

乳清蛋白与水解乳清蛋白的研究进展与临床应用现状*

孙海岚 综述, 许红霞, 蒋宝泉[△] 审校(第三军医大学大坪医院野战外科研究所营养科, 重庆 400042)

【关键词】 乳清蛋白; 水解乳清蛋白; 临床应用

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.23.060 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)23-3364-03

在研制开发各类肠内营养制剂时,氮源选择备受关注,并且在肠内营养支持中如何提高肠道对肠内营养物质的耐受性和吸收率也尤为重要^[1]。乳清蛋白属于优质蛋白,是乳酪加工过程中留在上清液的副产物,含有多种生物活性成分,如乳铁蛋白、 β -乳球蛋白、 α -乳清蛋白等,其最基本的营养学作用是为机体提供蛋白质合成所需的氮源。最近的研究报道表明,乳清蛋白参与对血糖和胰岛素的调控,影响血脂和脂蛋白代谢及肌肉蛋白质的合成,对维持血管功能和血压也有一定作用。水解乳清蛋白是乳清蛋白或乳清蛋白在一定温度和 pH 值条件下的酶促反应产物,由于它是蛋白质的一种预消化形式,较乳清蛋白更容易被机体消化吸收;并且比整蛋白形式的乳清蛋白具有更多的生物活性和功效作用,为各类肠内营养制剂、保健食品的开发应用提供了一个具备良好前景的基础原料。因此水解乳清蛋白已成为国内外学者目前的研究热点。本文就近年来国内外有关乳清蛋白和水解乳清蛋白生产、化学特性、功效作用及临床应用等方面研究进展综述如下。

1 乳清蛋白与水解乳清蛋白的生产

乳清蛋白是以牛奶为原料生产干酪过程中沉淀后的上清液经超滤、杀菌、浓缩、喷雾干燥而成。牛奶蛋白质的 20% 是乳清蛋白,其必需氨基酸种类齐全,氨基酸模式与人体相似,生物价(BV)很高,加上乳清蛋白含有多种生物活性成分,能有效改善营养状况,是优质的食物蛋白质资源之一,也是临床各种治疗饮食或管喂饮食优质蛋白质的最好来源。

水解乳清蛋白是乳清蛋白的水解产物,目前国内外通常用酶解法制备水解乳清蛋白。酶解法水解乳清蛋白成本相对较低,安全性高,生产条件温和且易控制,适合大规模生产,通过条件控制可定位生产特定的肽。在酶解法制备乳清蛋白肽过程中,控制条件主要包括温度、pH 值和时间。沈浔等^[2]在其酶解乳清蛋白制备抗氧化肽的研究中认为最优工艺条件为: $T=50\text{ }^{\circ}\text{C}$, $S=3\%$, $E/S=2\%$, $\text{pH}=7.6$, $t=90\text{ min}$ (其中 T 为反应温度, S 为底物浓度, E/S 为酶浓度)。在该条件下,酶解产物相对分子质量分布在 $(0.3\sim 2.6)\times 10^3$, 主要存在的是 1×10^3 以下的短肽。

2 乳清蛋白与水解乳清蛋白的化学性质

蛋白质一般按其化学组成可分为单纯蛋白质、结合蛋白质和衍生蛋白质三大类,乳清蛋白、蛋清蛋白、血清清蛋白、麦谷蛋白都属于单纯蛋白质,相对分子质量都较低,可溶于中性无盐的水中。

乳清蛋白是牛奶乳清中一类蛋白质的总称,包括 α -乳清蛋白、 β -乳球蛋白、血清清蛋白、免疫球蛋白、糖巨肽(GMP)、乳铁蛋白、乳过氧化物酶、 β -微球蛋白、溶菌酶等,其中 β -乳球蛋白

占 48%, α -乳清蛋白占 19%, 免疫球蛋白占 8%, 血清清蛋白占 5%, 这些蛋白质和多肽均都具有其独特生物活性,营养价值极高^[3]。乳清蛋白为凝胶化的微粒状,具有易溶解性、黏着性、成胶性、热稳定性、乳化稳定性以及泡沫稳定性等多种功能特性。

水解乳清蛋白的溶解性与热稳定性优于乳清蛋白,溶解度可达 95% ($\text{pH}=5$)。乳清蛋白多肽在油溶体系中增效作用明显,而且在水溶体系、乳化体系和干燥体系中也有较高的生理活性^[4]。

