

一种乳清蛋白组合物及其制备方法和应用

本申请要求于 2020 年 9 月 29 日提交中国专利局、申请号为 202011068591.8、发明名称为“一种乳清蛋白组合物及其制备方法和应用”的中国专利申请的优先权，其全部内容通过引用结合在本申请中。

5

技术领域

本发明涉及蛋白质加工技术领域，具体涉及一种乳清蛋白组合物及其制备方法和应用。

背景技术

乳清蛋白（whey protein）被称为蛋白之王，是从牛奶中提取的一种蛋白质，具有营养价值高、易消化吸收、含有多种活性成分等特点，是公认的人体优质蛋白质补充剂之一。

在各种蛋白质中，乳清蛋白的营养价值是最高的。乳清蛋白属于优质的完全蛋白质，也是动物性蛋白。它含有人体必需的 8 种氨基酸，且配比合理，接近人体的需求比例，是人体生长、发育、抗衰老等生命活动不可缺少的精华物质。同时，乳清蛋白较易被消化吸收，并且许多实验研究都证明，服用乳清蛋白浓缩物能促进体液免疫和细胞免疫，刺激人体免疫系统，阻止化学诱发性癌症的发生。此外，乳清蛋白中脂肪、乳糖含量低，但它含有 β -乳球蛋白、 α -乳白蛋白、免疫球蛋白，还有其他多种活性成分。正是这些活性成分使乳清蛋白具备了有益于人体的诸多保健功能，因此它被认为是人体所需的优质蛋白质来源之一。

从营养学的角度来看，经动物性蛋白质来源的食物中含有对人体有害的过量饱和脂肪、胆固醇等有害物质，过量食用易导致人体脂肪和胆固醇升高，从而导致心血管疾病的发生。通过服用蛋白粉可以在补充蛋白的同时避免这些问题。再加上它服用方便，吸引利用率高，能减少肠胃负担，所以服用蛋白粉是补充蛋白质的最佳选择，而乳清蛋白则是人们选择蛋白粉的首要考虑。

对于乳清蛋白质，由于从经口摄取到消化吸收的速度快，并包含大量

-2-

支链氨基酸，如缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸等，因此一般认为可以防止肌肉疲劳，并且可以高效地增强肌肉。然而，如果可以将这种释放特性放缓将能够更好地促进肌肉正向合成而可以广泛应用于预防老年人肌肉萎缩、运动人群运动后肌肉修复和瘦身需求以及儿童生长发育等诸多领域。

5 缓释乳清的当前状态取决于“胶束乳清”的发展和未公开的聚合工艺，由 Glanbia 销售的原料 WheyXR (WXR) 宣称具有缓释特性的聚合型乳清。其认为所形成的较大的乳清聚集体，能够限制胃蛋白酶到达蛋白质并减慢在胃中的消化。乳清蛋白倾向于快速通过胃部并进入小肠，因此尚需要更多的技术手段来实现缓慢消化的目的。

10

发明内容

有鉴于此，本发明的目的在于提供一种乳清蛋白组合物，使其在经过胃肠消化道时具备更缓慢的消化特性；

15 本发明的另外一个目的在于提供一种能够缓慢释放亮氨酸的乳清蛋白组合物；

本发明的另外一个目的在于提供一种能够显著提高在胃中粘度的乳清蛋白组合物，使其能够延缓进入肠道的时间；

本发明的另外一个目的在于提供一种能够降低 β -乳球蛋白消化速率的乳清蛋白组合物；

20 本发明的另外一个目的在于提供上述乳清蛋白组合物在制备营养补充剂、肌肉合成促进剂和乳制品中的应用以及其制备方法。

为了实现上述目的，本发明提供如下技术方案：

25 一种乳清蛋白组合物，包括乳清蛋白和 β -酪蛋白，其中 β -酪蛋白与乳清蛋白的质量比不低于 4.5:95.5。本发明在具体实施方式中所使用的乳清蛋白和 β -酪蛋白主要来自于牛乳，但这并不排除其可以选择来自其他来源的原料乳。本发明乳清蛋白组合物可以是直接通过对原料乳进行工艺处理制备出的符合要求的混合物；也可以是将 β -酪蛋白和乳清蛋白按比例复配添加的混合物。

-3-

作为优选，所述 β -酪蛋白与乳清蛋白的质量比为 (4.5:95.5) - (50:50)；进一步优选地，所述 β -酪蛋白与乳清蛋白的质量比为 (9:91) - (20:80)，更优选地，所述 β -酪蛋白与乳清蛋白的质量比为 (9:90) - (17:83)；在本发明具体实施方式中，所述 β -酪蛋白与乳清蛋白的质量比可选择为 4.6:95.4、5:95、9.4:90.6、10:90、15:85、16.6:83.4 或 17:83。

除直接使用 β -酪蛋白和乳清蛋白复配外，本发明也能使用特定的处理（包括在低温下保持一定时间）将 β -酪蛋白从酪蛋白胶束中溶出后进入到乳清中，利用其独特的分子伴侣作用，与乳清蛋白中的 α -乳白蛋白和 β -乳球蛋白形成独特的结合体，从而保护乳清蛋白不会迅速消化。与标准乳清浓缩蛋白等市售产品相比，本发明组合物无论是通过对原料乳进行工艺处理制备得到还是按比例复配添加得到，都具有降低亮氨酸释放速率的特性。

同时，在不同 β -酪蛋白和乳清蛋白比例的组合物中，对 β -乳球蛋白残余量分析，结果显示，在 4:96 的以上比例的组合物中才能够表现出相比标准乳清浓缩蛋白更慢的 β -乳球蛋白消化速率。

