

分 类 号: R151.3

单位代码: 10183

研究生学号: 2016722032

密 级: 公 开



吉 林 大 学

硕士学位论文

(学术学位)

人乳和牛乳、羊乳中蛋白质质量的对比研究
Comparative study on protein quality of human milk,
cow milk and goat milk

作者姓名: 武立萌

专 业: 营养与食品卫生学

研究方向: 营养素评价

指导教师: 刘 娅 教授

培养单位: 公共卫生学院

2019 年 5 月

吉林大学硕士学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交学位论文，是本人在指导教师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：武立朝

日期：2019 年 6 月 12 日

关于学位论文使用授权的声明

本人完全了解吉林大学有关保留、使用学位论文的规定，同意吉林大学保留或向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅；本人授权吉林大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文和汇编本学位论文。

（保密论文在解密后应遵守此规定）

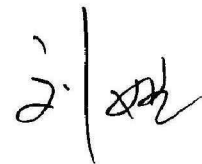
论文级别：■硕士 □博士

学科专业：营养与食品卫生学

论文题目：人乳和牛乳、羊乳中蛋白质质量的对比研究

作者签名：武立朝

指导教师签名：



2019 年 6 月 12 日

人乳和牛乳、羊乳中蛋白质质量的对比研究
Comparative study on protein quality of human milk,
cow milk and goat milk

作者姓名：武立萌

专业名称：营养素评价

指导教师：刘娅教授

学术类别：医学硕士

答辩日期：2019 年 5 月 25 日

中文摘要

人乳和牛乳、羊乳中蛋白质质量的对比研究

目的:

本研究通过比较人乳和牛乳、羊乳中蛋白质质量,检测不同乳源中蛋白质含量、特殊蛋白含量、必需及非必需氨基酸水平、模式及评分的差异,为评价不同乳源蛋白质质量提供基础检测数据,为婴儿配方食品最佳乳源的选择提供理论参考,也为修订我国婴儿配方食品标准提供依据。

方法:

根据居民膳食结构特点和牛乳、羊乳的乳源主产地,进行布点采样。其中收集 96 例人乳样本来自我国的成都市、郑州市、牡丹江市、北京市、南京市和广州市,12 例牛乳样本来自内蒙古某牧场,12 例羊乳样本来自陕西某牧场。

通过自行设计的问卷,调查乳母基础信息和乳样采集的基本情况。乳样检测:①利用国标法检测不同乳源的总蛋白及 18 种氨基酸含量。②通过高效液相色谱—串联质谱法检测乳样的乳铁蛋白、 α -乳白蛋白和 β -酪蛋白含量。运用 SPSS 24.0 统计学软件对所检测数据进行统计分析。

结果:

1.本研究调查总人数共 96 人,取人乳样品 96 份。乳母年龄范围为 22~32 岁,符合纳入和排除标准。各城市之间,总蛋白质含量范围 $1034.00 \pm 40.37 \sim 1159.00 \pm 104.29 \text{mg}/100\text{g}$,人乳铁蛋白含量最高的是牡丹江市 ($83.01 \pm 16.98 \text{mg}/100\text{g}$),含量最低的是北京市 ($62.46 \pm 8.77 \text{mg}/100\text{g}$);人乳 α -乳白蛋白含量最高的是牡丹江市 ($356.82 \pm 61.29 \text{mg}/100\text{g}$),最低的是广州市 ($298.10 \pm 29.67 \text{mg}/100\text{g}$);人乳 β -酪蛋白含量最高的是北京市 ($452.44 \pm 25.18 \text{mg}/100\text{g}$),最低的是广州市 ($338.10 \pm 112.86 \text{mg}/100\text{g}$)。乳母分娩前 BMI 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),总蛋白和特殊蛋白的含量及其他调查指标不具有差异 ($P > 0.05$)。

2. 不同乳源中，总蛋白含量最高是牛乳（3415.00mg/100g），最低是人乳（1125.00mg/100g）。乳铁蛋白含量最高是人乳（72.70mg/100g），最低是羊乳（4.64mg/100g）。 α -乳白蛋白含量最高是人乳（345.75mg/100g），最低是羊乳（157.10 mg/100g）。 β -酪蛋白含量最高是羊乳（1423.16 mg/100g），最低是人乳（425.85 mg/100g）。牛乳的 β -酪蛋白存在两种基因型即 A₁ 型和 A₂ 型，分别为 518.44 mg/100g、428.87 mg/100g，不同乳源总蛋白、乳铁蛋白、 α -乳白蛋白和 β -酪蛋白的含量差异具有统计学意义（ $P<0.05$ ），经两两比较，牛乳和羊乳的 α -乳白蛋白的差异不具有统计学意义（ $P>0.05$ ）。

3. 人乳总氨基酸的含量最高的是郑州市（ $11.04\pm 1.37\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ），最低的是广州市（ $7.69\pm 1.13\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ）。人乳氨基酸含量最高的是谷氨酸，最低的是色氨酸。不同乳源之间，总氨基酸的含量由高到低依次为牛乳（ $32.91\pm 2.06\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ）、羊乳（ $30.66\pm 2.78\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ）、人乳（ $10.25\pm 1.79\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ）。18 种氨基酸含量差异均具有统计学意义（ $P<0.05$ ）。但经两两比较，牛乳和羊乳的缬氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、脯氨酸、半胱氨酸含量差异不具有统计学意义（ $P>0.05$ ）。

4. 不同乳源的氨基酸模式与人体所需的氨基酸模式相近。人乳和牛乳、羊乳的氨基酸评分分别为 6.39、15.07 和 14.61，其中，人乳更符合婴儿所需（8.5）。

结论：

1. 人不同乳源之间总蛋白和特殊蛋白含量存在统计学差异，其中，人乳中的总蛋白和 β -酪蛋白含量最低，乳铁蛋白和 α -乳白蛋白含量最高，但人乳中总蛋白和特殊蛋白的含量无地域差异。

2. 不同乳源的总氨基酸含量由高到低为牛乳>羊乳>人乳。三种乳源的氨基酸模式与人体所需的氨基酸模式相近。

3. 人乳的氨基酸评分符合婴儿营养需求，其次是羊乳、牛乳。

关键词：

蛋白质，氨基酸模式，氨基酸评分

Abstract

Comparative study on protein quality of human milk, cow milk and goat milk

Objective:

In order to assess difference among human milk, cow milk and goat milk, this study evaluated protein content, specific protein content, essential and non-essential amino acid levels, patterns and scores in different milk sources. The data provided a reference for the selection of the optimal milk source for infant formula, and also provided a basis for the revision of China's infant formula standards.

Methods:

According to the characteristics of residents' dietary structure and the main milk source of cow milk and goat milk, sampling points were taken. This study collected 96 human milk from Chengdu, Zhengzhou, Mudanjiang, Beijing, Nanjing and Guangzhou, 12 cow milk from Neimenggu, and 12 goat milk from Shanxi.

The information of the lactating mother and the basic situation of the milk sample were collected using self-designed questionnaire. The amount of total protein and 18 amino acids among different milk sources were detected by national standard method. The level of lactoferrin, α -lactalbumin and β -casein were measured using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. All data were analyzed using SPSS 24.0 statistical software.

Results:

1. This study included 96 individuals and human milk. The age range of lactating mother was from 22 to 32 years, which met the inclusion and exclusion criteria. The total protein content ranged from 1034.00 ± 40.37 to 1159.00 ± 104.29 mg/100g among cities, the highest of which was from Mudanjiang (83.01 ± 16.98 mg/100g) and the lowest was from Beijing (62.46 ± 8.77 mg/100g); The

highest content of human milk α -lactalbumin was Mudanjiang ($356.82 \pm 61.29 \text{ mg}/100\text{g}$), and the lowest was Guangzhou ($298.10 \pm 29.67 \text{ mg}/100\text{g}$); the highest content of human milk β -casein was Beijing ($452.44 \pm 25.18 \text{ mg}/100\text{g}$), the lowest was Guangzhou ($338.10 \pm 112.86 \text{ mg}/100\text{g}$). This study just showed that BMI was significant difference in different cities ($P < 0.05$). However, There was no significant difference in total protein and specific protein in different cities ($P > 0.05$).

2. Among the different milk sources, The highest total protein content was $3415.00 \text{ mg}/100\text{g}$ in cow milk, the lowest was $1125.00 \text{ mg}/100\text{g}$ in human milk, the highest lactoferrin content was $72.70 \text{ mg}/100\text{g}$ in human milk, and the lowest was $4.64 \text{ mg}/100\text{g}$ in goat milk. The highest content of β -casein was $1432.16 \text{ mg}/100\text{g}$ of goat milk, and the lowest was $425.85 \text{ mg}/100\text{g}$ of human milk. There were two genotypes of β -casein in cow's milk, namely A_1 and A_2 , and the level were $518.44 \text{ mg}/100\text{g}$ and $428.87 \text{ mg}/100\text{g}$, respectively. The levels of total protein, lactoferrin, α -lactalbumin and β -casein were statistically significant among human milk, cow milk and goat milk ($P < 0.05$). The difference of α -lactalbumin between milk and goat milk was not statistically significant ($P > 0.05$).

3. In human milk, the highest total amino acid content was $11.04 \pm 1.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ in Zhengzhou and the lowest was $7.69 \pm 1.13 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ in Guangzhou. Among them, the highest amino acid content was glutamic acid, and the lowest amino acid content was tryptophan. In different milk sources, the total amino acid content from high to low is milk ($32.91 \pm 2.06 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), goat milk ($30.66 \pm 2.78 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), human milk ($10.25 \pm 1.79 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$). The 18 amino acid contents were statistically significant in human milk, cow milk and goat milk ($P < 0.05$). The difference between proline, phenylalanine, tryptophan, proline and cysteine in cow milk and goat milk was not statistically significant ($P > 0.05$).

4. The amino acid patterns from different milk sources were similar to human requirement. The amino acid scores of human milk, cow milk and goat milk were 6.39, 15.07 and 14.61, respectively, and human milk was more suitable for infants (8.5).

Conclusion

1. Although there is a difference in milk source between total protein and specific protein content, no geographical difference in human milk. Among them, total protein and β -casein content in human milk are the lowest, lactoferrin and α -lactalbumin are the highest,

2. In different milk sources, the contents of total amino acids was cow milk > goat milk > human milk. The amino acid patterns of human milk, cow milk and goat milk were all similar to human requirement.

