

牦牛乳氨基酸和脂肪酸的含量研究

郭宪, 裴杰, 褚敏, 包鹏甲, 赵生军, 阎萍

(中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 甘肃省牦牛繁育工程重点实验室, 甘肃兰州 730050)

摘要 [目的] 提高牦牛乳的开发利用价值以及牦牛乳产品的附加值。[方法] 对青海高原牦牛乳氨基酸、脂肪酸组分及其含量进行了测定。[结果] 在牦牛乳中共检测到 16 种氨基酸, 其谷氨酸、异亮氨酸、酪氨酸和精氨酸含量相对较高, 赖氨酸、甘氨酸、蛋氨酸和丙氨酸含量相对较低。牦牛初乳中总氨基酸含量(5.485%)显著高于常乳。在牦牛初乳和常乳中均检测到 28 种脂肪酸, 其中饱和脂肪酸 19 种, 不饱和脂肪酸 9 种。常乳中的油酸和硬脂酸含量显著高于初乳。[结论] 该研究可为牦牛乳的开发利用提供基础数据与科学依据。

关键词 牦牛乳; 氨基酸; 脂肪酸

中图分类号 S879.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)17-165-03

Content Determination of Amino Acids and Fatty Acids in Yak Milk

GUO Xian, PEI Jie, CHU Min et al (Key Laboratory of Yak Breeding Engineering of Gansu Province, Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730050)

Abstract [Objective] The research aimed to improve the development and utilization values of yak milk and the added value of yak milk products. [Method] The components and their contents of amino acids and fatty acids in the milk of yak in Qinghai-Tibet Plateau were determined. [Result] 16 kinds of amino acids were detected in yak milk. The content of glutamic acid, Ile, Tyr and Arg were relatively higher, and that of lysine, glycine, methionine and aminopropionic acid were relatively lower. The content of total amino acids in colostrum of yak was 5.485%, which was significantly higher than that of normal milk. 28 kinds of fatty acids were detected in colostrum and normal milk of yak, including 19 kinds of saturated fatty acids and 9 kinds of unsaturated fatty acids. The contents of oleic acid and stearic acid in normal milk were significantly higher than that of colostrum. [Conclusion] The research could provide basic data for the development and utilization of yak milk.

Key words Yak milk; Amino acids; Fatty acids

牦牛(*Bos grunniens*)是以青藏高原为源地的特产家畜和宝贵的畜牧资源,也是世界屋脊著名的景观牛种。牦牛因其对高海拔地带严寒、缺氧、缺草等恶劣自然条件的良好适应能力而成为高寒牧区最基本的生产生活资料,可提供肉、乳、毛、绒、皮革、役力和燃料等,在高寒牧区具有不可替代的生态、社会、经济地位^[1]。牦牛生活在海拔 3 000 m 以上的、无工业污染的高寒牧区,是一个较少或基本不进行补饲、全放牧、完全依靠天然草原摄取食物维持营养需要的放牧畜种,其乳汁是真正的无污染的绿色食品,是一种具有巨大的开发利用价值的原料乳。牦牛乳浓稠纯香,营养丰富,具有高蛋白质(青海高原牦牛初乳、常乳分别为 5.43% 和 4.84%)、高乳脂率(青海高原牦牛初乳、常乳分别为 5.70% 和 4.57%)和矿物质丰富的显著特点^[2]。但是,由于地域条件 and 生产水平等因素的制约,牦牛乳的开发利用还处于初级阶段。

青海高原牦牛是我国 13 个地方牦牛品种之一。以自然放牧为主,其洁净的环境和天然的牧草造就了纯净、自然、无污染的优良乳。牦牛乳营养价值高,易消化与吸收,为高寒牧区牧民群众生活提供重要的食品来源。在高寒牧区,常见的乳产品主要有鲜乳、酥油、干酪素、干酪、酸奶、奶茶、奶渣和奶皮等^[3]。但是,牦牛泌乳性能低,成年母牦牛体重 220~350 kg,在放牧状态下泌乳期 150 d,总泌乳量 487 kg,平均日

泌乳量 3.2 kg。为了提高牦牛乳开发利用价值,提高牦牛乳产品的附加值,笔者对青海高原牦牛乳氨基酸、脂肪酸组分及其含量进行了测定,旨在为牦牛乳的开发利用提供基础数据与科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物 分布于青藏高原海拔 3 200 m 以上的自然放牧条件下的青海高原牦牛。