在前述乳清蛋白基础上，本发明发现微粒化过程会进一步强化 β -酪蛋白与乳清蛋白的充分组合，从而进一步达到缓慢释放亮氨酸的效果，以及增加体外消化模型消化中胃液的粘度，这可能会阻止蛋白质释放到肠内，延迟了消化过程。与 pH6.5 的微粒化过程相比，pH7.5 的微粒化过程在这些方面的效果更加明显；而且，本发明组合物无论是通过对原料乳进行工艺处理制备得到还是按比例复配添加得到都可以通过微粒化达到上述效果。同时微粒化过程也会改善混合物的其他物理属性包括粒径分布、溶解性、稳定性、黏度等。比较意外的是，本发明发现如果不复配 β -酪蛋白而单独对标准乳清浓缩蛋白进行微粒化过程，会加剧乳清蛋白的消化速率，这说明了 β -酪蛋白的添加能够改变这种过快的消化速率现象并可进一步延缓消化过程。正是基于上述的实验结论，本发明的乳清蛋白组合物优选为微粒化后的乳清蛋白组合物。

作为优选，所述微粒化在 pH 值 6.5-9.0 下高温高速剪切；所述高温为 80-100℃，所述高速剪切为 6000-20000rpm，处理时间为 3-10min。更

-4-

优选为高温为 91-99℃，所述高速剪切为 8000-15000rpm，处理时间为 4-8min。其中，优选微粒化工艺参数为：pH7.5，温度 95℃，时间 5min，剪切速率 9600rpm。微粒化结束后迅速冷却至 15℃。

作为更进一步地方案优化，本发明还在前述基础上添加多糖 多糖因其天然的粘稠度优势及多羟基基团的存在而具有较多的结合位点，从而与富含 β-酪蛋白的乳清蛋白具备了进一步结合的条件，它可能会进一步增强混合物的黏度特性或延缓亮氨酸的释放速率。海藻酸盐和 κ-卡拉胶在体外消化模型胃液中的粘度高于其他测试的多糖，其中 κ-卡拉胶是其他多糖的 30-50 倍。同时，在 pH7.5 的微粒化下附加多糖的效果要优于在 pH6.5 的微粒化下附加多糖的效果。

在对亮氨酸释放的分析实验中，海藻酸钾能降低微粒化富含 β-酪蛋白的乳清蛋白在体外消化过程中亮氨酸的释放速率；虽然添加 κ-卡拉胶不能显著降低微粒化富含 β-酪蛋白的乳清蛋白在肠道阶段亮氨酸释放速率，但考虑到 κ-卡拉胶会引起胃液粘度的强烈增加，因此可以预见补充 κ-卡拉胶后，乳清蛋白进入肠道的速度会更慢，将有助于延迟在体内小肠中释放出游离亮氨酸。

在消化实验中，相对于标准乳清浓缩蛋白以及市售产品及其添加多糖的对照品，本发明的经过微粒化并且附加相同多糖的乳清蛋白组合物的水解度低于各对照品的水解度，这表明了本发明乳清蛋白组合物具备更好的缓释效果；同样地，pH7.5 微粒化的实验组的效果一如既往的表现出优于 pH6.5 微粒化的实验组的效果。

作为优选，本发明所述多糖选自卡拉胶、海藻酸盐、壳聚糖、羧甲基纤维素和黄蓍胶中的一种或两种以上，多糖添加量为 0.1-0.3%；根据前述实验结果，在具体实施方式中，可添加 κ-卡拉胶和/或海藻酸钾，以期实现在不同消化道中的优异效果。

同时，本发明还提供了通过对原料乳进行工艺处理制备乳清蛋白组合物的方法，将脱脂原料乳在 0-10℃ 下低温处理（静置 10-120h，优选 10-24h），然后用不小于 20-200nm 的膜过滤，透过液通过超滤浓缩除去乳糖，获得含有乳清蛋白和 β-酪蛋白的乳清蛋白组合物。

-5-

在较低温度下 β -酪蛋白从酪蛋白胶束中释放出来富集到脱脂乳的上清中。发生原因是疏水作用的强度随着温度的降低而降低，从而使 β -酪蛋白从胶束中自由溶出并进入上清。 β -酪蛋白可以形成自己的胶束，但直径不大于 20-30nm。因此，使用 20-200nm（优选 50nm）的陶瓷膜或聚合膜足以截留酪蛋白胶束，同时允许乳清蛋白和 β -酪蛋白穿过进入透过液。然后使用超滤（10KDa）来浓缩透过液并除去乳糖，剩下的上清蛋白含有的 β -酪蛋白与乳清蛋白的比例为（4.5:95.5）-（20:80）。

SDS-PAGE 凝胶电泳结果显示，在 10°C、4°C 和 2°C 处理牛奶后得到的 β -酪蛋白与乳清蛋白的比例，使用化学发光成像仪进行估算，10°C 为 4.6:95.4；4°C 为 9.4:90.6；2°C 为 16.6:83.4。因此，本发明的制备方法可以轻松达到含有 5-20% 的 β -酪蛋白的乳清蛋白。如果要达到更高 β -酪蛋白比例的乳清蛋白组合物，可以通过复配的方式进行。

根据前述关于微粒化过程所能够带来的有益效果的描述，本发明制备方法可进一步增加微粒化的操作过程，所述微粒化为在 pH 值 6.5-9.0 下高温高速剪切，然后迅速冷却防止蛋白长时间高温变性。作为优选，所述高温为 80-100°C，所述高速剪切为 6000-20000rpm，处理时间为 3-10min。更优选为高温为 91-99°C，所述高速剪切为 8000-15000rpm，处理时间为 4-8min。其中，优选微粒化工艺参数为：pH7.5，温度 95°C，时间 5min，剪切速率 9600rpm。微粒化结束后迅速冷却至 15°C。