3. The amino acid score of human milk met the nutritional requirements of infants, followed by goat milk and cow milk.

Key words:

Protein, Amino acid pattern, Amino acid score

目 录

第一章 绪 论	1
1.1 人乳主要成分及母乳喂养现状概述	1
1.1.1 人乳中主要成分及功能	1
1.1.2 母乳喂养的现状	2
1.2 乳中主要特殊蛋白研究进展	2
1.2.1 α -乳白蛋白的结构与功能	3
1.2.2 乳铁蛋白 (Lactoferrin, LF) 的结构与功能	4
1.2.3 β -酪蛋白的结构与功能	5
1.2.4 乳中特殊蛋白的研究进展	6
1.3 乳中氨基酸营养评价的研究进展	6
1.3.1 氨基酸的分类	7
1.3.2 氨基酸的作用	7
1.3.3 氨基酸营养价值的评价方法	8
1.3.4 乳中氨基酸的研究进展	8
1.4 乳蛋白与氨基酸相互作用	9
1.5 本课题的主要目的及意义	10
第二章 材料与方法	12
2.1 样本采集	12
2.1.1 人乳采集	12
2.1.2 牛乳采集	12
2.1.3 羊乳采集	12
2.2 试剂及器材	13
2.2.1 试验试剂	13
2.2.2 仪器与器材	14
2.3 实验方法	14

2.3.1 调查问卷	14
2.3.2 总蛋白含量检测	14
2.3.3 特殊蛋白含量检测	15
2.3.4 氨基酸含量的检测	16
2.4 统计方法.....	17
第三章 结 果	18
3.1 一般情况.....	18
3.1.1 不同乳源的采样信息	18
3.1.2 乳母基本情况	18
3.2 人乳和牛乳、羊乳中蛋白质质量的综合评价	20
3.2.1 不同乳源中总蛋白和特殊蛋白的含量	20
3.2.2 人乳和牛乳、羊乳的氨基酸含量	23
3.2.3 人乳和牛乳、羊乳的氨基酸模式	27
3.2.4 人乳和牛乳、羊乳的氨基酸评分	29
第四章 讨 论	30
4.1 不同乳源中总蛋白质及特殊蛋白含量比较分析	30
4.2 不同乳源中氨基酸含量、模式及评分比较分析	33
第五章 结 论	36
参考文献.....	37
附 录.....	47
作者简介及在学期间所获得的科研成果	50
致 谢.....	51

缩略语表

英文缩写	英文名称	中文名称
AA	Amino Acid	氨基酸
ASP	Aspartic acid	天门冬氨酸
AAS	Amino Acid Score	氨基酸评分
ALA	Alanine	丙氨酸
ARG	Arginine	精氨酸
BMI	Body Mass Index	身体质量指数
CYS	Cysteine	半胱氨酸
CEAA	Conditional Amino-Acid	条件必需氨基酸
DHA	Docose Hexaenoie Acid	二十二碳六烯酸
EAA	Essential Amino-Acid	必需氨基酸
GLU	Glutamic Acid	谷氨酸
GLY	Glycine	甘氨酸
HIS	Hlstidine	组氨酸
ILE	Isoleucine	异亮氨酸
LYS	Lysine	赖氨酸
LEU	Leucine	亮氨酸
MET	Methionine	蛋氨酸
NEAA	Nonessential Amino-Acid	非必需氨基酸
PHE	Phenylalanine	苯丙氨酸
PRO	Proline	脯氨酸
SER	Serine	丝氨酸
THR	Threonine	苏氨酸
TYR	Tyrosine	酪氨酸
TRP	Tryptophane	色氨酸
TAA	Total Amino Acids	18 种氨基酸含量
VAL	Valine	缬氨酸

第一章 绪 论

1.1 人乳主要成分及母乳喂养现状概述

乳类是人类生命的营养源。其所含的蛋白质、脂肪、碳水化合物等营养物质比例适中，易于被人体吸收，更好补充婴幼儿生长发育的需要。同时在《中国膳食指南（2016 版）》中乳及乳制品被公认是平衡健康膳食结构中不可或缺的五大食物种类之一，对人体健康发挥着不可替代的作用。

1.1.1 人乳中主要成分及功能

人乳含有婴儿生长发育所需要的营养素如蛋白质、脂肪、化合物、矿物质、维生素等。人乳中脂肪不仅供给宝宝身体热量，还可以满足宝宝脑部发育的需要（脑部 60%的组织结构原料来自于脂肪）^[1]。婴儿在人乳中能够获取丰富必需脂肪酸，例如 DHA、花生四烯酸分别是婴儿视网膜光受体的主要组成成分、对婴儿脑部发育发挥重要作用。脂肪酸含量及比例受乳母膳食影响较大，不同地区存在的不同膳食特点中饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸所占比例的差异要小于 α -亚麻酸与 DHA 所占比例，均衡乳母的膳食结构对于泌乳期脂肪酸的变化发挥重要作用。人乳中丰富的钙和磷可促进宝宝生长，除此之外，人乳还含有多种易于吸收的抗感染因子、生物活性物质等，如分泌性 IgA、乳铁蛋白、溶菌酶及各种细胞成分，这些物质为婴儿的免疫系统、神经系统的生长发育提供了丰富的物质基础^[2]。

目前，人们关注最多、研究广泛的是人乳蛋白。泌乳过程的成熟乳蛋白的主要部分包括酪蛋白和乳清蛋白两大部分。其中，酪蛋白亚基主要包括 β -酪蛋白、 κ -酪蛋白等，乳清蛋白主要包括 α -乳白蛋白和血清白蛋白等，两大类特殊蛋白的功能探讨一直是实验研究热点。人乳中已有 200 多种低聚糖被检测和鉴定，人乳低聚糖是人乳中的第三大固体组分。人乳低聚糖在调节婴儿肠道功能、神经节苷脂和促进大脑的发育等方面发挥了重要作用^[3]。人乳成分研究包括含量研究、含量的变化规律、含量变化的影响因素以及人乳成分对婴幼儿健康的长期、短期效应研究。以往的研究证明，人乳成分也是处于动态变化的过程，随着初乳、常乳、

末乳的变化而变化。人乳成分的含量及比例受基因、胎龄、乳母状况、乳母膳食、泌乳时期、及哺乳习惯等多因素影响。

1.1.2 母乳喂养的现状

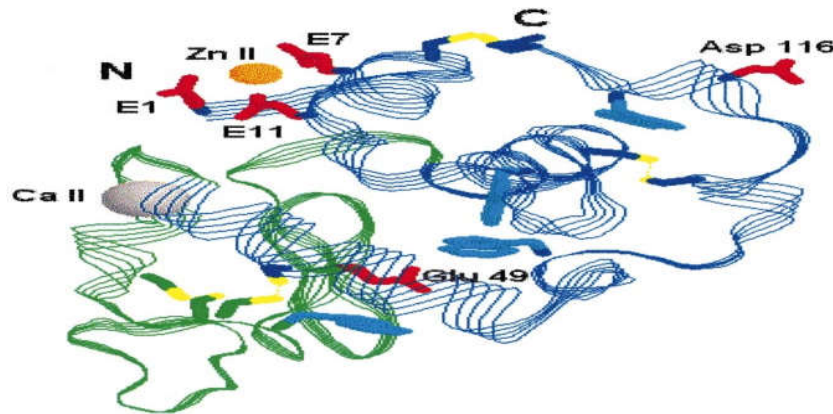
每个哺乳动物的生命最初阶段,满足其所有营养需求唯一的食物来源是乳类。婴儿出生后 4~6 个月,母乳提供了婴儿生长所需能量和几乎所有的营养物质,以满足个体营养的需求。6 个月以下婴儿进行母乳喂养是 WHO 和联合国儿童基金会联合推荐,母乳是婴儿营养最全面最理想的天然食物。根据《Lancet》^[4]发布的人乳喂养系列数据显示,世界范围内人乳喂养率并不乐观,高收入国家人乳喂养率以及人乳喂养持续时间相较于低收入国家更低,一些中低收入国家保证 6 月龄以下纯人乳喂养率为 37%。尽管我国政府建议纯人乳喂养婴儿到 6 个月,但是我国人乳喂养率存在明显的地域差异和城乡之间的差异。中国疾病预防控制中心(CDC)全国范围数据显示^[5],我国 6 月龄以下纯人乳喂养率为 20.8%,1 岁喂养率为 11.5%,2 岁为 6.9%。面对中国人乳喂养率下降的趋势,国务院办公厅于 2017 年 7 月 31 日印发《国民营养计划(2017-2030)》到 2020 年,0~6 月婴儿纯人乳喂养达 50%,到 2030 年,0~6 个月在 2020 年的基础上提高 10%,进而稳步提升我国人乳喂养率。早期生命 1000 天,人乳能给予婴儿最好的营养,同时在影响婴儿健康的关键窗口期和未来路上发挥重要作用。

1.2 乳中主要特殊蛋白研究进展

蛋白质在机体细胞、组织和器官的代谢活动和发挥功能方面扮演重要角色,一切生命的物质基础是由蛋白质的复杂生命活动提供的。本质上蛋白质功能的体现既是“生命的来源”,也是生命的表现形式,更是机体持续运行的不竭动力,没有蛋白质就没有生命。人乳中最大的生物活性物质是由人乳中蛋白质提供的^[6]。人乳中蛋白也发挥着促进乳房中其他营养物质的消化和摄取的功能,例如功能酶和乳铁蛋白可以协调钙、铁和维生素 B₁₂ 的吸收,使婴儿获得更丰富的营养物质。乳中最重要的营养物质是乳蛋白,其含量和组成对乳的质量发挥重要影响作用。人乳蛋白质分主要由乳清蛋白、酪蛋白和占很小比例的乳脂肪球膜蛋白构成。乳

清蛋白主要包括血清白蛋白、 α -乳白蛋白、乳铁蛋白和 sIgA^[7]，后三者研究的更广泛。

1.2.1 α -乳白蛋白的结构与功能



K-Domain 以蓝色显示，而 L-domain 以绿色显示。Trp 残基以蓝色显示，S[^]S 桥以黄色显示。该参与 Zn²⁺ 离子配位的残基以红色显示^[8]。

