

羊奶膻味脂肪酸代谢调控研究

李 静¹, 许晓曦^{1,*}, 滕国新²

(1. 东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030;

2. 北京三元食品股份有限公司, 北京 100085)

摘要:山羊奶是一种营养完全的食品,含有能促进人类生长发育以及维持健康的必需营养成分,它所含各种营养成分的比例,大体适合人类的生理需要。发展山羊奶业不仅是对中国奶业数量上的补充,而且在品质上,与牛奶相比更具潜力。但是由于羊奶具有膻味,因此羊奶及其制品的市场占有率很低。研究证明羊奶中短、中链脂肪酸是造成膻味的主要原因。文章对近年来羊奶膻味与脂肪酸代谢及基因调控等的研究状况进行了综述。

关键词:羊奶,膻味,脂肪酸

Study on the goat milk flavor and fatty acid metabolism

LI Jing¹, XU Xiao-xi^{1,*}, TENG Guo-xin²

(1. Food Science Institute, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

2. Beijing San Yuan Foods Co., Ltd., Beijing 100085, China)

Abstract: The goat milk is a perfect nutritional food, it contains necessary nutrients which can promote human growth and maintain health. The proportion of various elements just adapt to human physiological requirement. Development of goat milk industry is not only quantitative supplement for China dairy industry, but also more potential than cow milk in quality. Because of the distinctive odor, goat milk and products made from it have a low market portion. The report showed that the short and medium fatty acids were the main cause of the goaty flavor and the progress on the relationship between goaty flavor and fatty acid metabolism were summarized in this article.

Key words: goat milk; goaty flavor; fatty acid

中图分类号: TS252.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2010)04-0402-03

羊奶是一种营养最接近“完善”的食品,羊奶经杀菌后,可直接供人们食用,几乎可全部被消化吸收,它含有能促进人类生长发育以及维持健康的必需营养成分。单从营养角度来说,羊奶营养丰富,应该在奶品消费市场中占有一定的份额。在现实生活中,由于羊奶的膻味问题,无论是羊奶还是羊奶制品在中国市场上都很少见到。初步研究表明山羊奶中短、中链的游离脂肪酸如 C_{6:0}、C_{8:0}、C_{10:0} 和 4-乙基辛酸等一些支链脂肪酸是造成羊奶和羊奶制品膻味的主要原因^[1]。文章对于近年来羊奶膻味脂肪酸代谢相关的基因调控方面的研究做了综述。

1 羊奶膻味与脂肪酸的关系

山羊奶的短、中链脂肪酸含量比牛奶高^[2-3],其中羊奶中 C_{6:0}、C_{8:0} 和 C_{10:0} 的含量占羊奶总脂肪酸含量的 13.3%^[4],羊奶特有的膻味主要与脂肪酸的组成有关,中、短链脂肪酸的含量与膻味强度之间呈明显的

正相关。

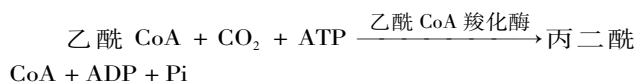
骆承庠先生等通过对稀奶油和脱脂奶中的游离脂肪酸分布情况分析后认为,庚酸(C_{7:0})、辛酸(C_{8:0})、壬酸(C_{9:0})和癸酸(C_{10:0})是羊奶中的主要致膻成分^[5]。Chillard 等认为冷藏鲜羊奶中膻味的形成源于游离脂肪酸,尤其是游离的 C_{6:0}~C_{9:0} 脂肪酸,更确定的是挥发的 C_{9:0} 和 C_{10:0}^[6]。Call 认为,己酸、辛酸和癸酸与羊奶膻味有关。但是,它们的单独存在并不产生膻味,必须按一定的比例结合成一种较稳定的络合物或者通过氢键以相互缔合形式,才产生膻味^[7]。

2 脂肪酸合成与酶

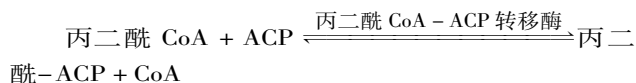
2.1 反刍动物乳腺脂肪酸合成

脂肪酸合成发生在乳腺上皮细胞的胞浆中,基本上包括两个阶段:

第一阶段:



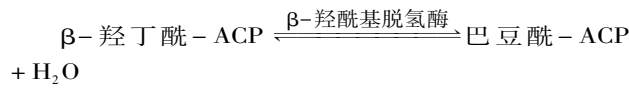
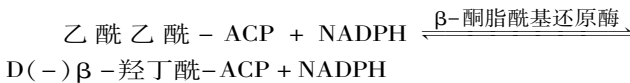
第二阶段:



收稿日期:2009-03-23 * 通讯联系人

作者简介:李静(1984-),女,在读硕士研究生,研究方向:食品质量与安全。

基金项目:北京市优秀人才资助计划;北京市科委科技新星计划和北京科委专项资助。



2.2 脂肪酸合酶(FAS)

脂肪酸合酶(FAS)在哺乳动物的脂肪酸合成过程中具有重要作用,它利用乙酰-CoA、丙二酸单酰-CoA和NADPH催化饱和脂肪酸的合成。脂肪酸合成的第二阶段,通过一种硫脂键与丙二酸单酰或丁酰辅酶A结合生成脂肪酸合酶复合物,这种复合物由七个酶亚单位和一个酰基载体蛋白(ACP)组成,连接所有的中间产物。一旦丙二酸单酰或丁酰CoA与ACP结合,则缩合、酮还原、脱氢和烯酰基还原等反应连续发生,这就完成了碳链加长的一个循环。随后,丙二酸单酰CoA通过重复这种循环被加到新合成脂肪酸的羧基末端。在脂酰脱酰基酶(硫脂酶II)作用下,这一循环重复进行,直到碳链中止,形成短、中链脂肪酸。

Jayan研究了外源性的不饱和脂肪酸对乳腺细胞中脂肪酸生物合成的影响,结果表明添加外源性的不饱和脂肪酸可以降低细胞中ACC和FAS mRNA的表达丰度^[8]。Yin等研究报道,用生长激素处理的3T3-F442A细胞,FAS基因转录活性下降82%;在3T3-F442A细胞中加10ng/mL的胰岛素培养48h,FAS mRNA的丰度增加7倍^[9]。

Kim和Freske(1996)分别测定了大鼠饲喂高碳水化合物日粮、饥饿状态、禁食后再饲喂高碳水化合物3种情况下FAS mRNA的丰度。结果发现,饲喂高碳水化合物日粮的大鼠,肝FAS mRNA丰度增加3~5倍;而饥饿显著降低FAS mRNA的丰度,禁食后再饲喂高碳水化合物,FAS mRNA丰度比禁食组增加20~30倍^[10]。

最近发现主要的长链(N-6)和(N-3)多烯脂肪酸,可直接调控细胞核内的生物化学过程,其作用方式是影响基因转录的速率;这种多不饱和脂肪酸可影响核苷酸的顺序,这种顺序位于FAS基因的启动子区。 Δ -6去饱和酶的N-6和N-3脂肪酸产物被胞液脂酰基结合蛋白带入细胞核,这些多烯脂肪酸与特异的核结合蛋白质结合,后者可与FAS基因的启动基因中一段顺序相互作用。

曹艳红通过沉默山羊乳腺上皮细胞脂肪酸合酶基因,改变乳腺上皮细胞中的脂肪酸组成含量,短链脂肪酸的百分含量极显著下降,中链脂肪酸的百分含量显著升高,长链脂肪酸的百分含量略有变化^[11]。王海滨等通过运用RT-PCR结合RACE的方法获得了西农萨能羊乳腺FAS基因cDNA序列全长,并对

FAS基因启动子部分序列进行了克隆和序列分析,克隆获得了西农萨能羊FAS基因编码区四个基因片段;采用实时定量PCR的方法检测了不同泌乳阶段(盛期、中期、后期、末期及干奶期)西农萨能羊乳腺FAS基因mRNA的表达丰度^[12]。

2.3 乙酰辅酶A羧化酶(ACACA)

乙酰辅酶A羧化酶(ACACA)是动物组织脂肪合成调控的限速酶。这个基因在两种意大利山羊(Gentile di Puglia and Sarda)泌乳期乳腺中的不同表达及两种山羊乳脂肪含量的差异显示此基因直接参与泌乳期的脂肪合成过程^[13]。在此基因的启动子I^[14]和启动子II^[15]中都检测到了单核苷酸多态性(SNP),但是在Sarda羊和其他意大利山羊(Gentile di Puglia, Comisana and Sopravissana)上出现的频率大不相同。当前对于SNPs对ACACA基因表达的作用还未进行研究。

3 脂肪酸代谢其它相关酶

3.1 脂蛋白酯酶(LPL)