作为优选，所述微粒化过程为通过浓缩处理（蛋白质浓度不低于 4%）得到浓缩液，随后进行微粒化处理，进一步浓缩至总固形物含量不低于 20%，并根据需要喷干成粉、不喷成干粉或成为其他形式的组合物。

在本发明具体实施方式中，所述微粒化过程为将超滤后的截留液在 55°C 下浓缩，直至达到 5%-10% 的蛋白质浓度。通过添加 HCl 或 NaOH 将浓缩液的 pH 调至 pH7.5，并在 95°C 下处理 5min，同时进行 9600rpm 高速剪切。在该步骤之后，将微粒化的蛋白体系迅速冷却至 15°C。然后进一步浓缩至总固体含量为 20-25%，最后进行喷雾干燥（进口温度 200°C，出口温度保持在 90-100°C 之间）。

微粒化之后还可以添加多糖进行混合,所述选自卡拉胶、海藻酸盐、壳聚糖、羧甲基纤维素和黄蓍胶中的一种或两种以上,添加量为0.1-0.3%。

根据上述提供的制备方法,本发明同样提出了由所述制备方法制备获得的乳清蛋白组合物。由于本发明提供的乳清蛋白组合物具备多种缓慢消化的技术效果,并且相比市售同类产品具备更加优秀的缓慢消化效果,因此本发明还提供了乳清蛋白组合物在制备具有缓慢消化和/或缓慢释放氨基酸的乳清蛋白类产品中的应用,这些产品可以是营养补充剂、肌肉合成促进剂或一些乳制品。

因此,本发明同样提供了所述乳清蛋白组合物在制备营养补充剂、肌肉合成促进剂或乳制品中的应用,所述乳清蛋白组合物既可以是通过对原料乳进行工艺处理制备出的符合要求的混合物,如上述提到的制备工艺;同时也可以是将 β -酪蛋白和乳清蛋白按比例复配添加的混合物,或进一步微粒化和/或添加多糖的混合物。

依据上述应用,本发明提供了一种营养补充剂、肌肉合成促进剂或乳制品,产品的名称根据应用领域不同而具体确定,但作为一个共同的特征都是包含了本发明所述的乳清蛋白组合物,其他组分可以根据产品的需求添加食品上可添加的辅料和/或营养物质,营养物质包括但不限于维生素和矿物质等。

在本发明具体实施方式中,本发明提供了一种营养补充剂,其以营养棒状形式呈现,除了包含本发明所述乳清蛋白组合物,还添加有葡萄糖浆、甘油、麦芽糊精、椰子油和卵磷脂。

同时本发明还具体提供了一种乳制品,其以粉末状形式呈现,包含本发明所述乳清蛋白组合物,以及乳糖、果糖、葡萄糖、奶油、维生素、矿物质和卵磷脂。其中维生素包括但不限于维生素A、C、D、E,矿物质包括但不限于钙盐、铁盐、锌盐、镁盐,例如它们的磷酸盐或硫酸盐。

在对具体配方产品的消化实验中,本发明得出了不同食品配方对氨基酸释放速率有较强的影响的结果,其中粉状配方的亮氨酸消化速率慢于固

-7-

体棒类配方;在同种食品配方下,添加本发明乳清蛋白组合物与市售对照样品的亮氨酸释放效果接近。

由以上技术方案可知,本发明提供的乳清蛋白组合物主要由一种新颖的乳蛋白成分组成,其比市场上其他乳清蛋白具有较慢的消化特性。它是一种富含 β -酪蛋白的可附加微粒化以及复合天然多糖的乳清蛋白浓缩物,能够起到延迟消化促进肌肉合成和提供充足营养的作用。

附图说明

图1所示为本发明乳清蛋白组合物的示例性制备流程图;

图2所示为不同温度处理条件下获得本发明乳清蛋白组合物的蛋白电泳图;

图3所示为富含 β 酪蛋白的乳清蛋白组合物与对照组经人工模拟消化液后亮氨酸释放量曲线图;

图4所示为本发明乳清蛋白组合物与对照组经人工模拟消化液后亮氨酸释放量曲线图

图5所示为本发明乳清蛋白组合物配制成5%蛋白浓度溶液开展微粒化工艺时的粘度曲线图;

图6所示为未经微粒化处理的乳清蛋白组合物与对照样品经人工模拟消化液后的粘度曲线图;

图7所示为本发明乳清蛋白组合物与对照样品经人工模拟消化液后的粘度曲线图;

图8所示为本发明乳清蛋白组合物分别复合海藻酸盐和卡拉胶后经人工模拟消化液后的粘度曲线图;

图9所示为本发明乳清蛋白组合物复合海藻酸钾后经人工模拟消化液后的亮氨酸释放曲线图;

图10所示为本发明乳清蛋白组合物复合卡拉胶后经人工模拟消化液后的亮氨酸释放曲线图;

图11所示为不同温度处理条件下获得本发明乳清蛋白组合物经人工模拟消化液后的乳清蛋白残留量曲线图;

图 12 所示为本发明乳清蛋白组合物分别经人工胃液和肠液消化后的相对蛋白水解度柱状图;

图 13 所示为本发明乳清蛋白组合物经人工消化液消化前后的蛋白水解度柱状图;

5 图 14 所示为本发明乳清蛋白组合物在配方中应用后经人工模拟消化液后的亮氨酸释放量曲线图;

图 15 所示为本发明乳清蛋白组合物的非还原性 (NR) 和还原性 (R) 凝胶电泳图;

10 图 16 所示为不同复合多糖影响乳清蛋白在人工模拟消化液中的粘度曲线图;