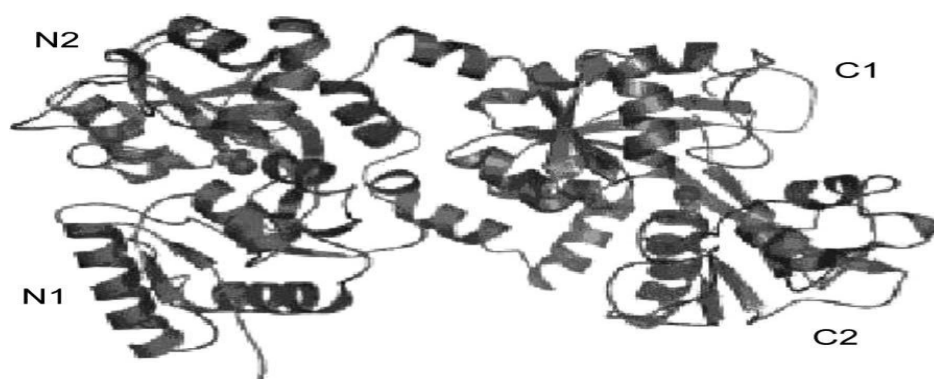
图 1.1 锌与钙和 α -乳白蛋白结合位点

作为氨基酸优质来源的 α -乳白蛋白，其复杂的结构和多方面的功能活性分两步实现：第一步，乳房细胞中乳糖的生成过程发挥重要作用，不单是通过调节半乳糖转移酶催化葡萄糖合成乳糖，同时借助 GoLgi 器(高尔基体)表面存在的锰、锌、钙离子和尿核苷二磷酸半乳糖催化，实现乳糖合成后与半乳糖转移酶分离，传递到乳房上皮细胞^[9]。第二步，与锰、钴二价金属离子结合时，钙通过对 α -乳白蛋白的稳定性发挥影响，钙通过天冬氨酸螯合作用，使得三级结构更加显著。

以往的研究已证实 α -乳白蛋白具有丰富的营养价值^[10]。富含色氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸等 EAA (Essential Amino-Acid, EAA)，这些 EAA 是构成人体氨基酸模式的关键因素，也是婴儿的氨基酸优选来源之一^[9]。牛乳作为婴儿配方奶粉的乳基，半胱氨酸和色氨酸是第一限制氨基酸。色氨酸的充足为婴儿脑部的发育提供物质基础，色氨酸是神经递质 5-羟色胺的前体物质，缺乏时会引起神经意识和睡眠出现障碍。Davis 等^[11]比较人乳组、奶粉配方组和低蛋白增加 α -乳白蛋白组，三组对于婴儿的胃肠道耐受性，结果显示低浓度配方组(低蛋白+ α -乳白蛋白)满足婴儿所必须的氨基酸和蛋白质，与人乳喂养的相似。婴幼儿体格发育方面，徐秀等^[12]的研究结果显示在人乳组、 α -乳清蛋白组和对照配方组间差异均无

显著性,说明 α -乳白蛋白喂养的婴儿与人乳类似,也能为婴儿的体格发育发挥作用, Rozé 等^[13]比较了 α -乳清蛋白富集和共生补充婴儿配方奶粉对特应性皮炎的安全性和胃肠道的耐受性,实验组的效果更显著。 α -乳白蛋白的积极探讨研究可以为有效的减少非必需氨基酸对婴儿生长发育的不良影响和优化蛋白质的利用率提供依据^[14]。

1.2.2 乳铁蛋白 (Lactoferrin, LF) 的结构与功能



N 瓣是在左边,与其结合的 Fe (3p) 和 CO3 (27) 离子(球形原子)在两个域之间的裂隙中, N1 和 N2。同样,对于 C-lob (右), C1 和 C2 其间具有 Fe (3p) 和 CO3 (27) 离子的区域。(由奥克兰大学 E. N. Baker 提供)。

图 1.2 人乳中乳铁蛋白结构式

乳铁蛋白分子立体结构的表现形式是“二枚银杏叶型”。根据以往的研究报道,乳铁蛋白立体结构可通过单一多肽链折叠成两个对称的叶(N 叶和 C 叶)形成,不同生物体具有相似 LF 的结构,这种结构具有两个共同的特性:第一,内部序列的高重复性,第二,PH 值的高碱性^[15]。目前人乳铁蛋白和牛乳铁蛋白探讨比较深入,两者所具有有氨基酸序列同源性约为 69%。

乳铁蛋白是“转铁蛋白家族一员”。作为能与铁结合的糖蛋白,具有很强结合铁离子的能力,促进铁吸收,提高物质的营养价值,同时具备争夺“需铁细菌”的铁,起到抑菌、杀菌和抗病毒的作用^[16]。不仅可以作为增强婴儿免疫系统的重要物质,也是被公认为人体优质蛋白补充剂之一,需要在婴幼儿配方食品中进行强化的物质^[17]。Schanler 等^[18]在 1999 年的研究显示在成熟乳中乳铁蛋白的含量明显增高。同时 Rai 等^[19]在 2014 年发表的一篇有关人乳乳铁蛋白含量的系统综述中分析了 1966~2010 年的相关文献,整理后 52 篇符合文章纳入标准(包括

2724 名研究对象, 大多来自于欧洲), 对于成熟乳中, 人乳铁蛋白的平均值为 $2.10 \pm 0.87 \text{g/L}$ 。乳铁蛋白对婴幼儿和孕妇同时产生健康效应, Ochoa 等^[20]对来自秘鲁利马的儿童每日两次补充 BLF (牛乳铁蛋白), 给药 6 个月与安慰剂组进行比较, 监测婴儿的腹泻和生长情况, 结果发现实验组的腹泻程度显著低于安慰剂组。Nappi C^[21]等评估了 100 名孕妇缺铁性贫血使用牛乳铁蛋白治疗效果, 通过胃肠道副作用的表现及组间症状的评分差异, 指出牛乳铁蛋白在缺铁性贫血方面具有与硫酸亚铁相同的功效, 结果不存在统计学差异, 但胃肠道症状明显减少。除此之外, 乳铁蛋白能通过肠细胞表面的铁蛋白受体内吞作用促进铁吸收, 显著增加体内红细胞密度和血红蛋白浓度^[22]。

1.2.3 β -酪蛋白的结构与功能

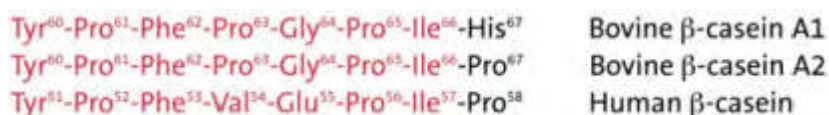


图 1.3 牛乳 A₁ 和 A₂ 型 β -酪蛋白及人 β -酪蛋白序列的对比^[23]

β -酪蛋白是不同乳源酪蛋白的主要成分。牛乳的 β -酪蛋白有两种变异型, 即 A₁ 型和 A₂ 型, 两者的差别主要体现在第 67 位的氨基酸, A₁ 型的 67 位结合是组氨酸, A₂ 型结合的却是脯氨酸, 正因为分子结构的微小差异, 导致其代谢产物的不同^[24]。A₁ 型被消化时, 主要形成酪蛋白磷酸肽和 β -酪啡肽-7 (BCM-7) 这两种物质^[25], 前者与 Ca 离子螯合促进钙吸收。现研究表明, BCM-7 通过胃肠壁进入血液循环可能与婴幼儿的各种疾病有关并对中枢神经系统产生影响^[26]。Sun Z 等^[27]等发现婴儿猝死综合征可能与 β -CM 相关, 其所分解的生物肽进入婴儿未成熟的中枢神经系统可能会导致呼吸暂停和死亡。

酪蛋白除自身具备的营养价值外, 能够在消化道被分解成更小分子的生物活性肽。酪蛋白具有很多潜在的生物活性作用, 能参与身体矿物质的转运, 降血压, 抗血栓等^[28]。酪蛋白多级结构的广泛研究有利于更全面的认识酪蛋白, 多项流行病学的研究表明: 高 A₁ 酪蛋白摄入量的人群发生 I 型糖尿病和心脏病的风险较高。1999 年 Elliott 等^[29]收集了 0~14 岁儿童的 I 型糖尿病的数据, 按国家/城市划分的总乳蛋白和酪蛋白的消费量, 得到总乳蛋白消耗系数与糖尿病之间存在相关的结果。另外一个流行病学的调查研究^[30]对 19 个国家 1990 年人均 A₁ 型 β -酪

蛋白供应量与 0~14 岁的儿童中 I 型糖尿病发病率的相关性进行探讨,得出酪蛋白可能会是 I 型糖尿病发病的风险因素。

1.2.4 乳中特殊蛋白的研究进展

漫长历史岁月中,乳及乳制品伴随着人类历史发展和文明而发展。乳及乳制品从历史学的研究视角:人们从一幅壁画上,发现了人们获取和饮用牛奶的最早历史记录^[31],牛奶在人类的文明中也曾作为祭品。自有文字记载以来,中国的奶食文化有着悠久的历史,这种弥足珍贵的生命流体成分会因物种而异。现今,世界范围内牛乳和羊乳是人类消费最多的动物乳汁,也是婴儿配方奶粉乳基的主要来源^[32]。

我国在乳品方面的研究主要集中在牛乳。随着物质生活的丰富,人们对乳的品质需求不断增加,牛乳不再能满足一些人的需要^[33]。乳源极大丰富,市场上也相继出现了羊乳、马乳、骆驼乳等特色乳制品,乳品的加工工艺也在不断的优化,婴儿配方食品中乳基选择性的探讨持续进行,其各自的优缺点一直是研究的热点。Fekete^[34]开展随机对照实验去探讨牛乳蛋白对昼夜血压和血管功能的相对影响,并指出乳蛋白对心脏代谢的作用机制仍然值得进一步研究。临床上,早产儿的配方奶粉中多以牛奶为蛋白源,其中的潜在致敏原备受争议,如何保证健康且充足的乳源需要多方面的努力。尽管,市场上羊乳制品较少,羊奶价值的渐渐突显,对于羊奶的深入研究尤为重要。羊奶可作为牛奶不耐受婴儿的理想乳源,有研究表明^[35]羊乳是最接近人乳、最易被吸收的“奶中之王”。借助蛋白组学技术对山羊乳和绵羊乳成分的蛋白质进行定性、定量的研究^[36],能够的为奶源的选择提供依据。山羊乳的蛋白中可鉴定出有效的生物活性肽^[37]。山羊乳的蛋白活性物质可能不会受同一乳源不同品种的影响,对巴西东北部的两个品种山羊奶蛋白组分进行比较后,发现两个品种的乳中特殊蛋白谱之间没有差异^[38]。但不同乳源的蛋白差异明显,模拟婴儿胃肠消化模型观察牛奶和羊奶消化分解过程,观察到羊奶和牛奶不同蛋白质基质会产生特异性的肽^[39]。