1.2 采样方法 泌乳期,在自然放牧群体中随机单独收集牦牛个体牛乳,每头 150 ml 以上。初乳是采集分娩后 3 d 以内的乳(4 月,枯草期),常乳分别采自泌乳期的 6 月(牧草生长期)、9 月(牧草旺盛期)。乳氨基酸测定样品,置于 -20 ℃ 冰箱中冷藏保存。脂肪酸组成及含量分析样品,置于 -80 ℃ 冰箱中冻存备用。

1.3 乳氨基酸含量的测定 将样品从 -20 ℃ 冰箱中取出,自然解冻后置于 40 ℃ 恒温水浴箱中预热均质,使用全自动氨基酸分析仪(Biochrom 30+, 英国 Biochrom 公司)测定牦牛乳中氨基酸含量。

1.4 乳脂肪酸含量的测定 乳中脂肪酸甲酯化参照 Palmquist 等^[4]的方法,适当修改后按照以下步骤进行:①将分析样品从 -80 ℃ 冰箱中取出,置于冷水中解冻、混匀;②取 10 ml 乳样品移入 250 ml 烧瓶中,加入约 100 mg 焦性没食子酸和十一碳酸甘油三脂内标溶液(5.0 mg/ml)2 ml,加入几粒沸石,再加入 2 ml 95% 乙醇和 4 ml 超纯水,混匀。然后加入氨水(25%)5 ml,混匀。将烧瓶放入 70~80 ℃ 水浴中水解 20 min。每隔 5 min 振荡 1 次烧瓶,使黏附在烧瓶上的颗粒物混入溶液中。水解完成后,取出烧瓶冷却至室温,最后加入 10 ml 95% 乙醇,混匀。③脂肪水解完成后,将烧瓶中的水

基金项目 国家自然科学基金项目(31301976);国家科技支撑计划项目子课题(2013BAD16B09);现代农业(肉牛牦牛)产业技术体系建设专项(CARS-38);中国农业科学院创新工程项目(CAAS-ASTIP-2014-LIHPS-01)。

作者简介 郭宪(1978-),男,甘肃环县人,副研究员,博士,从事草食动物繁育与营养研究。

收稿日期 2015-04-23

解液转移到分液漏斗中,用 50 ml 乙醚冲洗烧瓶,用乙醚石油醚混合液(体积比 1:1)冲洗烧瓶塞子,冲洗液并入分液漏斗中并加盖,振荡 5 min,静置 10 min,将醚层提取液收集到 250 ml 烧瓶中,按照以上步骤重复提取水解液 3 次,最后用乙醚、石油醚混合液冲洗分液漏斗,并收集到 250 ml 烧瓶中后,挥发提取溶剂,残留物为脂肪提取物。④脂肪的皂化和脂肪酸的甲酯化:在盛有脂肪提取物的 250 ml 烧瓶中加入 2% 氢氧化钠溶液 8 ml,连接回流冷凝器在 80 ℃ 水浴上回流,直至油滴消失;从回流冷凝器上端加入 15% 三氟化硼甲醇溶液 7 ml,在 80 ℃ 水浴中继续回流 2 min;用去离子水冲洗回流冷凝器。停止加热,从水浴上取下烧瓶,迅速冷却至室温,准确加入 10~30 ml 正庚烷(色谱纯),振荡 2 min,再加入饱和氯化钠水溶液,静置分层,吸取上层正庚烷提取溶液大约 5 ml,转移到 30 ml 小型试管中,加入大约 5 g 无水硫酸钠,振荡 1 min,静置 5 min,吸取上层溶液到进样瓶中,待测。⑤色谱条件:毛细管色谱柱(交联键合固定相,含 50% 氰丙基)(60 m×0.25 mm,0.25 μm)。进样器温度 270 ℃,检测器温度 280 ℃。程序升温:初始温度 130 ℃,持续 1 min;130~170 ℃,升温速率 6.5 ℃/min;170~215 ℃,升温速率 2.75 ℃/min;215 ℃,保持 12 min;215~230 ℃,升温速率 4 ℃/min;230 ℃保持 3 min 检测结束。载气:氮气。分流比 50:1。进样体积 1.0 μl。

色谱测定方法:取 1.0 μl 脂肪酸甲酯标准溶液和各单个

脂肪酸甲酯标准溶液注入气相色谱-质谱联用仪(Agilent 6890N GC-5973 MSD,美国 Agilent 公司),在上述色谱条件下测定标准溶液的响应值(峰高或峰面积)得到每个脂肪酸甲酯的相对保留时间(相对十一碳酸甲酯)和气相色谱图,计算出响应因子。取 1.0 μl 样液注入气相色谱-质谱联用仪,在相同条件下测定试样的响应值(峰高或峰面积)。通过与标准溶液谱图比较响应值,得到试样中脂肪酸甲酯的含量。