图 17 所示为复合不同浓度卡拉胶影响乳清蛋白在人工模拟消化液中的粘度曲线图。

具体实施方式

15 本发明公开了一种乳清蛋白组合物及其制备方法和应用,本领域技术人员可以借鉴本文内容,适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是,所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的,它们都被视为包括在本发明。本发明所述乳清蛋白组合物及其制备方法和应用已经通过较佳实施例进行了描述,相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范
20 围内对本文所述的乳清蛋白组合物及其制备方法和应用进行改动或适当变更与组合,来实现和应用本发明技术。

本发明乳清蛋白组合物对标普通乳清蛋白浓缩物以及市售产品,关键内容是三项改进或它们的任意结合,即: 1) 通过低温 (0-10°C) 膜滤工艺富集了 β -酪蛋白; 2) 通过微粒化处理改善粒径分布、溶解性、稳定性、
25 粘度、亮氨酸释放等特性; 3) 特定的多糖 (κ -卡拉胶和/或海藻酸钾) 不引起胶凝现象, 但进一步提高其粘度和延缓亮氨酸释放。

在本发明中进行的对比实验中,如未特别说明,除去各组应有的区别外,其他实验条件保持一致。

以下就本发明所提供的一种乳清蛋白组合物及其制备方法和应用做

进一步说明。

实施例 1: 通过脱脂原料乳制备所述乳清蛋白组合物

1、富含 β -酪蛋白的乳清蛋白原料的生产

5 牛原奶脱脂巴杀后在较低温度下，例如 4℃ 静置处理 24h， β -酪蛋白从酪蛋白胶束中释放出来富集到脱脂乳的上清中。使用 50nm 的陶瓷膜或聚合膜截留酪蛋白胶束，同时允许乳清蛋白和 β -酪蛋白穿过进入透过液。然后使用 10KDa 超滤来浓缩透过液并除去乳糖，剩下的上清蛋白为富含 β -酪蛋白的乳清蛋白原料；示例性的流程图参见图 1。

10 2、微粒化

将步骤 1 中的截留液在 55℃ 下浓缩，直至达到 5% 的蛋白质浓度。通过添加 1M HCl 或 40%NaOH 将浓缩物的 pH 调至 pH7.5，并在 95℃ 下处理 5min，同时进行高速 9600rpm 剪切。在该步骤之后，将微粒化的蛋白体系迅速冷却至 15℃。然后进一步浓缩至总固体含量为 20-25%，最后进行喷雾干燥（进口温度 200℃，出口温度保持在 90-100℃ 之间）。15

3、添加多糖

通过实验确定了提高上述原料在胃消化阶段粘度的最佳多糖种类和添加比例。0.3% 的 κ -卡拉胶在胃部具有最大的粘度，而 0.3% 的海藻酸盐也能增加粘度并在整个肠道的消化过程中得以保持。最终发现 pH7.5 下微粒化的复合了多糖的乳清蛋白展现出与乳清浓缩蛋白不同的优异缓释效果。20

实施例 2: 不同温度下获得的富含 β -酪蛋白的乳清蛋白原料

按照实施例 1 步骤 1 的方式，调整温度为 10℃、4℃ 和 2℃ 处理牛奶后获得富含 β -酪蛋白的乳清蛋白原料。使用化学发光成像仪进行估算 β -酪蛋白和乳清蛋白的比例，结果见图 2；25

由图 2 可以明显看出，10℃ 为 4.6 : 95.4；4℃ 为 9.4 : 91.6；2℃ 为 16.6 : 83.4。因此，本发明在 2-10℃ 低温下可以轻松达到 4.5:94.5-17:83 范

-10-

国内的乳清蛋白组合物，同时可以预期在 0-10℃ 可以获得 4.5:94.5-20:80 范围内的乳清蛋白组合物。

实施例 3: 富含 β -酪蛋白乳清蛋白的体外消化

5 实验目的: 研究 β -酪蛋白蛋白和乳清蛋白消化前后的变化, 选出亮氨酸释放速率低的蛋白原料。

实验方法: 用相关的消化酶按照标准静态体外消化法将目标蛋白酶解, 使用岛津 LCMS 2010 EV 系统检测消化后消化液中亮氨酸的含量。

实验分组:

10 对照组: WPC-乳清浓缩蛋白 (WPC392, 恒天然);
WXR-WheyXR, 市售商品;

实验组 1: BCNWP6.5-膜滤生产的含 β -酪蛋白调节 pH6.5 时的乳清样品 (按实施例 1 步骤 1 方法制备);

15 实验组 2: BCNWP7.5-膜滤生产的含 β -酪蛋白调节 pH7.5 时的乳清样品 (按实施例 1 步骤 1 方法制备);

实验组 3: ComBCNWP7.5- β -酪蛋白和乳清蛋白 WPC392 混合 (10:90) 调节 pH7.5 后生产的乳清样品;

20 结果见图 3, 2 个对照样品亮氨酸在肠液消化 120-240min 后达到了 1.4-1.6mM, 而 3 个实验组在肠液消化阶段酶解后释放出的亮氨酸仅有 0.2-0.4mM, 表示 3 个实验组消化速率要更低。

实施例 4: 富含 β -酪蛋白乳清蛋白的体外消化

实验目的: 比较 β -酪蛋白蛋白对微粒化与未微粒化乳清蛋白消化速率的影响。

25 实验方法: 用相关的消化酶按照标准静态体外消化法将目标蛋白酶解, 使用岛津 LCMS 2010 EV 系统检测消化后消化液中亮氨酸的含量。

实验分组:

对照组: WPC: 乳清浓缩蛋白 (WPC392, 恒天然);

实验组 1: MWP6.5: 在 pH6.5 下微粒化的乳清浓缩蛋白;