1.3 乳中氨基酸营养评价的研究进展

氨基酸是构成生命体基本构架的物质之一,在细胞代谢和组织功能运行中发

挥着多重调节作用。氨基酸的分析是蛋白质一级结构深入探讨的可靠方法，同时为重组蛋白类生物制品的质量控制提供衡量标准^[40]。氨基酸是由氨基和羰基组成的有机物，氨基酸的消化为生命体的蛋白质吸收提供了重要的途径，目前氨基酸应用广泛，涉及医疗、食品等各个行业^[41]。

1.3.1 氨基酸的分类

蛋白质作为生命科学的重要研究对象，只有通过对它结构充分的掌握，才能实现功能的探索。氨基酸是蛋白质的结构单位，生物活性大分子在构建生物机体中扮演“重要角色”，在婴儿生命过程中既提供物质也发挥调节作用。目前已经证实的存在于自然界的氨基酸有 300 余种，其中的 20 种是构成人体蛋白质的氨基酸，在人体的整个生命活动的运行都发挥重要价值。蛋白质的多种多样主要体现在氨基酸侧链、电荷、氢键能力和化学性质的差异^[42]，海量复杂的蛋白质数据是生命活动的主要承担者、内源需求的终结者和生物信息学的开拓者^[43]。氨基酸分类方法主要包括以下三种以及相应的分类：第一种，根据是否能够内源合成，分为 EAA 和 NEAA；第二种，R 基团不同理化特性，分为非极性、极性、酸性和碱性氨基酸；第三种，根据特有结构特性，分为芳香族、杂环和脂肪族氨基酸。

1.3.2 氨基酸的作用

氨基酸是细胞修复、存活、再生和生长的关键组成部分和重要的能量来源（生酮，生葡萄糖或者生酮兼生糖）。每个氨基酸类似的结构：氨基、羧酸和独特的碳链结构。自然界中，人类利用的大多数氨基酸都是可以通过内源合成的，有八种必须从食物中获得，包括婴儿所特有组氨酸被称为必需氨基酸。氨基酸在细胞生命活动中发挥重要作用，如氧化应激、信号通路、甲状腺激素代谢等。大量的研究表明，氨基酸能够调节细胞代谢，合成大分子物质（蛋白质和 DNA）和促进细胞的生长增殖（肝细胞、成纤维细胞）^[44]。同时，氨基酸具有刺激分化的作用，例如亮氨酸及其代谢产物可以促进 β 细胞分泌胰岛素^[45]。氨基酸代谢紊乱是判定很多疾病的重要指证之一，例如 PKU（phenylketonuria）的大多数病例是由苯丙氨酸羟化酶缺乏引起的^[46]，酪氨酸及代谢产物在血液和尿液中升高，智力障碍是其最常见的并发症之一。s-腺苷甲硫氨酸转化为 s-腺苷高半胱氨酸的缺陷一个重要的表现征象之一，可能会导致甘氨酸 N-甲基转移酶缺乏症^[47]。

人乳中氨基酸作用涉及多方面,既可以作为合成乳蛋白的重要前体物质之一,也可以在乳腺的代谢过程中扮演着重要调控因子的“角色”。EAA 的供应是乳房内蛋白质的合成和分泌产生的决定因素之一^[48]。激活乳蛋白合成与乳腺上皮的分化状态及早期激活翻译启动有联系。EAA 浓度较高时,乳腺中单向循环利用 EAA 的速度较快。单个氨基酸的吸收利用会对氨基酸转运蛋白的活性水平、胞内外氨基酸浓度等方面产生影响,最终会调控乳腺上皮细胞的氨基酸模式^[49]。氨基酸与其他营养素也存在交互作用,如人乳中 Met、Leu、Arg 和 Glu 对脂质代谢调控作用影响^[50]。

1.3.3 氨基酸营养价值的评价方法

人乳的营养价值主要体现在蛋白质的质量。人乳中蛋白质及特殊蛋白的含量、氨基酸含量和评分分值是评价蛋白质质量的因素^[51]。食物蛋白质的评价方法应用最广泛的两种,生物学评价和化学分析法^[42]。前者是通过动物实验来评价人体吸收和代谢的情况,实验过程费时且繁琐。化学分析方法通过测定粗蛋白和单位蛋白质含量的氨基酸组成来评价^[52]。临床上认为人体的生长和代谢是通过准确评价蛋白质质量来实现的^[53]。机体合成含氮化合物的 EAA 含量和 AA 模式是蛋白质质量的重要决定因素。营养学上用 AAS 来反映必需氨基酸的种类和含量在不同物种和不同食物中存在的差异性,蛋白质中各种必需氨基酸的构成比例定义成氨基酸模式,氨基酸模式作为评价蛋白质质量的方法之一。FAO/WHO 为建立评估蛋白质质量的方法做出重大努力^[54],现今评价的方法有很多种,常用的评价方法有:使用氨基酸评分(AAS)、需要进行动物实验的消化率表观蛋白质消化率(APD)、进行校正蛋白消化率(CPD)、使用频率更高的净蛋白利用率(NPU)、生物价值(BV)和消化率修正的氨基酸评分(PCDAAS)等^[55]。

1.3.4 乳中氨基酸的研究进展

目前,人乳中 AA 的研究相对广泛,尽管检测技术和分析方法取得进展,但关于蛋白质和氨基酸含量还是受到小样本和同一区域的限制。刘家浩等(1991)^[56]对南京市的 90 例母乳的游离氨基酸的含量及动态变化进行了研究,结果表明,人乳中含量最高的是谷氨酸。张兰威等(1997)^[57]探讨人乳不同泌乳时期的蛋白质与氨基酸含量及其变化规律,结果显示,泌乳期对其含量会产生影响。徐丽等

(2008)^[58]调查了河北省某城市人乳氨基酸与脂肪酸含量结果表明, 尤其人乳中丰富的谷氨酸对婴儿的大脑皮层兴奋发挥作用。丁明等(2010)^[59]对中国北方城市妇女饮食与人乳中氨基酸组成的相关性分析, 通过膳食回顾乳母饮食, 谷类和大豆摄入少, 乳汁中氨基酸含量也会相应减少。任向楠等(2013)^[60]结合相关研究, 综述人乳中氨基酸的含量及对比分析常用方法, 论述了人乳中必需氨基酸含量丰富和比例合适等优点, 对其检测方法的初步探讨。逢金柱等(2018)^[61]对我国南北城市 0~12 月不同泌乳阶段人乳蛋白质和氨基酸构成进行纵向研究。美国、泰国、墨西哥等国家开展人乳中氨基酸研究^[62, 63]。Ping Feng^[63]对 9 个国家中随机抽取的 220 份成熟乳中对比分析蛋白质含量和氨基酸, 结果显示在哺乳期 30 天到 150 天的人乳总蛋白质和单个氨基酸的浓度下降, 不同国家之间总氨基酸谱不存在统计学差异。L Nnerdal B^[64]对 1953-2011 年的 43 篇关于人乳中真蛋白质、氨基酸和生物活性蛋白的文章进行 meta 汇总分析, 结果显示总氨基酸的比例会随着泌乳时间的趋于稳定。不同乳源氨基酸研究中, 吴尚义等^[65]比较不同泌乳期人乳与牛乳中游离氨基酸, 人乳较牛乳中游离的氨基酸种类更丰富, 这也是大力提倡母乳喂养的重要原因之一。

1.4 乳蛋白与氨基酸相互作用

AA 被利用的程度越高越充分的证明食物中蛋白质氨基酸模式与人体需要模式越接近。含有的必需氨基酸种类齐全与人体氨基酸模式更接近是优质蛋白评价的两个因素。氨基酸与蛋白质之间可能存在相互转化和相互影响。一方面, 乳中的优质蛋白提供了氨基酸的良好来源; 另一方面, 氨基酸也会通过内分泌的系统去调控乳蛋白的合成^[66]。

乳蛋白作为营养价值很高的优质蛋白质之一, 所进行的消化吸收影响着功能发挥。食物中的蛋白消化从胃开始, 蛋白质的空间结构会被胃中的胃酸破坏, 被分解的蛋白形成小分子多肽和游离氨基酸。小肠^[67]是蛋白消化吸收的主要场所, 小肠将分解的氨基酸和寡肽通过门静脉转运到肝脏或其他器官被利用, 还有小部分蛋白质大分子和多肽直接被吸收和利用, 在生命活动中发挥重要作用。如何更好和更优质的发挥乳蛋白功能是乳制品加工工艺的重要考虑环节之一。目前乳制

品的工艺包括很多种,工艺过程可能会对蛋白产生影响^[68],例如在乳汁的深加工过程中,对营养素含量影响最大是温度,许多的研究证实^[69]牛奶在加热到 65~95℃时,乳清中的特殊蛋白和脂肪球膜蛋白会进行结合。

营养物质中所含有氨基酸的量可能会对乳蛋白分泌产生影响。以往的动物实验^[70,71]证明特定氨基酸的培养基会对内分泌激素产生刺激作用从而对反馈调节作用产生影响。奶牛静脉中灌注特定的支链氨基酸结果显示支链氨基酸改变其血浆激素的水平。同时,结合以往的研究内分泌激素的水平对乳蛋白的合成可能从以下几个方面产生影响:第一方面,内分泌激素在组织或器官中可以运输营养,把具有作用的物质分配到乳腺细胞,促进其泌乳的过程;第二方面,影响氨基酸载体的生物活性和转运功能,加快新陈代谢的速率;第三方面,涉及基因调控机制发挥作用。Cant J P^[72]等的综述中,探讨单个氨基酸的供应对乳蛋白含量的影响,结果显示乳蛋白的含量会受机体 AA 浓度和乳腺对 AA 的转运能力双重作用,内脏和外周的 AA 与乳腺发生协调作用去弥补膳食中 AA 的不足。以往研究表明,进入小肠的氨基酸通常会通过三种主动转运系统来进行,即酸性、中性和碱性的 AA。具有相似结构的 AA 会在生命活动过程共用一套转运系统,共用载体和能量使其产生竞争作用,这种竞争作用会使含量较高的氨基酸吸收增多。但量与比例的同等重要,量充足并且氨基酸含量比例合适能够保证肠道对于其进行吸收与利用。例如亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸就共用一套系统,若多摄入亮氨酸,那么另外两种 AA 的吸收量就会相应的减少,来满足供需平衡系统的正常运行。乳蛋白的基因表达因氨基酸模式不同而产生差异。根据田雯等^[73]的动物实验,比较两种氨基酸模式对乳蛋白含量的影响,结果显示静脉中灌注酪蛋白模式的作用对奶牛的奶量作用更显著。

