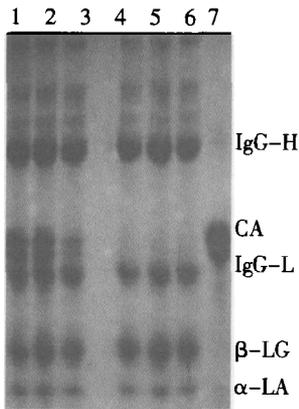


图 1 初乳发酵后不同 pH 乳清 SDS-PAGE

注:图 1 中 1-6 表示 pH4.80、4.75、4.70、4.65、4.60、4.55,7 为酪蛋白

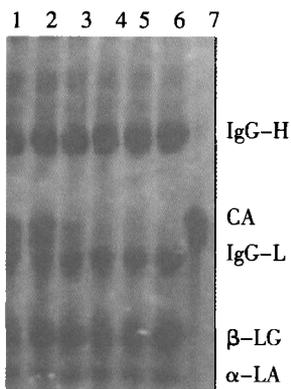


图 2 初乳酸沉淀后不同 pH 乳清 SDS-PAGE

注:图 2 中 1-6 表示 pH4.65、4.60、4.55、4.50、4.45、4.40,7 为酪蛋白

由图 1 及图 2 的 SDS-PAGE 电泳图可以看出,发酵法在 pH4.65 时,电泳图中酪蛋白条带消失,pH 低于 4.65 后一直未再出现,说明酪蛋白已被去除,而酸沉淀法同样去除酪蛋白的 pH 为 4.50。

2.1.2 不同 pH IgG 含量的变化情况 单向免疫扩散法测定初乳在不同 pH 条件下 IgG 含量的变化情况,结果如图 3 所示。

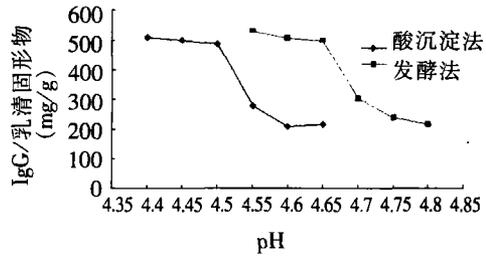


图 3 初乳发酵不同 pH 乳清中 IgG 含量

由图 3 可以看出,随着 pH 的降低,酪蛋白被去除,乳清液中的 IgG 含量上升,发酵法 pH 由 4.70 降低到 4.65 时,IgG 含量由 302.15mg/g 上升到 497.39 mg/g;酸沉淀法 pH 由 4.55 降低到 4.50 时,IgG 含量由 276.11mg/g 上升到 488.22mg/g,都具有显著性差异( $P < 0.01$ );pH 再降低,则 IgG 含量没有显著性变化( $P > 0.05$ )。

### 2.2 离心条件对酪蛋白去除效果的影响

2.2.1 去除酪蛋白的离心条件确定 初乳发酵后经不同离心力 500×g、1000×g、1500×g、2000×g、3000×g、5000×g 离心 30min,过滤得上清液,进行 SDS-PAGE,结果如图 4、图 5 所示。

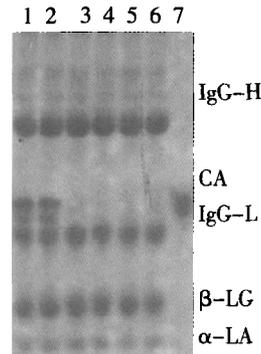


图 4 初乳发酵后不同离心力乳清 SDS-PAGE

注:图中 1-6 表示离心力 500×g、1000×g、1500×g、2000×g、3000×g、5000×g,7 为酪蛋白

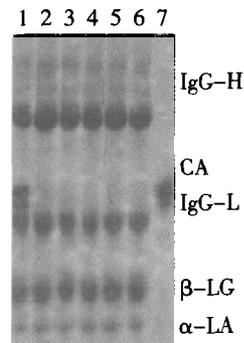


图 5 初乳酸沉淀后不同离心力乳清 SDS-PAGE

注:图中 1-6 表示离心力 500×g、1000×g、1500×g、2000×g、3000×g、5000×g,7 为酪蛋白

表1 第2~7d初乳发酵后IgG含量的变化 n=3(mg/g)

	第2d	第3d	第4d	第5d	第6d	第7d	平均值
原料初乳	55.58±5.31	23.97±2.86	16.35±2.53	14.8±1.22	6.11±0.97	3.73±0.88	20.09
发酵初乳	149.75±14.65	58.13±9.03	44.69±9.60	41.17±7.95	10.99±3.12	7.7±2.15	52.07
提高比例(%)	169.43	142.51	173.33	178.18	79.87	106.43	159.18

图4和图5的SDS-PAGE电泳图表明,发酵法在离心力1500×g,酸沉淀法为1000×g,离心30min后,电泳图中酪蛋白条带消失,离心力增大一直未再出现,说明酪蛋白已被去除。