-11-

实验组 2: MWP7.5: 在 pH7.5 下微粒化的乳清浓缩蛋白;

实验组 3: MBCNWP6.5: 在 pH6.5 时微粒化的富含 β -酪蛋白的乳清原料 (按实施例 1 步骤 1-2 方法制备);

实验组 4: MBCNWP7.5: 在 pH7.5 时微粒化的富含 β -酪蛋白的乳清原料 (按实施例 1 步骤 1-2 方法制备);

实验组 5: ComBCNWP7.5- β -酪蛋白和乳清蛋白 WPC392 混合后 (10:90) 在 pH7.5 时微粒化的富含 β -酪蛋白的乳清样品;

结果见图 4, 实验组 1 和 2 比对照组的亮氨酸释放速率快, 说明微粒化能加速乳清蛋白的消化; 实验组 3 和 4 比实验组 1 和 2 的消化速率要慢, 表明 β -酪蛋白能降低微粒化乳清蛋白的消化速率; 实验组 5 与实验组 3 和 4 的氨基酸释放速率接近, 表明将 β -酪蛋白与乳清蛋白按实验组 3 和 4 中的比例混合后, 也能达到缓慢释放亮氨酸的效果。

实施例 5: 不同酪蛋白含量的乳清蛋白样品粘度实验

实验目的: 在胃液中 “变稠” 的食物往往会延迟胃排空, 可能导致消化明显延迟。比较样品与对照组的粘度, 从而得出延缓消化的样品种类。

实验方法: 配制 5% 总蛋白含量的溶液, 使用 MCR301 流变仪和锥板检测蛋白总浓度为 5% 时相同条件下 180 秒内的粘度, 随后开展 2h 的模拟人工胃液消化实验。

实验分组:

对照组: WPI6.5/7.5 (乳清分离蛋白, 恒天然 WPI895, 该实验内为同种 WPI): 表示在 pH6.5/7.5 时微粒化的乳清分离蛋白。

实验组 1: 15/6.5 和 15/7.5 表示脱脂乳在 15℃ 保持 24h 后制得的样品溶液分别在 pH6.5/7.5 时微粒化的乳清蛋白样品, 其中 β -酪蛋白与乳清蛋白比例约 4:96。

实验组 2: 10/6.5 和 10/7.5 表示脱脂乳在 10℃ 保持 24h 后制得的样品溶液分别在 pH6.5/7.5 时微粒化的乳清蛋白样品, 其中 β -酪蛋白与乳清蛋白比例约 5:95。

- 12 -

实验组 3: 4/6.5 和 4/7.5 表示脱脂乳在 4℃ 保持 24h 后制得的样品溶液分别在 pH6.5/7.5 时微粒化的乳清蛋白样品, 其中 β -酪蛋白与乳清蛋白比例约 10:90。

实验结果见图 5, 相对于对照样品 WPI, 实验组样品均具有较高的粘度。脱脂乳保存的温度越低, 在配制成 5% 的蛋白溶液中的粘度相对越高。调节的两个 pH 水平下, pH7.5 的蛋白溶液的粘度更高。

实施例 6: 富含 β -酪蛋白的乳清蛋白样品粘度实验

实验目的: 明确微粒化对粘度的影响。

10 实验方法: 使用 MCR301 流变仪和锥板检测在人工模拟胃液和肠液的粘度。

实验分组:

对照组 1: WPC (乳清浓缩蛋白, 恒天然 WPC392); WXR, WheyRX, 一种竞品;

15 对照组 2: MW, 胶束乳清;

对照组 3: MWP6.5、MWP7.5 分别在 pH6.5 或 7.5 下微粒化的乳清蛋白 WPC392;

实验组 1: BCNWP6.5 和 BCNWP7.5 分别表示膜滤生产的含 β -酪蛋白调节 pH6.5 和 pH7.5 时的乳清样品 (按实施例 1 步骤 1 方法);

20 实验组 2: MBCNWP6.5、MBCNWP7.5 表示分别在 pH6.5 或 7.5 下微粒化的富含 β -酪蛋白的乳清蛋白 (按实施例 1 步骤 1-2 方法制备);

实验结果见图 6 和图 7, 微粒化的实验组 2 在胃液中的粘度显著高于未微粒化的实验组 1 的粘度。实验组 2 中 pH7.5 的微粒化原料在胃液中的粘度明显高于 pH6.5 的微粒化原料。

25

实施例 7: 添加多糖原料体外消化实验--粘度测试

实验目的: 明确多糖对粘度提升的作用。

实验方法: 按 0.3% w/w 的比例添加多糖混合均匀后, 使用 MCR301 流变仪和锥板检测在人工模拟胃液和肠液的粘度。

- 13 -

实验分组:

对照组 1: WXR+ALG: 商品 WXR+海藻酸钾;

对照组 2: WXR+KCG: 商品 WXR+ κ -卡拉胶;

5 实验组 1: MBCNWP6.5+ALG: pH6.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清+海藻酸钾 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备);

实验组 2: MBCNWP7.5+ALG: pH7.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清+海藻酸钾 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备);

实验组 3: MBCNWP6.5+KCG: pH6.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清+ κ -卡拉胶 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备);

10 实验组 4: MBCNWP7.5+KCG: pH7.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清+ κ -卡拉胶 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备);

实验结果将图 8, 实验组 2 和实验组 4 pH7.5 时与多糖形成复合物, 比 pH6.5 复合多糖已经对照组的粘度高。

15 **实施例 8:** 添加多糖原料体外消化实验--氨基酸释放

实验目的: 明确筛选出的两种对亮氨酸释放速率的作用。

实验方法: 按 0.3% w/w 的比例添加多糖混合均匀后, 用相关的消化酶按照标准静态体外消化法将目标蛋白酶解, 使用岛津 LCMS 2010 EV 系统检测消化后消化液中亮氨酸的含量。