3 乳清蛋白与水解乳清蛋白的吸收

由于蛋白质组成特点不同,每一种蛋白质都有其特定的摄取特性。与酪蛋白相比,乳清蛋白在胃酸作用下形成的乳凝块较小,基本处于溶解状态,使其在胃中排空速度较快,此种特性有助于增加其在肠道的吸收速率。

乳清蛋白与其他蛋白质一样,主要在肠道消化和吸收。胃壁主细胞分泌的胃蛋白酶虽然可以将大分子的蛋白质分解成小分子物质——多肽,但这种消化是非常有限的,绝大部分蛋白质是被输送到小肠经胰蛋白酶水解成氨基酸和肽后被吸收。而水解乳清蛋白中的蛋白质主要以短肽形式存在,动物实验表明肠黏膜细胞膜上存在着氨基酸和肽的各自转运系统,游离氨基酸的吸收主要依靠钠泵主动转运,短肽吸收则主要依赖 H^+ 或 Ca^{2+} 离子浓度介导的 ATP 转运系统、pH 依赖性 H^+/Na^+ 交换转运体系及谷胱甘肽跨膜转运系统,他们对具体类型的氨基酸和肽具有特异性,并且发现肽分子的吸收速度明显快于氨基酸分子。

因此,介于蛋白质和氨基酸之间的肽类,由于其特殊的结构特点而具有更强的活性和多样性,并且与大分子蛋白质等相比较,又具有较快的吸收速率。因此,水解乳清蛋白作为氮源以肽的形式提供营养,其生物学意义会更大。

4 乳清蛋白的功效作用

4.1 乳清蛋白对蛋白质合成的作用 乳清蛋白所含必需氨基酸的构成模式与人体相似,生物利用率很高。有研究表明,乳清蛋白及其水解产物的营养质量优于酪蛋白,可为肠内营养制剂提供优质氮源,也可单独作为营养补充品使用。在临床疾病营养治疗中,乳清蛋白作为优质蛋白在纠正负氮平衡、促进创伤愈合、维持机体免疫力等方面发挥重要作用。

4.2 乳清蛋白的其他功效作用 研究发现,乳清蛋白除作为优质氮源参与机体蛋白质合成外,它含有的多种生物活性成分对机体脂质代谢、糖代谢、非特异性防御屏障等方面都有着积极作用。文献^[5-6]提出,服用乳清蛋白可能导致血浆乳糜微粒减少,并且乳清蛋白还可刺激脂蛋白脂肪酶,减少脂肪在肠道的消化和吸收。一项研究显示,超重和肥胖者在控制饮食同

* 基金项目:重庆市科学技术委员会重点攻关项目(2011AB5038);重庆市医学重点学科建设经费资助项目。

[△] 通讯作者, E-mail: baoquanjiang@163.com; clara.redq@gmail.com。

时摄入乳清蛋白质可降低空腹三酰甘油 (TAG) 血液浓度^[7]。文献报道乳清蛋白具有促胰岛素特性,能改善糖尿病模型大鼠的胰岛素抵抗,起到降血糖降血压作用,并且对糖代谢影响有剂量依赖关系,这种作用与乳清蛋白提高机体抗氧化能力、减少过氧化产物对机体的损害有关^[8-9]。乳清蛋白含丰富亮氨酸以保护瘦体组织,减少脂肪合成,减少饥饿感,使机体更容易利用脂肪产生的能量。Tipton 等^[10]在运动营养研究中发现,在运动前后补服不同量的乳清蛋白可不同程度影响人体的最大吸氧量水平,对人体有氧运动能力有一定影响。在运动训练中,不同类型的蛋白质都有可能影响到肌肉和力量的发展,补充乳清蛋白质可以发挥肌肉的力量和促进肌肉增长,比其他的蛋白质有优势,特别是在体质量控制方面的好处^[11]。因此,饮食中适当添加乳清蛋白,同时坚持合适的运动训练可简单而有效促进减重和维持标准体质量。

研究还表明,乳清蛋白中的乳铁蛋白、 α -乳清蛋白、免疫球蛋白具有抗菌、抗病毒、免疫调节等多种生物学活性功效,具有广阔的开发应用前景^[12]。

5 水解乳清蛋白的功效与临床应用

研究表明,通过特定的蛋白酶水解,将乳清蛋白的一级结构中分布的具有生物活性的氨基酸序列(活性肽段)释放出来,使其发挥特殊的功能效应。同乳清蛋白相比,水解乳清蛋白不仅溶解性好,消化吸收率高,耐酸、耐热,同样也具有多种生理调节功能,如降血压、降胆固醇、抗菌、抗癌等。