⑥脂肪酸相对含量的计算。通过比较样品和已知成分的脂肪酸甲酯混合物标准品色谱峰的相对保留时间,判断相应的脂肪酸种类,并在色谱工作站中采用面积归一化法进行积分处理,计算各种脂肪酸的相对含量。

1.5 数据统计与分析 每组测定 3 个样品,同一样品连续测定 2 次,取平均值。使用 SPSS 19.0 统计软件对试验数据进行方差分析,结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。利用 LSD 法进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 氨基酸 由表 1 可知,牦牛初乳和常乳中的氨基酸含量丰富,均检测到 16 种氨基酸。牦牛初乳中总氨基酸含量(5.485%)显著高于常乳中总氨基酸含量(6 月 3.065%、9 月 2.945%)。初乳中的各氨基酸含量均高于不同泌乳阶段(6 月、9 月)常乳,常乳中的各氨基酸含量不同泌乳阶段(6 月、9 月)之间无显著差异。

表 1 不同泌乳阶段牦牛常乳中氨基酸含量的变化 %

种类	天门冬氨酸 Asp	苏氨酸 Thr	丝氨酸 Ser	谷氨酸 Glu	甘氨酸 Gly	丙氨酸 Ala	缬氨酸 Val	蛋氨酸 Met	亮氨酸 Leu
初乳	0.420±0.010a	0.230±0.005a	0.295±0.007a	1.095±0.049a	0.115±0.007a	0.114±0.007a	0.335±0.008a	0.130±0.004a	0.285±0.007a
常乳(6 月)	0.250±0.014b	0.135±0.007b	0.160±0.014b	0.610±0.099b	0.070±0.003a	0.065±0.007b	0.180±0.141b	0.070±0.002b	0.155±0.007b
常乳(9 月)	0.230±0.014b	0.120±0.014b	0.155±0.021b	0.525±0.092b	0.070±0.004a	0.065±0.007b	0.185±0.007b	0.065±0.007b	0.155±0.007b
种类	异亮氨酸 Ile	苯丙氨酸 Phe	组氨酸 His	赖氨酸 Lys	精氨酸 Arg	脯氨酸 Pro	酪氨酸 Tyr	总氨基酸 TAA	
初乳	0.540±0.028a	0.265±0.007a	0.275±0.007a	0.130±0.004a	0.505±0.007a	0.195±0.007a	0.555±0.049a	5.485±0.049a	
常乳(6 月)	0.315±0.007b	0.135±0.007b	0.145±0.007b	0.070±0.003a	0.290±0.014b	0.105±0.007a	0.310±0.014a	3.065±0.219b	
常乳(9 月)	0.300±0.014b	0.155±0.007b	0.160±0.002b	0.065±0.007a	0.275±0.007b	0.110±0.004a	0.310±0.007a	2.945±0.177b	

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 脂肪酸 由表 2 可知,牦牛初乳和常乳中均检测到 28 种脂肪酸,其中饱和脂肪酸 19 种、不饱和脂肪酸 9 种。初乳中十四烷酸、15-甲基十六烷酸、顺式-十八烷酸含量均显著高于常乳(6 月、9 月),初乳中的油酸和硬脂酸含量显著低于常乳(6 月、9 月),而其他脂肪酸含量无显著差异。常乳中 15-甲基十六烷酸、油酸、顺式-11-十八烯酸、十九烷酸、二十二碳六烯酸、二十二烷酸含量在不同泌乳阶段(6 月、9 月)明显不同,其他脂肪酸含量无显著变化。

3 讨论

3.1 氨基酸 氨基酸(Amino acid)是构成蛋白质的基本单位,赋予蛋白质特定的分子结构形态,使其分子具有生化活性。氨基酸在动物体内通过代谢可以合成组织蛋白质;转变成酸、激素、抗体、肌酸等含氮物质;转变为碳水化合物和脂肪;氧化成二氧化碳和水及尿素,产生能量。因此,氨基酸在动物体中的存在不仅提供了合成蛋白质的重要原料,而且对于促进生长、进行正常代谢、维持生命提供了物质基础。牛