20 实验分组:

对照组 1: WPC (乳清浓缩蛋白, 恒天然 WPC392);

实验组 1: MBCNWP6.5: pH6.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清 (按实施例 1 步骤 1-2 方法制备);

25 实验组 2: MBCNWP7.5: pH7.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清 (按实施例 1 步骤 1-2 方法制备);

实验组 3: MBCNWP6.5+ALG: pH6.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清+海藻酸钾 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备);

实验组 4: MBCNWP7.5+ALG: pH7.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清+海藻酸钾 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备);

- 14 -

实验组 5: MBCNWP6.5+KCG: pH6.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清+ κ -卡拉胶 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备);

实验组 6: MBCNWP7.5+KCG: pH7.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清+ κ -卡拉胶 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备);

5 实验结果显示, 海藻酸钾能降低微粒化富含 β -酪蛋白的乳清蛋白在体外消化过程中氨基酸的释放速率 (图 9)。

虽然添加 κ -卡拉胶不能显著降低富含 β -酪蛋白的微粒乳清蛋白在肠道阶段亮氨酸释放速率 (图 10), 但考虑到 κ -卡拉胶会引起胃液粘度的强烈增加, 因此可以预见补充 κ -卡拉胶后, 乳清蛋白进入肠道的速度
10 会更慢, 将有助于延迟在体内小肠中释放出游离亮氨酸。

实施例 9: 消化实验--乳清蛋白中 β -乳球蛋白残余量分析

实验目的: 比较消化程度, 鉴别缓慢消化的快慢能力。

实验方法: 配制 10%总蛋白含量的溶液, 然后进行体外消化。使用
15 体积排阻 (SCE-HPLC) 和反相高效液相色谱法 (RP-HPLC) 测定消化前、胃液消化后和肠液消化后的 β -乳球蛋白残留量。

实验分组:

对照组: WPI6.5/7.5 (乳清分离蛋白, 恒天然 WPI895, 该试验内为同种 WPI): 表示在 pH6.5/7.5 时微粒化的乳清分离蛋白。

20 实验组 1: 15/6.5 和 15/7.5 表示脱脂乳在 15℃ 保持至少 10h 后制得的样品溶液分别在 pH6.5/7.5 时微粒化的乳清蛋白样品, 其中 β -酪蛋白与乳清蛋白比例约 4:96 (按实施例 1 步骤 1-2 方法制备, 温度、低温处理时间和 pH 参数对应改变)。

实验组 2: 10/6.5 和 10/7.5 表示脱脂乳在 10℃ 保持至少 10h 后制得的
25 的样品溶液分别在 pH6.5/7.5 时微粒化的乳清蛋白样品, 其中 β -酪蛋白与乳清蛋白比例约 5:95 (按实施例 1 步骤 1-2 方法制备, 温度、低温处理时间和 pH 参数对应改变)。

实验组 3: 4/6.5 和 4/7.5 表示脱脂乳在 4℃ 保持至少 10h 后制得的样品溶液分别在 pH6.5/7.5 时微粒化的乳清蛋白样品, 其中 β -酪蛋白与乳清

-15-

蛋白比例约 10:90（按实施例 1 步骤 1-2 方法制备，温度、低温处理时间和 pH 参数对应改变）。

实验结果见图 11，随着温度的降低， β -酪蛋白：乳清蛋白的比例变高，经体外消化后乳清蛋白中未消化的 β -乳球蛋白的比例逐渐升高。这说明较高的 β -酪蛋白比例的实验组可比与标准乳清蛋白对照组表现出更慢的消化速度。

比照标准乳清蛋白对照组（WPI/6.5 和 WPI/7.5）中的剩余量， β -酪蛋白与乳清蛋白比例约 5:95（严格来说为 4.6:95.4）的乳清蛋白组合物或 β -酪蛋白吧比例更高的组合物会在消化终点比对照组剩余较多的 β -乳球蛋白，因此在本发明乳清蛋白组合物中 β -酪蛋白与乳清蛋白的质量比不低于 4.6:95.4 的情况下，可以表现出更慢的消化速度。

实施例 10：消化实验--水解度分析 1

实验目的：比较水解度，鉴别缓慢消化的快慢能力。

实验方法：对分别用胃液和肠液消化后的蛋白按照 J. Adler-Nissen（1979）方法进行水解度检测。

实验分组：

对照组 1：WXR+ALG-G/I：商业 WXR+0.3%海藻酸钾分别经人工模拟胃液/肠液消化。

对照组 2：WXR+KCG-G/I：商业 WXR+0.3% κ -卡拉胶分别经人工模拟胃液/肠液消化。

实验组 1：MBCNWP6.5+ALG-G/I：pH6.5 时微粒化富含 β -酪蛋白的乳清蛋白添加 0.3%海藻酸钾（按实施例 1 步骤 1-3 方法制备），经人工模拟胃液和肠液消化。

实验组 2：MBCNWP7.5+ALG-G/I：pH7.5 时微粒化富含 β -酪蛋白的乳清蛋白添加 0.3%海藻酸钾（按实施例 1 步骤 1-3 方法制备），经人工模拟胃液和肠液消化。

-16-

实验组 3: MBCNWP6.5+KCG-G/I: pH6.5 时微粒化富含 β -酪蛋白的乳清蛋白添加 0.3% κ -卡拉胶（按实施例 1 步骤 1-3 方法制备），经人工模拟胃液和肠液消化。