5.1 更有利于肠道吸收 同游离氨基酸相比,水解乳清蛋白渗透压较低,小分子短肽经小肠黏膜刷状缘的肽酶水解直接吸收进入血液^[13-14],有助于提高肠内营养(EN)的耐受性,且各种短肽的转运之间无竞争性和抑制,这对于胃肠功能较差的患者尤为适用。

5.2 对血压和血管功能的有益作用 水解乳清蛋白具有抗高血压作用。Ballard 等^[15]最近发现,从乳清蛋白水解物分离出一种新型乳清衍生肽(一氧化氮肽, NOP-47),影响一氧化氮的产生,发挥了血压调节和血管内皮功能的作用。

5.3 抗氧化作用 水解乳清蛋白还具有消除自由基和过氧化物的作用。Peng 等^[16]把乳清蛋白水解为 4 个片段,大小分别为大于 40×10^3 、 $(2.8 \sim 40) \times 10^3$ 、 $(0.1 \sim 2.7) \times 10^3$ 、小于 0.1×10^3 ,实验结果显示, $(0.1 \sim 2.8) \times 10^3$ 的片段清除自由基能力最强,这说明乳清蛋白水解产物的抗氧化能力可能与分子量的大小有关。这可能是由于肽段中含有某些能与自由基反应的特殊基团即供氢基团,肽段只有处在适当相对分子质量时,才能使供氢基团得到最大暴露,并与自由基充分作用,发挥抗氧化作用。文献^[17]对 D-gal 衰老模型大鼠抗氧化效果实验结果表明,不同剂量的水解乳清蛋白各组动物血清、心脏、肾脏的超氧化物歧化酶活性、谷胱甘肽过氧化物酶活性和肝脏 CAT 活性均高于乳清蛋白组,与包怡红等^[18]的衰老模型小鼠实验结果一致。提示乳清蛋白多肽在改善机体代谢紊乱、清除自由基及延缓衰老等方面比未水解的乳清蛋白具有更强的抗氧化能力。

5.4 有助于提高记忆与认知能力 乳清蛋白及乳清蛋白肽能够改善大脑记忆和认知能力,并有助于减少心理压力。徐琳琳等^[19]研究通过对 C57BL/6J 小鼠进行跳台实验、穿梭箱实验分别检测被动和主动回避条件反射能力,提示一定量的乳清蛋白肽能够提高小鼠主动回避记忆能力,且水解乳清蛋白干预组记忆消退速度较对照组有明显减缓趋势。他们还通过 Morris 水迷宫实验研究动物与海马功能直接相关的空间学习记忆能力,

结果显示一定剂量的乳清蛋白肽能提高小鼠空间学习记忆能力。

5.5 促进钙吸收与改善骨密度 潘道东和陆皓茜^[20]亦通过实验测量生长期小鼠骨长、骨重、骨钙含量及骨密度,证明水解乳清蛋白有类似于酪蛋白磷酸肽功能的多肽成分,具有促钙吸收、增加骨密度的作用。这也提示在满足机体钙生理需要量基础上,只要给予适宜剂量的水解乳清蛋白,可以更好促进钙的吸收利用,促进骨钙沉积,增加骨密度。

5.6 预防肠道过敏 乳清蛋白的主要组分为 β -乳球蛋白(β -LG)和 α -乳清蛋白(α -LA),约占乳清蛋白总量的 70%~80%,是婴儿牛乳过敏症的主要致敏因子。通过对乳清蛋白的酶解改性,而得到的水解短肽对其免疫系统有促进作用,能够有效破坏 β -LG 和 α -LA 的致敏结构,协调体内 Th1 和 Th2 细胞的动态平衡,活化了免疫信号途径 Ras 途径和 NF- κ B 途径,降低或消除其致敏性,从而减少过敏性疾病的发生^[21]。

5.7 婴儿配方食品的应用 在婴儿配方奶粉中添加部分适度水解的乳清蛋白,除了考虑到水解乳清蛋白具有低抗原性,可预防过敏反应外,更主要的是考虑到乳清蛋白短肽可以直接被肠道吸收,具有较高的消化吸收率。这样,不仅能使婴儿配方奶粉在蛋白质组成上更接近母乳,使未经消化的蛋白质含量降到婴儿肠道所能负担的水平,而且其中某些肽段还具有较强的免疫调节作用和抗菌作用。同时,乳清蛋白酶解物本身也是肠道微生物极具价值的营养源,尤其对乳酸链球菌、双歧杆菌等益生菌的生长有明显的促进作用。