2.2.2 不同离心力去除酪蛋白IgG含量变化 初乳发酵后经不同离心力离心30min,上清液中IgG含量变化情况如图6所示。

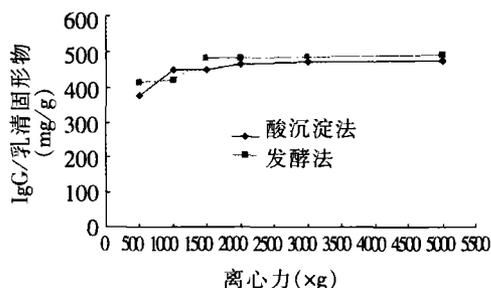


图6 初乳发酵不同离心力乳清中IgG含量

图6表明,发酵法在离心力由1000×g升高到1500×g时,IgG含量由400.38mg/g上升到480.51mg/g;酸沉淀法在离心力由500×g升高到1000×g时,IgG含量由376.06mg/g上升到450.28mg/g,均有显著性差异(P<0.01),离心力再增加则IgG含量没有显著性变化(P>0.05)。

### 2.3 初乳发酵去除酪蛋白IgG含量的变化

由于第1d初乳中IgG含量较高,且其中较多的活性因子、酶类等能抑制乳酸菌的生长,故我们通过乳酸菌发酵仅用来提高第2~7d初乳中的IgG含量,其实验结果见表1和图7。

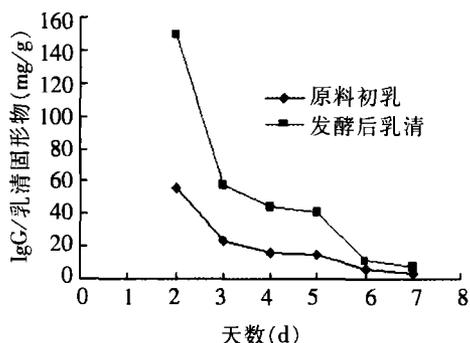


图7 2~7d初乳发酵后乳清IgG含量

结果表明,2~7d原料初乳中IgG含量平均为20.09mg/g,发酵后酪蛋白被去除,乳清中IgG含量提高1.5倍左右,平均达到52.07mg/g;特别是第2~5d,酪蛋白被去除后,IgG含量平均达到73.44mg/g,比原料初乳(27.68mg/g)提高45.76mg/g。

### 3 结论

本实验利用乳酸菌发酵的方法降低初乳pH去除酪蛋白提高IgG含量,并与酸沉淀法进行比较,得出结论如下:

3.1 发酵法去除初乳中酪蛋白的最适pH为4.65,离心条件为1500×g,30min,与酸沉淀法比较,pH提高0.15,而离心力高出500×g。

3.2 初乳发酵后随着pH的降低,酪蛋白被去除,IgG含量上升;在pH为4.65时IgG含量达到497.39mg/g,与酸沉淀法(488.22mg/g)相当。说明采用发酵的方法去除酪蛋白是可行的,且对IgG含量未有较大的影响。同时,pH由4.70降低到4.65时,乳清IgG含量变化有显著性差异(P<0.01)。

3.3 通过发酵方法将2~7d初乳中的酪蛋白去除后,IgG含量可以提高1.5倍左右,平均达到52.07mg/g。特别是第2~5d,酪蛋白被去除后,乳清中IgG含量平均达73.44mg/g,比原料初乳(27.68mg/g)提高45.76mg/g。这样就可以充分利用第2~5d的初乳资源,获得高含量的IgG,对于生产上节约成本,提高原料利用率具有一定的实用价值。

### 参考文献:

- [1] 顾瑞霞,等. 乳与乳制品的生理功能特性[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000.
- [2] Michelle A McConnell, et al. A comparison of IgG and IgG1 activity in an early milk concentrate from non-immunised cows and a milk from hyperimmunised animals[J]. Food Research International,2001,34:255~261.
- [3] 张和平,郭军,李立民,等.牛初乳中免疫球蛋白的测定[J].中国乳品工业,2001,29(2):22~24.
- [4] 王钦富. 免疫学及免疫学检验实验技术[M]. 北京:中国医药科技出版社,1995.19~20.
- [5] 郭本恒,骆承庠.牛初乳免疫球蛋白变性动力学研究[J].食品科学,1996,17(7):10~13.
- [6] 马玉平,等.牛初乳中免疫球蛋白IgG的检测[J].黑龙江畜牧兽医,2002(4):25~26.
- [7] 傅维琦,等.牛初乳中主要生物活性物质开发的最新进展[J].食品与发酵工业,2003,29(4):76~79.
- [8] F O Uruakpa, et al. Colostrum and its benefits: a review [J]. Nutrition Research, 2002,22:755~767.
- [9] 郭成宇. 现代乳品工程技术[M].北京:化学工业出版社,2004.25.
- [10] 曹劲松,王晓琴. 牛初乳功能食品的开发现状和前景[J].食品科学,1995(5):14~17.