实验组 4: MBCNWP7.5+KCG-G/I: pH7.5 时微粒化富含 β -酪蛋白的乳清蛋白添加 0.3% κ -卡拉胶（按实施例 1 步骤 1-3 方法制备），经人工模拟胃液和肠液消化。

实验结果见图 12，实验组 1、2 在胃液中的水解度在 30%左右，加 ALG 对照组在胃液中的水解度超过 35%，同时实验组 1、2 在肠液中的水解度在 40%左右，加 ALG 对照组在肠液中的水解度接近 55%；实验组 3、4 样品在胃液中的水解度也在 30%左右，加 KCG 对照组的胃液水解度超过 35%，同时实验组 3、4 在肠液中的水解度在 40%左右，而加 KCG 对照组在肠液中的水解度接近 50%，表明实验组 1、2、3、4 的缓释效果比较突出；实验组 1、2、3、4 中 pH7.5 时微粒化的样品的水解度低于 pH6.5 时的水解度，表明 pH7.5 微粒化样品缓释效果更好。

15 ,

实施例 11: 消化实验--水解度分析 2

实验目的: 比较水解度，鉴别缓慢消化的快慢能力。

实验方法: 对依次经胃液和肠液消化后的蛋白按照 J. Adler-Nissen (1979) 介绍的三硝基苯磺酸 (TNBS) 方法进行水解度检测。

20 实验分组:

对照组 1: WPC (乳清浓缩蛋白, 恒天然 WPC392);

对照组 2: WXR (WheyRX, 一种竞品);

实验组 1: MBCNWP6.5+ALG: pH6.5 时微粒化富含 β -酪蛋白的乳清蛋白添加 0.3%海藻酸钾（按实施例 1 步骤 1-3 方法制备），经人工模拟消化液消化。

实验组 2: MBCNWP7.5+ALG: pH7.5 时微粒化富含 β -酪蛋白的乳清蛋白添加 0.3%海藻酸钾（按实施例 1 步骤 1-3 方法制备），经人工模拟消化液消化。

实验组 3: MBCNWP6.5+KCG: pH6.5 时微粒化富含 β-酪蛋白的乳清蛋白添加 0.3% κ-卡拉胶 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备), 经人工模拟消化液消化。

实验组 4: MBCNWP7.5+KCG: pH7.5 时微粒化富含 β-酪蛋白的乳清蛋白添加 0.3% κ-卡拉胶 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备), 经人工模拟消化液消化。

实验结果见图 13, 实验组 1、2、3、4 样品的水解度均未超过 41%, 对照组 1 的水解度超过了 44%, 对照组 2 的水解度超过了 42%, 表明实验组 1、2、3、4 的缓释效果比较突出; 实验组 1、2、3、4 中 pH7.5 时微粒化的样品的水解度低于 pH6.5 时的水解度, 表明 pH7.5 微粒化样品缓释效果更好。

实施例 12: 样品添加到配方后的消化实验--氨基酸释放

实验目的: 明确不同配方形式对消化速率的影响。

实验方法 按如下表 1 配方配制出终产品, 用相关的消化酶按照标准静态体外消化法将目标蛋白酶解, 使用岛津 LCMS 2010 EV 系统检测消化后消化液中亮氨酸的含量。

表 1

粉 (每 100 g) P1		固体棒 (每 60 g) P2	
成分	含量 (%)	成分	含量 (%)
蛋白质(MBCNWP7.5 /WXR)	28.1	蛋白质(MBCNWP7.5/ WXR)	46
K-卡拉胶	0.3	葡萄糖浆	27
乳糖	26.3	甘油	17
糖 (果糖 42%+葡萄糖)	26.6	麦芽糊精, DE ~ 17	3.5
脂肪 (奶油)	10	椰子油	5
维生素 维生素 C 维生素 E (生育酚)	1	K-卡拉胶	0.3

维生素 A			
维生素 D			
矿物质: 磷酸钙 硫酸亚铁 硫酸锌 硫酸镁	3	卵磷脂	0.5
卵磷脂	0.5	水	0.7
水 (包含在粉末中)	4-5		

实验分组:

对照组 1: P1+WXR: 粉状配方 P1 添加商品 WXR 缓慢释放乳清原料;

5 对照组 2: P2+WXR: 固体棒类配方 P2 添加商品 WXR 缓慢释放乳清原料;

实验组 1: P1+MBCNWP7.5: 粉状配方 P1 添加 pH7.5 微粒化富含 β -酪蛋白乳清原料添加 0.3% κ -卡拉胶 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备);

实验组 2: P2+MBCNWP7.5: 固体棒类配方+ pH7.5 微粒化富含 β -酪蛋白乳清原料添加 0.3% κ -卡拉胶 (按实施例 1 步骤 1-3 方法制备)。

10 实验结果见图 14, 不同食品配方对氨基酸释放速率有较 强的影响, 粉状配方的消化速率慢于固体棒类配方; 同种食品配方下, 添加本发明乳清蛋白组合物与 WXR 对照样品的亮氨酸释放效果接近。

15 **实施例 13:** 不同蛋白样品的非还原 (NR) 和还原 (R) SDS-PAGE 凝胶电泳实验

实验分组:

1、牛奶;

2、由 1 组牛奶分离的乳清蛋白;

20 3、由 2 组乳清蛋白制备的富含 β -酪蛋白的乳清蛋白 (超滤/渗滤后截留液, 总固形物浓度为 0.2%);