5.8 水解乳清蛋白的临床应用 由于水解乳清蛋白而生成的短肽,因具有低渗透压、低抗原性,肠道耐受性好,可直接、均衡吸收,同时促进肠道微生物对营养物质的利用,促进氨基酸、微量元素吸收的诸多特点,整体提高了机体(患者)的消化利用率,纠正负氮平衡,不会引起患者过敏、腹泻等胃肠不良反应。基于此,以水解乳清蛋白作为蛋白质来源(氮源)已被临床应用于各类短肽型肠内营养制剂。

国内还有报道认为,短肽型肠内营养制剂联合肠外营养能明显改善危重患者营养状况,提高患者整体蛋白水平,包括总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、前清蛋白、血红蛋白(Hb)等,对改善免疫力、防止肠道菌群移位也有积极作用,而且短肽型肠内营养制剂在肠道耐受、节约蛋白质能力、免疫改善和临床效用等方面显著优于整蛋白型肠内营养制剂^[14]。

咎学琴等^[22]研究短肽营养剂在食道切除后并发颈部吻合口瘘治疗中的效果,结果表明在围术期循序渐进地应用短肽型肠内营养剂,患者体质量、TP、ALB、Hb 均有不同程度提高,除了颈部吻合口瘘达到了预期治愈效果,还改善了病患营养状态。同样,周新华和蒋晓松^[23]对行择期手术的结直肠癌患者,在术前 3 d 肠道准备中给予口服短肽型肠内营养制剂代替传统流质饮食,能充分保证良好的肠道清洁度,又改善了患者营养状态,为手术创造有利条件,同时降低了手术应激诱导的免疫抑制,减少术后并发症,促进机体免疫功能的恢复。亦有在先天性巨结肠、先天性心脏病、肠痿患儿围术期应用短肽型肠内营养支持,对术后恢复、血清 ALB 水平及营养状态提高有显著疗效^[24-25]。

何洁兰等^[26]将短肽型肠内营养剂应用于胃肠道恶性肿瘤进行临床效果观察,患者短期(15~30 d)营养相关指标(体质量、血清 ALB、转铁蛋白、尿素氮、肌酐等)较营养支持前升高,差异均有统计学意义,改善了患者的生活质量。

急性胰腺炎常伴发着感染与全身炎症反应综合征,早期给

予短肽型营养制剂安全有效,不仅改善了患者全身营养不良,而富含小相对分子质量肽的短肽型肠内营养制剂在低蛋白血症时有良好的吸收,通过促进小肠吸收而对肠黏膜起到保护作用,减少了肠源性感染的机会,有助于脓毒症的控制和患者康复,并可降低了急性呼吸窘迫综合征、多器官功能障碍综合征的发生率^[27]。

6 前景与展望

蛋白质多肽的研究,促进了人们对肽类物质的认识和开发应用。不仅水解乳清蛋白肽已经被作为氮源成分广泛应用于临床肠内营养治疗,而且其他不同来源的肽类产品也应用于临床,如酪蛋白多肽、鱼胶原蛋白肽、大豆多肽、谷蛋白肽等。目前,人们已经从关注肽的蛋白质营养作用逐渐转向对蛋白质功能肽多样化生物学作用研究,如抗肿瘤功能肽、降压功能肽、抗菌活性功能肽、促进某些矿物元素吸收功能肽、降脂肽、降糖肽等。综上所述,对功能肽的研究必将推动功能肽产业的发展,为多肽类食品的开发提供无限生机,为疾病防治提供更多的复合功能食品和营养制剂。