乳中能够提供人类所需要的必需氨基酸,如赖氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸。该研究中青海高原牦牛初乳、常乳中总氨基酸含量分别为(5.485±0.049 3)%、(3.065±0.219)%,其中谷氨酸、异亮氨酸、酪氨酸和精氨酸含量相对比较高,赖氨酸、甘氨酸、蛋氨酸和丙氨酸含量相对较低,并且初乳各氨基酸含量显著高于常乳中氨基酸含量。青海高原牦牛较当地黑白花奶牛常乳总氨基酸含量(2.69%)高 0.38%。同时,该测定结果表明青海高原牦牛不同泌乳阶段(6 月与 9 月)各氨基酸含量没有明显差异,说明同一牦牛品种不同季节常乳中氨基酸含量没有差异,是牦牛乳良好品质的保证。

3.2 脂肪酸 随着对乳脂的深入研究,乳中脂肪酸的营养保健作用及其对乳制品组织结构和风味的影响作用开始受到人们普遍关注。近年来研究表明,乳脂肪酸具有特定的保健作用,特别是共轭亚油酸(Conjugated linoleic acid,CLA)具有抗癌、降低胆固醇、强化免疫、抑制脂肪沉积以及抗糖尿病

表 2 青海高原牦牛乳中脂肪酸含量的变化

%

种类	壬酸	癸酸	十二烷酸 (C12:0)	10-甲基十 一烷酸	十三烷酸 (C13:0)	十四烷酸 (C14:0)	12-甲基十 四烷酸
初乳(4月)	0.497±0.054a	0.373±0.081a	0.047±0.021a	0.363±0.042a	0.317±0.081a	5.033±0.426a	0.443±0.076a
常乳(6月)	0.580±0.048a	0.107±0.013b	3.117±0.501b	0.290±0.027a	0.073±0.041b	0.917±0.129b	0.487±0.109a
常乳(9月)	0.139±0.093b	0.544±0.018a	1.483±0.166c	0.178±0.012b	0.085±0.053b	0.864±0.145b	1.357±0.309b
种类	十五烷酸 (C15:0)	14-甲基- 十五烷酸	十六烷酸 (C16:0)	软脂油酸 (棕榈油酸)	15-甲基 十六烷酸	十七烷酸 (C17:0)	油酸
初乳(4月)	0.363±0.051a	0.383±0.027a	0.097±0.010c	0.610±0.046a	27.460±2.723a	1.827±0.127a	10.777±1.765c
常乳(6月)	0.193±0.022b	0.450±0.054a	0.537±0.059b	1.460±1.518b	21.137±1.816a	5.193±0.403b	14.240±1.349b
常乳(9月)	0.069±0.038c	0.210±0.012a	1.240±0.070a	0.779±0.045a	6.701±1.367b	1.070±0.070a	27.157±3.034a
种类	硬脂酸 (C18:0)	顺式-11- 十八烷酸	顺式-十八 烷酸	亚油酸	8,11-十八碳 二烯酸	6,9-十八碳 二烯酸	十九烷酸 (C19:0)
初乳(4月)	0.660±0.071b	4.557±0.414a	20.49±1.742a	0.233±0.034a	3.813±0.286a	1.327±0.089a	10.353±1.943a
常乳(6月)	6.463±1.404a	6.990±1.507a	0.350±0.008b	1.117±0.164b	3.237±0.368a	0.520±1.817b	15.590±2.432a
常乳(9月)	8.543±1.288a	0.413±0.037b	0.328±0.017b	0.447±0.021a	0.280±0.026b	0.503±0.057b	27.803±8.256b
种类	11,14,17-顺-二 十碳三烯酸	二十一烷酸 (C21:0)	顺-13-二十 二烯酸	二十二碳六 烯酸(DHA)	二十二烷酸 (C22:0)	木蜡酸	二十八酸 (C28:0)
初乳(4月)	1.863±0.165a	3.803±0.650a	0.843±0.132a	0.330±0.026a	2.967±0.486a	0.150±0.011a	0.040±0.006a
常乳(6月)	1.170±0.172b	4.050±0.712a	1.167±0.104a	6.180±0.509b	3.393±0.636a	0.880±0.052b	0.120±0.026b
常乳(9月)	1.254±0.095b	5.473±0.931b	2.525±0.353b	0.469±0.066a	8.524±0.559b	0.317±0.033a	1.493±0.635c