1.5 本课题的主要目的及意义

目前,我国乳品方面的研究主要集中在牛乳和羊乳。牛乳和羊乳特殊蛋白成分比较和婴儿配方奶粉乳源的研究不多。无论是牛乳还是羊乳,营养组分和性质上均与人乳有差别,只有充分了解人乳成分的前提下,调整某些营养成分,使其更接近人乳的黄金比例,满足因为各种原因不能进行母乳喂养的婴儿的营养需要。

本课题在中国营养学会的项目支持下:2018年3月~7月对我国6个城市人乳、内蒙古地区牛乳及陕西地区羊乳进行采集,通过检测不同乳源中蛋白质含量、特殊蛋白含量、必需及非必需氨基酸水平、模式及评分的差异,比较人乳和牛乳、羊乳中蛋白质质量,为评价不同乳源蛋白质质量提供基础检测数据,为婴儿配方食品最佳乳源的选择提供参考,也为修订我国婴儿配方食品标准提供依据。

第二章 材料与amp;方法

2.1 样本采集

2.1.1 人乳采集

根据《中国具体区域划分》及《2017 年中国城市分级完整名单》，考虑到项目要求的是健康状态的乳母及样本的全国代表性。本研究（ChiECRCT-20180061）经中国注册临床试验伦理审查委员会进行审查后，在中国 6 城市（成都市、郑州市、牡丹江市、北京市、南京市和广州市）进行乳样采集，共招募 96 名符合纳入标准的健康产妇，并签署知情同意书。本研究采集的人乳样品为成熟乳(产后 90±15 天)共 96 份，每份乳样为 150~200mL，现场采样完毕后，样品利用冷链包、干冰或冰排转移至-80℃冰箱，避光保存。乳母的纳入与排除标准如下：

①纳入标准：年龄 22~32 岁、足月生产、单胎、纯人乳喂养、首胎、无妊娠相关疾病、无精神病史、无药物服用史。

②排除标准：吸烟饮酒、多胞胎、二胎及以上、服药史、感染性疾病（如乳腺炎、肺结核、病毒性肝炎和 HIV 感染），心血管疾病（如妊娠高血压疾病），代谢性疾病（如妊娠糖尿病、甲亢）、精神系统疾病、癌症及其他恶性消耗性疾病等。

2.1.2 牛乳采集

本研究对内蒙古自治区某牧场的 12 头健康奶牛进行样品采集，经由畜牧基地养羊场养殖人员采样，每份乳样存于 50mL 离心管，样品量共 150mL，现场采样完毕后，样品利用冷链包、干冰或冰排转移至-80℃冰箱，避光保存。

2.1.3 羊乳采集

本研究对陕西地区某牧场的 12 头山羊进行乳样采集，经由畜牧基地养羊场养殖人员采样，每份乳样存于 50mL 离心管，样品量共 150mL，现场采样完毕后，样品利用冷链包、干冰或冰排转移至-80℃冰箱，避光保存。

2.2 试剂及器材

2.2.1 试验试剂

本实验主要试剂及相关信息如表 2.1 所示：

表 2.1 实验试剂

试剂名称	生产厂家
硫酸铜	国药试剂
氨基酸标准品（Amino Acid Standard）	美国 Sigma 试剂
盐酸	美国 Sigma 试剂
二硫苏糖醇（DTT）	美国 Sigma-Aldrich 公司
碳酸氢铵碘代乙酰胺（IAA）	美国 Sigma-Aldrich 公司
乙酸	美国 Sigma-Aldrich 公司
甲酸	美国 Sigma-Aldrich 公司
乙腈	美国 Sigma-Aldrich 公司
乳铁蛋白特异肽：VPSHAVVAR	上海強耀公司
α -乳白蛋白特异肽：CELSQLLK（纯度>98%，水分≤1%）	上海強耀公司
β -酪蛋白特异肽：VMPVLK	上海強耀公司
乳铁蛋白肽：VPSHAV [#] V [#] AR	上海強耀公司
α -乳白蛋白同位素特异肽：CELSQL [#] L [#] K	上海強耀公司
β -酪蛋白同位素特异肽：VMPV [#] L [#] K	上海強耀公司
乳铁蛋白内标：FKDCHLARVPSHAV [#] V [#] ARSVNGKE	上海強耀公司
α -乳白蛋白内标：AKQFTKCELSQL [#] L [#] KDIDGYGGIA	上海強耀公司
β -酪蛋白内标：YTKGRVMPV [#] L [#] KSPTIPFFDPQIPKL	上海強耀公司

其中带#的氨基酸为碳、氮全同位素标记的氨基酸。

2.2.2 仪器与器材

表 2.2 实验主要仪器与设备

设备名称型号	生产厂家
全自动凯氏定氮仪/UDK159—DK20	意大利 VELP 公司
全自动氨基酸分析仪/L—8900	日立高新技术公司
浓缩仪/TVE—1100	上海爱朗仪器有限公司
超高压液相色谱/UPLC	美国 Waters 公司
色谱柱/BEH 300 C ₁₈ (100nm×2.1mmi.d.1.7μm)	美国 Waters 公司
质谱仪/TQ-S MS Xevo	美国 Waters 公司

2.3 实验方法

2.3.1 调查问卷

乳样采集后，对乳母进行问卷调查。调查内容包括：基本信息、乳母健康状况调查表。

2.3.2 总蛋白含量检测

本研究依据《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定 GB5009.5-2016》使用自动凯氏定氮仪法测定样品中蛋白质，实验步骤如下：

称取 1g 乳样，精确至 0.001g，移至消化管中，在加入 0.4g 硫酸铜、6g 硫酸钾及 20mL 硫酸于消化炉进行消化。当消化温度达到 420℃之后，瓶内液体呈蓝绿色，继续消化 1h，并保持瓶内液体微沸腾，至管内液体呈绿色透明状，取出瓶，放冷后，小心加入 50 mL 蒸馏水，将混合液转移至自动凯氏定氮仪（使用前加入氢氧化钠溶液、盐酸标准溶液以及有混合指示剂 A 的硼酸溶液）上，实现自动加液、蒸馏、滴定和记录滴定数据过程。

2.3.3 特殊蛋白含量检测

本实验从人乳特殊蛋白（乳铁蛋白、 α -乳白蛋白和 β -酪蛋白）筛检出特异多肽，同时将人工合成的特异性多肽作为标准品，使用同位素标记特异性多肽和内标建立相应的检测方法。通常分以下两个步骤：

(1) 标准曲线的配置

将特异性 CELSQLLK 和同位素特异肽 CELSQL[#]L[#]K（根据具体检测的蛋白进行调整）分别用水进行溶解，然后在配置成 0.1、0.6、1.2、1.8、2.4 和 3.0 μ mol/L 的特异肽标准曲线溶液，与 1.5 μ mol/L 的同位素特异肽溶液。

两种特异肽都含有半胱氨酸 C，需要在进样前破坏二硫键，并使其烷基化，故取 20 μ L 的标准曲线，加入 10 μ L 的 50 mmol/L DTT 溶液与 945 μ L 水，在 55 $^{\circ}$ C 水浴锅中反应 30 分钟，待其冷却至室温后加入 10 μ L 的 150 mmol/L IAA 溶液，在暗室静置 30 min，最后加入 5 μ L 甲酸溶液，待测。

(2) 不同乳源乳液的酶解

对不同乳源的乳液用水进行 1:100 稀释，经充分混匀后，在试管中取 20 μ L 的混合液，其中加入 10 μ L 内标溶液(1.5 μ mol/L)，10 μ L 的 DDT 溶液(50mmol/L)与 835 μ L 水，在 55 $^{\circ}$ C 的水浴锅中反应 30min。待其冷却至室温后加入 10 μ L 的 150 mmol/L IAA 溶液，在暗室静置 30 min。加入 100 μ L (500mmol/L)的碳酸氢铵缓冲液与 10 μ L (200 μ g/mL)碱性胰蛋白酶，在 37 $^{\circ}$ C 的水浴锅中反应 2h 后，最后在 5 μ L 甲酸溶液中终止反应，用 0.22 μ m 微孔滤膜进行过滤，待测。峰值评估时使用 ProteinLynx Global Server version 2.5（PLGS）软件对采集的数据进行分析。

其中，高效液相色谱(UPLC)的工作条件如下：

①柱温：40 $^{\circ}$ C，样品室温度：4 $^{\circ}$ C，进样体积：5 μ L；流动相 A：含 0.1%甲酸的水溶液，流动相 B：含 0.1%甲酸的乙腈溶液，流 0.3 mL/min，梯度洗脱条件：在 5 min 内将流动相 B 含量从 3%提升至 32%。

②三重四级杆质谱(MS)参数质谱仪：毛细管电压：3.0 kV，脱溶剂温度：500 $^{\circ}$ C，脱溶剂气流量：900 L/min，锥孔反吹气流量：150 L/h，碰撞室压力：3.0 $\times 10^{-3}$ mbar；低端分辨率 1:2.5 V，高端分辨率 1:15.0 V，离子能量 1:0.5；低端分辨率 2:2.8 V，高端分辨率 2:15.0 V，离子能量 2:1.0；离子源温度：150 $^{\circ}$ C，提取器电压：3.0 V，入口透镜电压：0.5 V，出口电压：0.5 V，碰撞梯度：1.0。

2.3.4 氨基酸含量的检测

本研究依据国家标准方法《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定 GB5009.124-2016》测定乳样的氨基酸，实验步骤如下：

(1) 标准曲线的配置

混合氨基酸标准储备液（1μmol/mL）：分别准确的称取单个氨基酸标准品于同一 50mL 烧杯中，用 8.3mL 6mol/L 盐酸溶液溶解，精确转移至 250mL 容量瓶，用水稀释定容至刻度，混匀。

(2) 样品前处理

准确称取 1.7g 乳样，根据乳液的蛋白质含量，在水解管中加入 10mL 6mol/L 盐酸溶液，进行冷水水浴，冷冻 3~5min，接到真空泵的抽气管上，然后再充入氮气，重新抽真空 3 次左右，在充氮气的状态下封口，将已封口的水解管放在 110±1℃ 的恒温箱，水解 22h 后，取出，冷却至室温。水解后颜色会呈现黄色，含量越高颜色越深。