4、pH6.5 微粒化乳清蛋白（同 2 组乳清蛋白）；

5、pH7.5 微粒化乳清蛋白（同 2 组乳清蛋白）；

6、pH6.5 微粒化富含 β -酪蛋白的乳清蛋白（同 3 组乳清蛋白，总固形物浓度为 10 %）；

5 7、pH7.5 微粒化富含 β -酪蛋白乳清蛋白（同 3 组乳清蛋白，浓度为 10 %总固形物）；

8、pH6.5 微粒化富含 β -酪蛋白乳清蛋白（同 6 组，粉末）；

9、pH7.5 微粒化富含 β -酪蛋白乳清蛋白（同 7 组，粉末）。

10 结果见图 15，非还原性（NR）凝胶电泳仅显示没有与其他蛋白聚集的蛋白，而还原性（R）凝胶电泳由于蛋白间聚合反应被破坏了从而其条带能够显示所有蛋白。泳道 4、6、8 是在 pH6.5 时微粒化的，在非还原性凝胶中底部条带（代表 α -乳白蛋白）几乎与未微粒化的对照样品的泳道 3 相同。而底部起第二个条带（代表 β -乳球蛋白）几乎消失，表明 β -乳球蛋白在微粒化处理后几乎完全聚集。

15 泳道 5、7、9 是在 pH7.5 时微粒化的（底部条带变得模糊不清，第二条带的程度相比泳道 4、6、8 的稍强，表明更多 α -乳白蛋白、更少 β -乳球蛋白被聚集。因此该图能观察使用两种 pH 进行乳清蛋白微粒化的不同机制。

20 **实施例 14：**乳清蛋白添加不同多糖后在人工模拟消化液中的粘度试验

25 在人工胃液（无酶）中，检测蛋白浓度为 8%并添加 0.2%或 0.3%重量百分比选定多糖的 WPC392（WP）蛋白溶液的粘度。其中，ALG-海藻酸钾；CMC-羧甲基纤维素；TGH-黄蓍胶；XTH-黄原胶，Temp-温度，GJ-人工胃液，结果见图 16。

同时，在人工胃液（无酶）中，检测蛋白浓度为 8%并添加 0.1-0.3%重量百分比卡拉胶的 WPC392 蛋白溶液的粘度，Pure 表示 0.1%重量百分比的卡拉胶，结果见 17。

—20—

综合图 16 和图 17 可以明显看出， κ -卡拉胶在体外消化模型胃液中的粘度明显高于其他测试的多糖，大约是其他多糖的 30-50 倍。而海藻酸钾在体外消化模型胃液中的粘度也明显高于其他测试的多糖。

- 5 以上所述仅是本发明的优选实施方式，应当指出，对于本技术领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明原理的前提下，还可以做出若干改进和润饰，这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

权 利 要 求

1、一种乳清蛋白组合物，其特征在于，包括乳清蛋白和 β -酪蛋白，其中 β -酪蛋白与乳清蛋白的质量比不低于4.5:95.5。

5 2、根据权利要求1所述乳清蛋白组合物，其特征在于，所述 β -酪蛋白与乳清蛋白的质量比为(4.5:95.5) - (50:50)。

3、根据权利要求1或2所述乳清蛋白组合物，其特征在于，所述乳清蛋白组合物为微粒化后的乳清蛋白组合物。

10 4、根据权利要求3所述乳清蛋白组合物，其特征在于，所述微粒化为在pH值6.5-9.0下高温高速剪切。

5、根据权利要求1-4任意一项所述乳清蛋白组合物，其特征在于，还包括添加多糖。

15 6、根据权利要求5所述乳清蛋白组合物，其特征在于，所述多糖选自卡拉胶、海藻酸盐、壳聚糖、羧甲基纤维素和黄蓍胶中的一种或两种以上。

7、一种乳清蛋白组合物的制备方法，其特征在于，脱脂原料乳在0-10℃下低温处理，然后用不小于20nm的膜过滤，透过液通过超滤浓缩除去乳糖，获得含有乳清蛋白和 β -酪蛋白的乳清蛋白组合物。

20 8、根据权利要求7所述制备方法，其特征在于，还包括将所述乳清蛋白组合物进行微粒化。

9、根据权利要求8所述制备方法，其特征在于，所述微粒化为在pH值6.5-9.0下高温高速剪切。

10、根据权利要求7-9任意一项所述制备方法，其特征在于，还包括添加多糖。

25 11、权利要求10所述制备方法，其特征在于，所述多糖选自卡拉胶、海藻酸盐、壳聚糖、羧甲基纤维素和黄蓍胶中的一种或两种以上。

12、权利要求7-11所述制备方法制备的乳清蛋白组合物。

13、权利要求1-6任意一种乳清蛋白组合物或权利要求12所述乳清蛋白组合物在制备营养补充剂、肌肉合成促进剂或乳制品中的应用。

14、权利要求 1-6 任意一种乳清蛋白组合物或权利要求 12 所述乳清蛋白组合物在制备具有缓慢消化和/或缓慢释放氨基酸的乳清蛋白类产品中的应用。

15、一种营养补充剂、肌肉合成促进剂或乳制品，其特征在于，包含
5 权利要求 1-6 任意一种乳清蛋白组合物或权利要求 12 所述乳清蛋白组合物，以及食品上可添加的辅料和/或营养物质。

16、根据权利要求 15 所述营养补充剂、肌肉合成促进剂或乳制品，
其特征在于，其为营养棒，包含权利要求 1-6 任意一种乳清蛋白组合物或
权利要求 12 所述乳清蛋白组合物，以及葡萄糖浆、甘油、麦芽糊精、椰
10 子油和卵磷脂。

17、根据权利要求 15 所述营养补充剂、肌肉合成促进剂或乳制品，
其特征在于，其为粉状乳制品，包含权利要求 1-6 任意一种乳清蛋白组合物或权利要求 12 所述乳清蛋白组合物，以及乳糖、果糖、葡萄糖、奶油、
维生素、矿物质和卵磷脂。