注: 同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

等功能^[5]。短、中链脂肪酸,尤其是水溶性(如 C4:0、C6:0、C8:0)以及非水溶性(如 C12:0)的挥发性脂肪酸是乳脂肪易于消化或产生良好风味的重要原因。笔者从青海高原牦牛初乳和常乳中均检测到 28 种脂肪酸,其中饱和脂肪酸 19 种,不饱和脂肪酸 9 种。初乳中以十四烷酸(C14:0)、15-甲基十六烷酸、顺式-十八烷酸、十九烷酸、油酸、顺式-11-十八烯酸为主;常乳中,以 15-甲基十六烷酸、油酸、硬脂酸、15-甲基十六烷酸、十九烷酸、二十一烷酸和二十二烷酸为主。初乳中,饱和脂肪酸占总脂肪酸含量的 75.65%,不饱和脂肪酸占总脂肪酸含量的 24.35%。常乳中,6 月、9 月牛乳中饱和脂肪酸占总脂肪酸含量的 63.92% 和 66.17%,不饱和脂肪酸占总脂肪酸含量的 36.08% 和 33.83%。常乳中的油酸和硬脂酸含量显著高于初乳。

在饱和脂肪酸方面,牦牛乳具有与普通牛乳相同的特点。长链脂肪酸 C14:0、C16:0、C18:0 占饱和脂肪酸总量的 1/2 以上。长链脂肪酸不如中链饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸易消化吸收,这主要是由于长链饱和脂肪酸在小肠中易形成不易消化的皂及因熔点高而影响金属离子(如钙离子)和脂肪酸的吸收^[6]。单不饱和脂肪酸对降低心血管疾病有着重要意义,例如油酸(C18:1)可以降低甘三脂的熔点,提高脂肪

球的流动性及其代谢能力,因此对于其他脂肪酸的吸收具有积极作用。牦牛乳中的油酸含量较高。多不饱和脂肪酸具有多种生物学功能,如构成细胞膜、诱发基因表达、促进生长发育和防治心血管疾病等。牦牛乳中多不饱和脂肪酸含量丰富,有亚油酸、8,11-十八碳二烯酸、6,9-十八碳二烯酸、11,14,17-顺-二十碳三烯酸和二十二碳六烯酸等。了解牦牛乳脂肪酸组成情况,有助于推进牦牛乳的开发与利用,提高其产品附加值。

参考文献

[1] GUO X,DING X Z,PEI J,et al. Efficiency of in vitro embryo production of yak (*Bos grunniens*) cultured in different maturation and culture conditions [J]. J Appl Anim Res,2012,40(4):323-329.

[2] 郭宪,裴杰,王宏博,等. 牦牛乳及乳产品的研究与开发利用[J]. 安徽农业科学,2014,42(19):6256-6257.

[3] 阎萍,郭宪. 牦牛实用生产技术百问百答[M]. 北京:中国农业出版社,2013:25-28.

[4] PALMQUIST D L,JENKINS T C. Challenges with fats and fat methods [J]. Journal of Animal Science,2003,81:3250-3254.

[5] BELURY M A. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action[J]. Annual Review of Nutrition,2002,22:505-531.

[6] LNNIS S M,DYER R,NELSON C M. Evidence that palmitic acid is absorbed as sn-2 monoacylglycerol from human milk by Breast-fed infant [J]. Lipids,1994,29:541-545.

(上接第 125 页)

和林缘。马尾松感病后多在 7~11 月出现病状,有 1 个明显的发病高峰(8 月)和 1 个不明显的次高峰(11 月),这与赣南松褐天牛年发生 1~2 代的生活史相吻合^[5]。

赣南现有松林面积有 105.56 万 hm^2 ,占全市现有林地面积的 38.50%,其中松林面积为 6.60 万 hm^2 以上的县(市)有 7 个,大多数为贫瘠的荒山和水土流失区域飞播的马尾松纯林,树种单一,林分质量差,结构不合理,抵御自然灾害能力弱,极易遭受森林病虫害的侵染破坏。特别是 2008 年南方地区经历了罕见特大低温雨雪冰冻天气,松材线虫病传播媒

介昆虫——松褐天牛繁殖种群数量急剧上升,给该区域松材线虫病防治工作带来严重影响^[2]。

参考文献

[1] 杨宝君,潘宏阳,汤坚,等. 松材线虫病[M]. 北京:中国林业出版社,2003:12-15.

[2] 赖福胜,黄燕洪,肖活生,等. 赣南苏区松材线虫病防控现状与策略[J]. 江西林业科技,2013(1):47-50.

[3] 余海滨,陈沐荣. 广东松材线虫病发生规律研究[J]. 云南农业大学学报,1999,14(S1):103-110.

[4] 张维玲,吴建福,陈万钧. 赣南地区松材线虫病发生规律研究[J]. 广东农业科学,2013,40(10):76-79.

[5] 吴建福,张维玲,张仁香. 赣南松墨天牛生活史研究[J]. 湖北农业科学,2013,52(2):321-324.