打开水解管，将水解液过滤至 50mL 容量瓶内，用少量水多次冲洗水解管，水解液移至同一 50mL 容量瓶内，最后用蒸馏水定容至刻度，震荡混匀。准确吸取 1.0mL 滤液移至 15mL 玻璃试管内，进行两次减压，第一次干燥用平行蒸发仪在 40℃ 加热环境下减压干燥，干燥后残留物用 1mL 水解液，再减压干燥，最后蒸干。用 1.0~2.0mL pH=2.2 柠檬酸钠缓冲液加入到干燥后试管内溶解，振荡混匀后，吸取溶液通过 0.22 μm 滤膜后，转移至仪器进样瓶，为样品测定液。

(2) 氨基酸的测定

使用混合氨基酸标准工作液注入氨基酸自动分析仪（L—8900），其中 6 mol 盐酸水解时，会使色氨酸完全被破坏。色氨酸、半胱氨酸通常采用高效液相色谱—质谱法进行检测。

① 其中，氨基酸自动分析仪色谱条件如下：

a. 色谱柱：4.6 mm I.D.×mm L.*1（日立离子交换树脂）

b. 检测波长：570nm 和 440nm

② 样品（不同乳液）中氨基酸含量的计算

$$c_i = \frac{c_s}{A_s} \times A_i \dots\dots\dots (1)$$

c_i ——样品测定液氨基酸 i 的含量，单位为纳摩尔每毫升(nmol/mL)；

A_i ——试样测定液氨基酸 i 的峰面积;

A_s ——氨基酸标准工作液氨基酸 s 的峰面积;

c_s ——氨基酸标准工作液氨基酸 s 的含量,单位为纳摩尔每毫升(nmol/mL)。

试样中各氨基酸的含量按式(2)计算:

$$X_i = \frac{c_i \times F \times V \times M}{m \times 10^9} \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

式中:

X_i ——试样中氨基酸 i 的含量,单位为克每百克(g/100g);

c_i ——试样测定液中氨基酸 i 的含量,单位为纳摩尔每毫升(nmol/mL);

F ——稀释倍数;

V ——试样水解液转移定容的体积,单位为毫升(mL);

M ——氨基酸 i 的摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol);

m ——称样量,单位为克(g);

10^9 ——将试样含量由纳克(ng)折算成克(g)的系数;

100——换算系数。

试样中氨基酸含量在 1.00g/100g 以下,保留 2 位有效数字,含量在 1.00g/100g 以上,保留三位有效数字。

2.4 统计方法

本研究采用 SPSS24.0 统计学软件对检测检测结果的数据进行分析,计量资料用均数±标准差表示,计数资料用率或构成比表示。数据呈正态分布时,采用方差分析或卡方检验比较各组之间的差异。非正态分布时,采用非参数检验。所有的统计分析结果均选择 $P < 0.05$ 差异具有统计学意义。

第三章 结 果

3.1 一般情况

3.1.1 不同乳源的采样信息

收集 96 例人乳来自我国的成都市、郑州市、牡丹江市、北京市、南京市和广州市，12 例牛乳来自内蒙古某牧场，12 例羊乳来自陕西某牧区。详见表 3.1

表 3.1 不同乳源的采样信息

乳样	采样地	例数	采样量 (mL)
人乳	中国 6 城市	96	150~200
牛乳	内蒙古地区某牧场	12	150
羊乳	陕西地区某牧场	12	150

3.1.2 乳母基本情况

本研究列出各调查城市的乳母基本情况。调查总人数共 96 人，其中成都市、郑州市、牡丹江市、南京市各 20 人，北京市为 10 人，广州市为 6 人。乳母年龄范围为 22~32 岁，北京市的生育年龄显著高于其他几个城市。广州市乳母分娩前体重低于其他几个城市。各城市之间，乳母分娩前 BMI 的差异具有统计学意义 ($P<0.05$)，其他调查指标不具有差异 ($P>0.05$)。详见表 3.2。

表 3.2 乳母基本信息

调查指标	成都市	郑州市	牡丹江市	北京市	南京市	广州市	F ^①	P ^②
人数 (人)	20	20	20	10	20	6	—	—
乳母年龄 (岁)	27.95±2.78	28.70±1.66	27.90±2.17	30.40±2.17	27.95±1.82	26.83±2.79	0.637	0.593
乳母身高 (cm)	160.25±5.54	162.83±5.48	162.65±5.58	165.90±4.58	163.35±4.72	158.16±5.08	1.331	0.271
乳母分娩前体重 (kg)	58.77±8.22	63.20±9.14	63.34±10.00	60.70±8.11	57.40±7.75	53.83± 6.96	2.389	0.075
分娩前 BMI(kg/m ²)	22.93±3.25	23.81±2.96	23.91±3.24	22.02±2.45	21.49±2.60	21.50±2.48	2.748	0.049
每周被动吸烟 超过 15 分钟的天数	1.60±0.75	1.15±0.37	1.40±0.68	1.20±0.42	1.20±0.41	1.50±0.55	2.536	0.063

注: ①表示成都市、郑州市、牡丹江市和南京市之间的统计推断。

牡丹江市与郑州市乳母顺产和剖宫产的人数比例为 1:1, 乳母的文化程度在本科及以上共 70 人, 占总人数的 72.92%。出现小腿痉挛的乳母共 64 人, 占总人数的 66.67%。乳母平均睡眠时间<8h 的人为 74 人, 占总人数 77.08%。近一周的睡眠多数处于一般状态为 64 人, 占总人数 66.67%。乳母不选择催奶共 61 人, 占总人数 63.54%。各城市之间乳母是否进行催奶差异具有统计学意义($P<0.05$)。详见表 3.3。

表 3.3 乳母健康状况调查

调查指标		成都	郑州	牡丹江	北京	南京	广州	χ^2_{Θ}	P^{Θ}
乳母的文化程度	本科以下	7	6	8	1	1	3	7.273	0.064
	大学及以上	13	14	12	9	19	3		
是否出现	是	14	12	13	4	15	6	1.140	0.768
小腿痉挛	否	6	8	7	6	5	0		
牙龈出血	是	11	8	12	5	11	2	1.805	0.614
	否	9	12	8	5	9	4		
贫血	是	6	6	6	2	6	2	0.579	0.901
	否	14	14	14	8	14	4		
分娩方式	剖宫产	5	10	10	3	7	2	3.750	0.290
	顺产	15	10	10	7	13	4		
在过去一周内, 平均身体活动 (不含静坐、上网、坐车等)	1-3h	16	11	11	8	16	4	5.698	0.127
累计时间	>3h	4	9	9	2	4	2		
平均睡眠时间	<8h	16	12	15	9	18	4	5.177	0.159
	8h	4	8	5	1	2	2		
最近一周的睡眠质量	好	3	7	4	1	6	3	9.462	0.149
	一般	15	12	15	8	12	2		
	不好	2	1	1	1	2	1		
最近两周,	是	6	3	2	1	2	0	3.949	0.267
是否服用药物	否	14	17	18	9	18	6		
是否催奶	是	3	9	11	4	4	4	10.007	0.019
	否	17	11	9	6	16	2		
是否存在堵奶	是	14	13	9	4	14	3	3.627	0.305
	否	6	7	11	6	6	3		
是否服用	是	4	2	8	4	6	4	5.333	0.149
特殊补品 (如燕窝等)	否	16	18	12	6	14	2		

注: Θ 表示成都、郑州、牡丹江和南京市之间的统计推断。

3.2 人乳和牛乳、羊乳中蛋白质质量的综合评价

3.2.1 不同乳源中总蛋白和特殊蛋白的含量

人乳铁蛋白含量最高的是牡丹江市（83.01±16.98mg/100g），含量最低的是北京市（62.46±8.77mg/100g）。人乳 α-乳白蛋白含量最高的是牡丹江市（356.82±61.29mg/100g），最低的是广州市（298.10±29.67mg/100g）。人乳 β-酪蛋白含量最高的是北京市（452.44±25.18mg/100g），最低的是广州市（338.10±112.86mg/100g）。总蛋白质含量范围 1034.00 ± 40.37 ~ 1159.00 ± 104.29mg/100g, 人乳总蛋白含量最低的是广州市。本研究各城市之间总蛋白和 3 种特殊蛋白含量差异不具有统计学意义($P>0.05$)。详见表 3.4，图 3.1。

表 3.4 中国 6 城市人乳中 3 种特殊蛋白和总蛋白的含量（ $\bar{x} \pm s, \%$ ）

检测指标 (mg/100g)	成都市		郑州市		牡丹江市		北京市		南京市		广州市		F ^Θ	P ^Θ
	含量	%	含量	%	含量	%	含量	%	含量	%	含量	%		
乳铁蛋白	75.59±25.42	6.52	82.18±18.19	7.10	83.01±16.98	7.21	62.46±8.77	5.40	70.41±10.05	6.09	70.06±26.60	6.78	1.032	0.390
α-乳白蛋白	346.78±53.59	29.92	348.02±47.55	30.07	356.82±61.29	31.00	348.44±38.09	30.09	321.87±64.54	27.84	298.10±29.67	28.82	0.691	0.564
β-酪蛋白	394.59±68.36	34.05	421.12±60.62	36.39	447.73±67.59	38.90	452.44±25.18	39.07	430.17±53.09	37.22	338.10±112.86	32.70	1.248	0.307
总蛋白含量	1159.00±104.29	—	1157.00±118.04	—	1151.00±118.18	—	1158.00±81.06	—	1156.00±110.07	—	1034.00±40.37	—	0.009	0.999