从羊奶脂肪酸分解的角度来看,羊奶膻味的产生与游离的短、中链脂肪酸有关,而乳中游离脂肪酸的产生又与乳脂脂解作用有关。乳脂脂解就是三酰甘油在脂蛋白酯酶(LPL)作用下水解释放游离短、中链脂肪酸。因此可以设想通过对LPL的研究可以为羊奶中游离脂肪酸的产生机制研究提供重要的参考,并进而为羊奶膻味的形成提供一定的理论依据。

LPL的水解具有位置专一性而没有针对脂肪酸的专一性,LPL催化三酰甘油分子中sn-1和sn-3位置上的脂肪酸水解。由于短链脂肪酸主要在牛奶三酰甘油的sn-3位置上进行酯化,因此LPL的脂解表现出优先释放短链游离脂肪酸。

LPL脂解甘油三酯(TG)需要apo C II作为辅助因子。实验证明,在TG中加入纯化的apo C II后,由TG脂解释放的游离脂肪酸增加数倍。关于apo C II促进LPL活性的机理推测是,apo C II能使LPL的空间结构定向,保证酶的催化部分与底物间的排列最合适,以促进催化反应。相反,apo C III作为LPL的抑制剂,可抑制LPL活性,其作用机理可能与apo C III将apo C II从LPL上替换下来有关。

此外,钙离子参与脂蛋白酯酶的激活过程,而apo E、二异丙基氟磷酸、游离脂肪酸和甘油一酯可对脂蛋白酯酶产生抑制作用。

LPL在乳腺上皮细胞中合成并对乳腺组织游离脂肪酸产生影响。Graziano通过RT-PCR技术研究了两种山羊(Sarda and Gentile di Puglia)泌乳期乳腺中的LPL基因的表达差异。同时也在这两种山羊泌乳期的不同阶段也发现了一致的表达差异^[16]。通过对此基因的结构分析有助于解释基因表达差异的原因。

3.2 硬脂酰辅酶A去饱和酶(SCD)

硬脂酰辅酶A去饱和酶(SCD)是细胞内单不饱和脂肪酸合成的关键酶。它在脂类代谢中起到核心作用并且是影响羊奶脂肪质量的候选基因。Bernard^[17]和Yahyaoui^[18]的研究已将SCD基因序列全部得到。该基因编码6个外显子;奶山羊与山羊

序列在一 SNP 的第 4 外显子上有所差异。山羊、奶山羊与牛的基因同源性非常高,只是在第六外显子上有所不同。Graziano^[19]等在比较了 5 头 Sarda 羊的基因序列后,发现了 4 个 SNPs。

Reh 等通过转基因技术把大鼠的 SCD 基因整合到奶山羊基因组中并在乳腺中进行表达,产生的转基因山羊与对照组山羊乳脂肪酸组成相比,乳中饱和脂肪酸含量降低,不饱和脂肪酸含量增加^[20]。

3.3 激素敏感脂肪酶(HSL)

HSL 是最初发动脂肪组织中甘油三酯分解的关键酶和限速酶,负责分解脂肪组织中甘油三酯释放出游离脂肪酸,是调控脂肪组织分解的最关键因素。

HSL 的活性受复杂的级联反应机制调控。在不同的生理状态下,机体会产生不同的激素平衡状态,使得 HSL 的活性及其作用机制都会有所改变。杨再清等曾以混系和丹系长白肥育猪为研究材料,发现丹系长白猪血浆 cAMP、HSL 和 FFA(游离脂肪酸)分别比混系高 32.85% (P < 0.05)、7.41% 和 23.41%,说明通过 cAMP 调控 HSL 对游离脂肪酸释放的作用具有明显的品系差异^[21]。

4 结语

羊奶的好处,早在李时珍的《本草纲目》中就有记载:“羊奶甘温无毒、润心肺、治消渴、疗虚劳、益精气、补肺肾气”,古代民间也流传着“羊食百草,其乳滋补”的俗语。而在一些欧美国家,羊奶早已成为人们生活必需的消费品,市场占有率达到 80% 以上。但是由于羊奶的膻味问题,使得中国的羊奶消费市场一直没有得到良好发展。而当前对于解决羊奶脱膻问题主要集中在生产工艺上,这种方法不能从根本上解决膻味问题,同时由于向羊奶内添加了许多外源化合物,这样势必改变了山羊奶原有的特性,也增加了羊奶安全方面的风险。