参考文献

- [1] Woo SH, Finch CK, Broyles JE, et al. Early vs delayed enteral nutrition in critically ill medical patients[J]. Nutr Clin Pract, 2010, 25(2): 205-211.
- [2] 沈湮, 卢蓉蓉, 陈卫, 等. 乳清蛋白抗氧化肽的制备及酶解产物特性[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(7): 68-73.
- [3] 冯晓慧, 蔡东联. 乳清蛋白在临床营养中的应用[J]. 氨基酸和生物资源, 2010, 32(2): 55-58, 62.
- [4] 郑建仙. 功能性食品生物技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004.
- [5] Mortensen LS, Hartvigsen ML, Brader LJ, et al. Differential effects of protein quality on postprandial lipemia in response to a fat-rich meal in type 2 diabetes: comparison of whey, casein, gluten, and cod protein[J]. Am J Clin Nutr, 2009, 90(1): 41-48.
- [6] Pal S, Ellis V, Ho S. Acute effects of whey protein isolate on cardiovascular risk factors in overweight, post-menopausal women[J]. Atherosclerosis, 2010, 212(1): 339-344.
- [7] Pal S, Ellis V, Dhaliwal S. Effects of whey protein isolate on body composition, lipids, insulin and glucose in overweight and obese individuals[J]. Br J Nutr, 2010, 104(5): 716-723.
- [8] Akhavan T, Luhovyy BL, Brown PH, et al. Effect of pre-meal consumption of whey protein and its hydrolysate on food intake and postmeal glycemia and insulin responses in young adults[J]. Am J Clin Nutr, 2010, 91(4): 966-975.
- [9] 童星, 董加毅, 邬志薇, 等. 乳清蛋白通过抗氧化作用改善模型大鼠的胰岛素抵抗[J]. 卫生研究, 2011, 40(5): 617-619.
- [10] Tipton KD. Role of protein and hydrolysates before exercise[J]. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2007, 17(Suppl): S77-S86.
- [11] Kasim-Karakas SE, Almaro RU, Cunningham W. Effects

of protein versus simple sugar intake on weight loss in polycystic ovary syndrome (according to the National Institutes of Health criteria)[J]. Fertil Steril, 2009, 92(1): 262-270.

- [12] Saint-Sauveur D, Gauthier SF, Boutin Y, et al. Effect of feeding whey peptide fractions on the immuneresponse in healthy and Escherichia coli infected mice[J]. International Dairy Journal, 2009, 19(9): 537-544.
- [13] 蒋朱明, 于康, 蔡威. 临床肠外与肠内营养[M]. 2 版. 北京: 科学技术文献出版社, 2010: 369-373.
- [14] 黄陈, 王建, 朱文艺, 等. 短肽型肠内营养制剂对危重患者营养支持效果观察[J]. 中国食物与营养, 2011, 17(6): 59-61.
- [15] Ballard KD, Bruno RS, Seip RL, et al. Acute ingestion of a novel whey-derived peptide improves vascular endothelial responses in healthy individuals: a randomized, placebo controlled trial[J]. Nutr J, 2009, 8: 34.
- [16] Peng XY, Xiong YL, Kong BH. Antioxidant activity of peptide fractions from whey protein hydrolysates as measured by electron spin resonance[J]. Food Chem, 2009, 113(1): 196-201.
- [17] 彭新颜, 孔保华, 熊幼翎. 乳清多肽对 D-半乳糖衰老模型大鼠血清和脏器组织抗氧化效果的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(9): 238-242.
- [18] 包怡红, 李锐达, 梁雪, 等. 乳清蛋白肽对衰老小鼠抗氧化能力的影响[J]. 营养学报, 2010, 32(3): 239-241.
- [19] 徐琳琳, 马变, 许雅君, 等. 乳清蛋白肽改善 C57BL/6J 小鼠学习记忆功能研究[J]. 现代预防医学, 2011, 38(6): 1090-1092.
- [20] 潘道东, 陆皓茜. 乳清蛋白肽对骨密度和骨钙含量的影响[J]. 营养学报, 2010, 32(4): 350-353.
- [21] 殷张华, 钱继红, 朱天闻, 等. 短肽型肠内营养剂用于晚期早产儿疾病期营养支持前瞻性研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2012, 27(12): 911-914.
- [22] 咎学琴, 秦元, 顾劫玮, 等. 短肽营养剂在颈部吻合口屡患者中的应用[J]. 中国医学研究与临床, 2004, 2(14): 64-65.
- [23] 周新华, 蒋晓松. 短肽制剂在结直肠癌围手术期患者的应用观察[J]. 肠外与肠内营养, 2009, 16(4): 197-200.
- [24] 蔡莉, 汤绍涛, 史雯嘉. 小百肽用于先天性巨结肠围术期肠内营养效果观察[J]. 护理学杂志, 2011, 26(2): 79-80.
- [25] 郑萍, 柳梅, 韩霞. 小百肽对心脏直视手术后患儿的营养支持效果[J]. 心脏杂志, 2011, 23(5): 647-649.
- [26] 何洁兰, 陈欣智, 许剑敏. 短肽型肠内营养剂应用于胃肠道恶性肿瘤的效果观察[J]. 中国医药导报, 2009, 6(3): 51-52.
- [27] 王万朋, 郑湘予, 朱志强, 等. 早期低剂量应用短肽类肠内营养液对脓毒症患者血清白介素-6 水平的影响[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2010, 45(2): 299-301.