注: Θ 表示成都、郑州、牡丹江和南京市之间的统计推断。%: 占总蛋白含量的百分比。

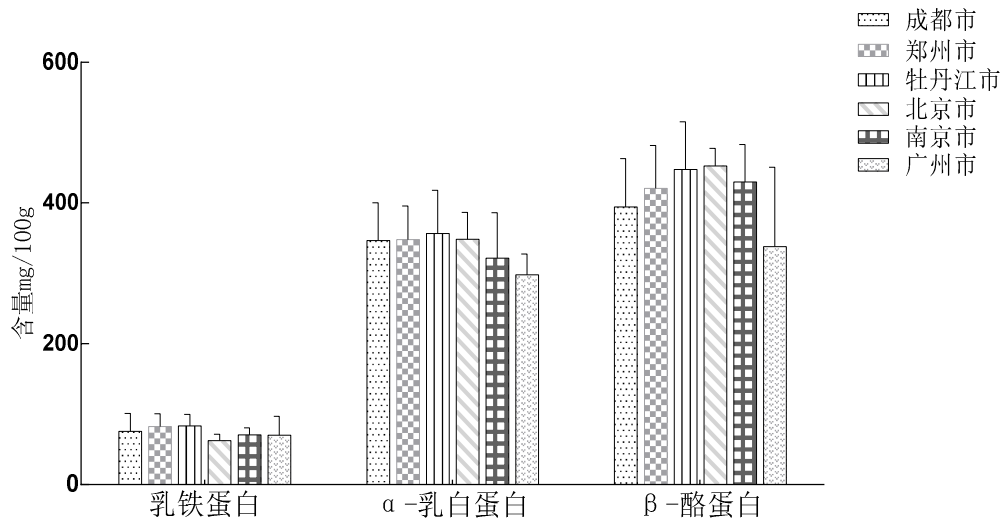


图 3.1 中国 6 城市人乳中 3 种特殊蛋白含量

各城市的人乳中 α -乳白蛋白、 β -酪蛋白占总蛋白比例分别为 29.62%、43.67%。两者占总蛋白含量的比例分别是乳铁蛋白 4、6 倍。人乳中特殊蛋白占总蛋白的比例最高是牡丹江市 77.1%，最低是广州市 68.3%。详见图 3.2。

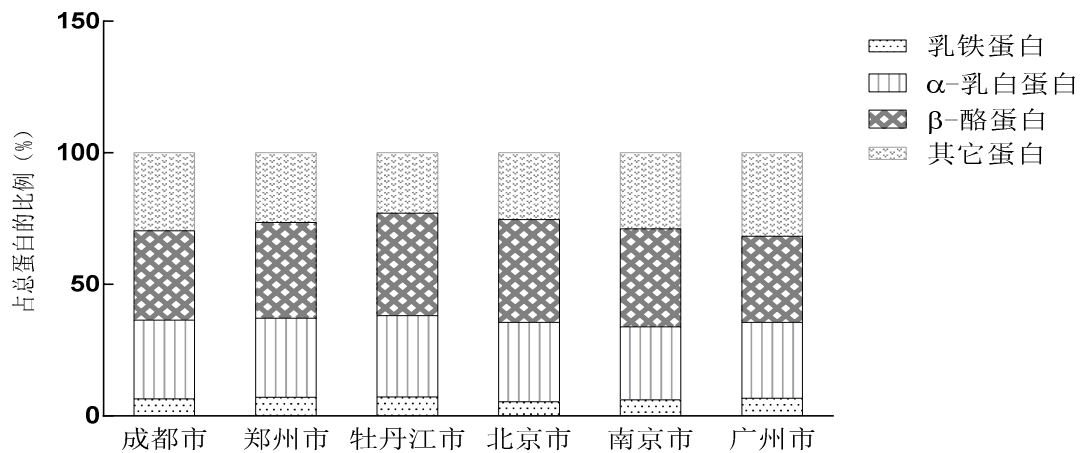


图 3.2 中国 6 城市人乳中 3 种特殊蛋白占总蛋白的比例

随机抽取 50 例人乳与 12 例牛乳和 12 例羊乳进行总蛋白和特殊蛋白的含量比较分析。乳铁蛋白、 α -乳白蛋白含量最高是人乳(72.70mg/100g、345.75mg/100g)，最低是羊乳(4.64mg/100g、157.10mg/100g)。 β -酪蛋白含量最高是羊乳(1423.16mg/100g)，最低是人乳(425.85mg/100g)，牛乳中的 β -酪蛋白存在两种基因型，即 A₁ 和 A₂ 型，两者的含量分别为 518.44、428.87mg/100g。

牛、羊乳中总蛋白含量明显高于人乳。不同乳源的总蛋白含量和特殊蛋白含量之间差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 经两两比较, 牛乳和羊乳中 α -乳白蛋白不具有差异 ($P>0.05$)。详见表 3.5、图 3.3。

表 3.5 不同乳源中总蛋白和 3 种特殊蛋白的含量 (mg/100g)

检测指标	不同乳源	例数	含量 M(P_{25} , P_{75})	X^2	P
总蛋白	人乳	50	1125.00 (1050.00 , 1220.00)	48.81	<0.001
	牛乳	12	3415.00 (3195.00 , 3555.00)		
	羊乳	12	3130.00 (2970.00 , 3275.00)		
乳铁蛋白	人乳	50	72.70 (61.90 , 88.70)	48.94	<0.001
	牛乳	12	6.04 (5.08 , 6.81)		
	羊乳	12	4.64 (4.21 , 4.94)		
α -乳白蛋白	人乳	50	345.75 (309.30 , 361.30)	48.15	<0.001
	牛乳	12	164.89 (142.60 , 169.90)		
	羊乳	12	157.10 (150.63 , 160.00)		
β -酪蛋白	人乳	50	425.85 (374.30 , 468.40)	36.41	<0.001
	牛乳 _{A1}	12	518.44 (484.64 , 536.54)		
	牛乳 _{A2}		428.87 (406.78 , 460.40)		
	羊乳	12	1423.16 (1339.26 , 1451.57)		

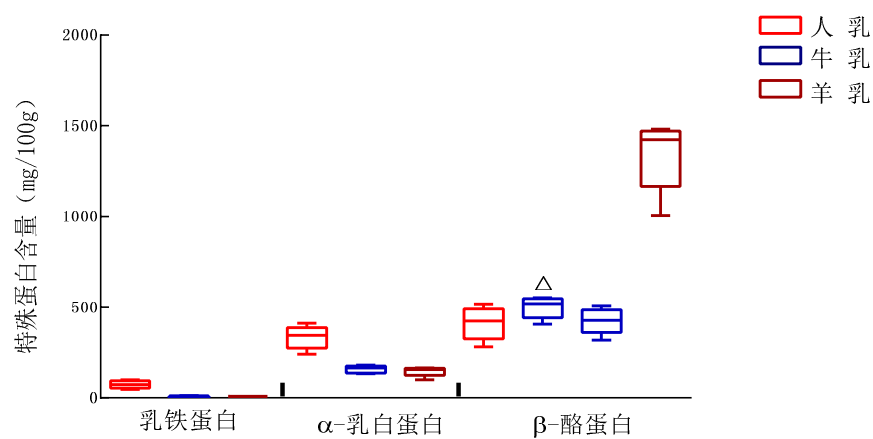


图 3.3 不同乳源中特殊蛋白的含量

注:△表示 β -酪蛋白的 A₁ 型

3.2.2 人乳和牛乳、羊乳的氨基酸含量

按照上述材料与方法中确定的色谱检测条件，可以保证氨基酸标准样品实现完全分离的理想状态，分离出具有代表性的赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、苏氨酸、组氨酸等 16 种氨基酸，图形的峰左右对称且保留时间明确，可作为样品测定时的参照，标准图谱如下所示：

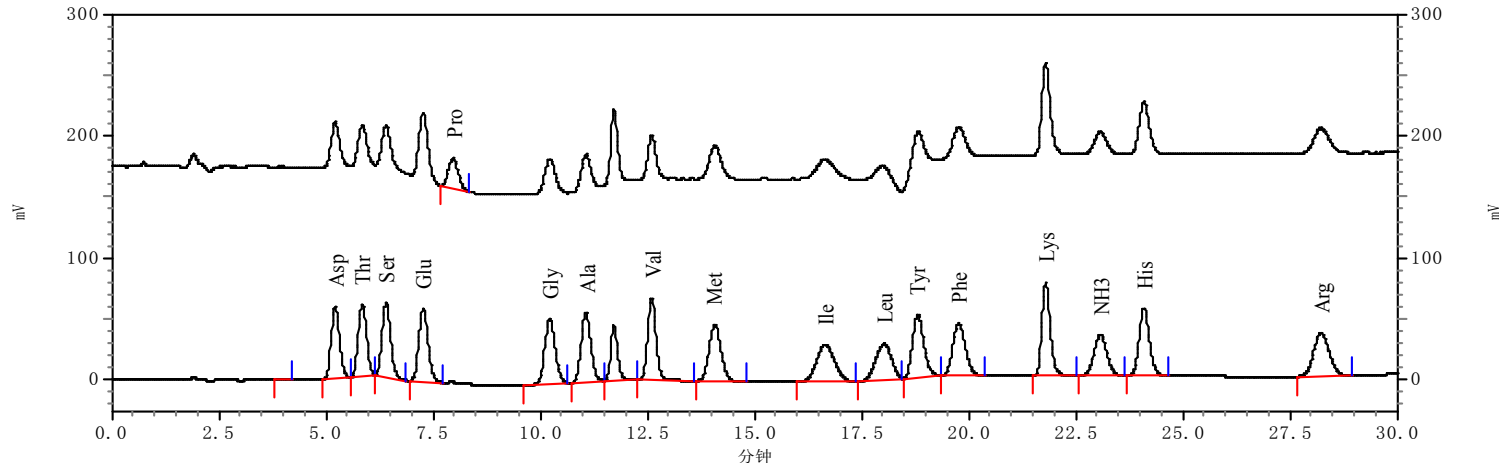


图 3.4 标准品的氨基酸图谱

人乳的 18 种氨基酸中 TAA(总含量)范围为 $7.69 \pm 1.13 \sim 11.04 \pm 1.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，总氨基酸的含量最高的是郑州市($11.04 \pm 1.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)，最低的是广州市($7.69 \pm 1.13 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)，其中，含量最多的是谷氨酸(各城市的含量分别为 1.77 ± 0.28 、 1.92 ± 0.21 、 1.86 ± 0.34 、 1.85 ± 0.23 、 1.69 ± 0.24 和 1.32 ± 0.17) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，含量最低的是色氨酸。各城市的组氨酸含量分别为 0.25 ± 0.05 、 0.28 ± 0.04 、 0.28 ± 0.05 、 0.27 ± 0.03 、 0.24 ± 0.04 和 $0.20 \pm 0.03 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。各城市之间亮氨酸、色氨酸含量的差异不具有统计学意义 ($P > 0.05$)，非必需和条件必需氨基酸差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。详见表 3.6。

表 3.6 6 城市人乳中 18 种氨基酸含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$) 及占 TAA 百分比 (%)