近年来随着分子生物学在动物生理上的应用,通过分子生物学实验手段对造成羊奶膻味脂肪酸代谢基因进行调控,如沉默相关基因,已经成为改善羊奶风味的可行的有力手段。同时,分子遗传学的发展、生物技术的广泛应用为动物育种开辟了新的途径。利用基因的遗传标记进行辅助选择能够对奶山羊的优良生产性状如羊奶膻味较轻的品种等进行早期选择并提高选择的准确性,缩短世代间隔,有望加速性状的遗传进展,对于奶山羊育种与羊奶生产具有重要的理论和实践意义。

参考文献

[1] Attaie R, Richter R L. Formation of Volatile Free Fatty Acids During Ripening of Cheddar-like Hard Goat Cheese [J]. J Dairy Sci, 1996(79):717-724.

[2] Haenlein W G F. Role of goat meat and milk in human nutrition [J]. Proc V Intl Conf on Goats, 1992(2):575-580.

[3] 任健, 张宗岩. LI-I 羊乳与绵羊乳的物理化学性质比较 [J]. 中国乳品工业, 2004, 32(4):29-31.

[4] Soryal K A, Zeng S S, Min B R. Fatty acid profiles of goat milk and Domiati cheese as affected by pasture feeding and stage

of lactation [J]. Journal of Food Lipids, 2003(10):219-236.

[5] 骆承库, 骆志刚. 脱除羊奶膻味, 积极发展奶山羊事业 [C]. 第二届中国羊业发展大会, 长春:2005.

[6] Chilliard Y, Ferlay A, Rouel J. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis [J]. J Dairy Sci, 2003(86):1751-1770.

[7] 赵有璋. 羊生产学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005:132.

[8] Jayan G C. Activity and mRNA abundance of enzymes for fatty acid synthesis and desaturation in mammary cell cultures [M]. USA: Digital library and archives, 1998.

[9] Yin D, Clarke S D, Peters J L. Somatotropin-dependent decrease in fatty acid synthase abundance in 3T3-F442A adipocytes is the result of a decrease in both gene transcription and mRNA stability [J]. Biochem J, 1998, 331(3):815-820.

[10] Kim T S, Freske H C. High carbohydrate diet and starvation regulate lipogenic mRNA in rats in a tissue-specific manner [J]. J Nutr, 1996, 126(3):611-617.

[11] 曹艳红. 奶山羊乳腺脂肪酸合酶基因表达的 RNA 干扰研究 [D]. 西北农林科技大学, 2008.

[12] 王海滨, 罗军, 武会娟, 等. 西农萨能羊乳腺脂肪酸合酶基因 exon 9-15 的克隆与序列分析 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(3):828-833.

[13] Veltri C. Structure and expression variability of genes involved in milk production in small ruminants [D]. Italy: Universita del Molise, 2000.

[14] Bianca M, Francesco N, Luigi O, et al. Single nucleotide polymorphism detection in promoter III of the acetyl-CoA carboxylase-[alpha] gene in sheep [J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 2005, 122(6):418-420.

[15] Bianca M, Francesco N, Luigi O, et al. Single nucleotide polymorphism detection in promoter I of the acetyl-CoA carboxylase-[alpha] gene in sheep [J]. Small Ruminant Research, 2005, 59(1):49-53.

[16] Graziano M, D Andrea M, Reale S, et al. Study of the Structure and Expression of the Genes Involved in Lipid Metabolism in Small Ruminants [M]. Italian Ministry of Research and Education, 2005.

[17] Laurence B, Christine L, Hayes H, et al. Characterization of the caprine stearoyl-CoA desaturase gene and its mRNA showing an unusually long 3'-UTR sequence arising from a single exon [J]. Gene, 2001, 281(1-2):53-61.

[18] Yahyaoui M H, Sanchez A, Folch J M. Rapid communication: partial nucleotide sequence of the goat stearoyl coenzyme A desaturase cDNA and gene structure [J]. J Anim Sci, 2002, 80(3):866-867.

[19] Graziano M, D Andrea M, Pilla F. Validation of oligo-array LPL and SCD expression profiles in sheep mammary gland by real time PCR [J]. Ital J Anim Sci, 2005(4):135.

[20] Reh W A, Maga E, Collette N. Hot topic: using a stearoyl-CoA desaturase transgene to alter milk fatty acid composition [J]. J Dairy Sci, 2004(87):3510-3514.

[21] 杨在清, 马志科, 孙超. 猪脂肪沉积的品系差异及其 cAMP 的调控作用 [J]. 畜牧兽医学报, 1996, 27(6):489-494.