检测指标	成都市		郑州市		牡丹江市		北京市		南京市		广州市		平均水平	F ^Θ	P ^Θ
	含量	%	含量	%	含量	%	含量	%	含量	%	含量	%			
EAA	4.48±0.87	44.27	4.81±0.67 ^{&}	43.57	4.77±0.88 ^{&}	43.72	4.74±0.38	44.18	4.12±0.67	43.64	3.40±0.53	44.21	4.49±0.81	3.231	0.027
THR	0.48±0.09	4.74	0.53±0.07 ^{*&}	4.80	0.52±0.09 ^{&}	4.77	0.51±0.04	4.75	0.45±0.07	4.77	0.38±0.06	4.94	0.49±0.08	3.932	0.012
VAL	0.57±0.10	5.63	0.62±0.09 ^{&}	5.62	0.63±0.12 ^{&}	5.77	0.61±0.05	5.68	0.51±0.09	5.40	0.42±0.06	5.46	0.57±0.11	5.696	0.001
MET	0.29±0.09	2.87	0.23±0.03 ^{*&}	2.08	0.23±0.05 ^{*&}	2.11	0.22±0.02	2.05	0.19±0.04 [*]	2.01	0.14±0.03	1.82	0.23±0.07	11.681	<0.001
LEU	1.10±0.24	10.87	1.18±0.19 ^{&}	10.69	1.16±0.24 ^{&}	10.63	1.16±0.08	10.81	1.00±0.20	10.59	0.78±0.15	10.14	1.09±0.22	2.732	0.050
ILE	0.52±0.09	5.14	0.60±0.08 ^{&}	5.43	0.60±0.10 ^{*&}	5.50	0.60±0.06	5.59	0.49±0.09	5.19	0.40±0.06	5.20	0.54±0.10	4.760	0.004
PHE	0.41±0.08	4.05	0.47±0.06 [*]	4.26	0.46±0.08 [*]	4.22	0.45±0.05	4.19	0.44±0.05	4.66	0.41±0.06	5.33	0.44±0.07	3.049	0.034
LYS	0.70±0.12	6.92	0.79±0.11 ^{*&}	7.16	0.78±0.14 ^{*&}	7.15	0.78±0.07	7.27	0.67±0.11	7.10	0.55±0.09	7.15	0.73±0.13	4.421	0.006
TRP	0.15±0.04	1.48	0.14±0.03	1.27	0.13±0.03 [*]	1.19	0.13±0.01	1.21	0.13±0.02 [*]	1.38	0.12±0.02	1.56	0.14±0.03	2.167	0.099
HIS	0.25±0.05	2.47	0.28±0.04 ^{&}	2.54	0.28±0.05 ^{&}	2.57	0.27±0.03	2.52	0.24±0.04	2.54	0.20±0.03	2.60	0.26±0.05	4.606	0.005
CEAA	0.62±0.08	6.13	0.69±0.07 ^{*&}	6.25	0.71±0.09 ^{*&}	6.51	0.73±0.10	6.80	0.56±0.15 [*]	5.93	0.42±0.06	5.46	0.64±0.13	12.905	<0.001
TYR	0.44±0.07	4.35	0.52±0.06 ^{*&}	4.71	0.54±0.08 ^{*&}	4.95	0.56±0.09	5.22	0.41±0.14	4.34	0.28±0.04	3.64	0.47±0.12	9.378	<0.001
CYS	0.18±0.04	1.78	0.17±0.02	1.54	0.17±0.02	1.56	0.17±0.03	1.58	0.15±0.02 [*]	1.59	0.14±0.02	1.82	0.17±0.03	2.937	0.039
NEAA	5.01±0.88	49.51	5.54±0.66 ^{&}	50.18	5.44±0.96 ^{*&}	49.86	5.27±0.53	49.11	4.76±0.73	50.42	3.88±0.55	50.46	5.11±0.87	5.899	<0.001
ASP	0.89±0.17	8.79	0.97±0.12 ^{&}	8.79	0.96±0.18 ^{&}	8.80	0.93±0.10	8.67	0.82±0.14	8.69	0.70±0.10	9.10	0.90±0.16	4.038	0.010
SER	0.47±0.09	4.64	0.53±0.07 ^{*&}	4.80	0.52±0.09 ^{*&}	4.77	0.51±0.04	4.75	0.45±0.07	4.77	0.37±0.05	4.81	0.49±0.09	4.702	0.005
GLU	1.77±0.28	17.49	1.92±0.21 ^{&}	17.39	1.86±0.34 ^{&}	17.05	1.85±0.23	17.24	1.69±0.24	17.90	1.32±0.17	17.17	1.78±0.30	2.760	0.048
GLY	0.23±0.04	2.27	0.25±0.03 ^{&}	2.26	0.25±0.04 ^{&}	2.29	0.23±0.02	2.14	0.21±0.03	2.22	0.18±0.03	2.34	0.23±0.04	5.384	0.002
ALA	0.39±0.07	3.85	0.42±0.05 ^{&}	3.80	0.42±0.07 ^{&}	3.85	0.39±0.03	3.63	0.35±0.06	3.71	0.30±0.04	3.90	0.39±0.07	4.817	0.004
ARG	0.35±0.08	3.46	0.40±0.06 ^{*&}	3.62	0.40±0.08 ^{*&}	3.67	0.37±0.03	3.45	0.33±0.05	3.50	0.29±0.05	3.77	0.36±0.07	5.276	0.002
PRO	0.91±0.15	8.99	1.04±0.15 ^{*&}	9.42	1.04±0.19 ^{*&}	9.53	1.03±0.10	9.60	0.92±0.16	9.75	0.75±0.11	9.75	0.97±0.17	3.835	0.013
TAA	10.12±1.82	100	11.04±1.37 ^{&}	100	10.91±1.92 [*]	100	10.73±0.97	100	9.44±1.51	100	7.69±1.13	100	10.25±1.79	3.969	0.011

*: 与成都市相比, $P<0.05$; &: 与南京市相比, $P<0.05$ 。注: Θ 表示成都、郑州、牡丹江和南京市之间的统计推断。

各城市之间, EAA 含量最高的是亮氨酸分别为 1.10 ± 0.24 、 1.18 ± 0.19 、 1.16 ± 0.24 、 1.16 ± 0.08 、 1.00 ± 0.20 和 $0.78\pm0.15\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 含量最低的是色氨酸分别为 0.15 ± 0.04 、 0.14 ± 0.03 、 0.13 ± 0.03 、 0.13 ± 0.01 、 0.13 ± 0.02 和 $0.12\pm0.02\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 组氨酸的含量范围为 $0.20\pm0.03\sim0.28\pm0.05\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 必需氨基酸之间比例相对恒定, 占 TAA 比例为 44%。详见图 3.5 和表 3.6。

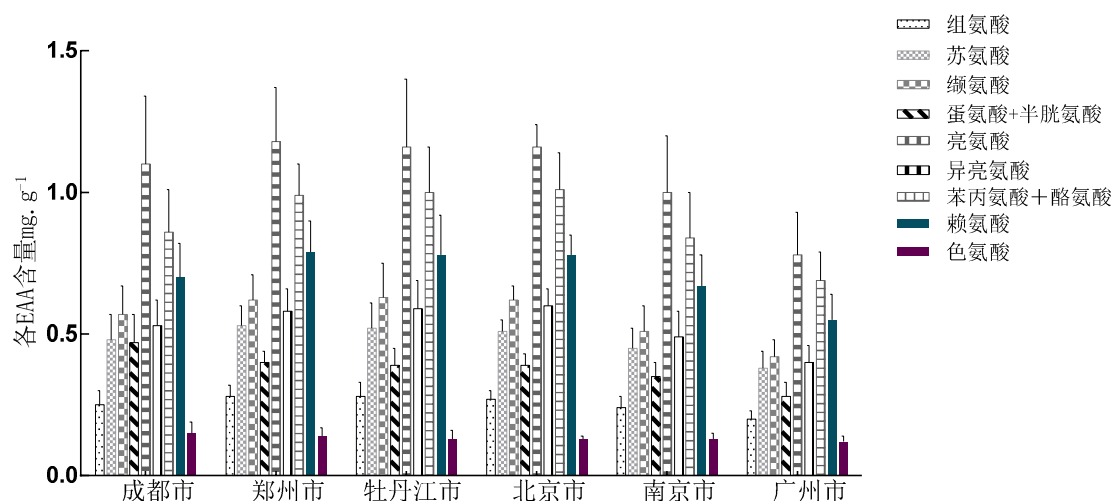


图 3.5 中国 6 城市人乳中 EAA 含量

96 例人乳与 12 例牛乳、12 例羊乳进行氨基酸含量、模式和评分的比较分析。氨基酸总含量上, 牛乳 ($32.91\pm2.06\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 和羊乳 ($30.66\pm2.78\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 氨基酸含量高于人乳 ($10.25\pm1.79\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)。牛乳和羊乳的 18 种氨基酸中含量最高是谷氨酸分别为 6.46 ± 0.50 、 $6.03\pm0.52\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 含量最低是半胱氨酸分别为 0.28 ± 0.05 、 $0.26\pm0.05\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。牛、羊乳的 EAA/TAA 高于人乳。人乳和牛乳、羊乳的 9 种必需氨基酸中, 亮氨酸的含量最高, 不同乳源的亮氨酸含量分别为 $1.09\pm0.22\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $3.51\pm0.22\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $3.27\pm0.33\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。婴儿所特有的必需氨基酸 (组氨酸), 在牛乳 ($0.84\pm0.05\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 和羊乳 ($0.78\pm0.08\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 中的含量高于母乳 ($0.26\pm0.05\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)。不同乳源的 18 种氨基酸含量差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 经两两比较, 牛乳和羊乳的缬氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、脯氨酸、半胱氨酸含量差异不具有统计学意义 ($P>0.05$)。详见表 3.7, 图 3.6。

表 3.7 不同乳源中 18 种氨基酸含量 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $\bar{x}\pm S$) 及占 TAA 百分比 (%)

检测指标	人乳		牛乳		羊乳		F	P
	含量	%	含量	%	含量	%		
EAA	4.49±0.81	43.80	15.61±1.03	47.43	14.51±1.38	47.33	1322.662	<0.001
THR	0.49±0.08	4.78	2.44±0.16 [#]	7.41	2.12±0.18 ^{#※}	6.91	2817.463	<0.001
VAL	0.57±0.11	5.56	1.92±0.15 [#]	5.83	1.98±0.20 [#]	6.46	1173.002	<0.001
MET	0.23±0.07	2.24	0.87±0.07 [#]	2.64	0.78±0.08 ^{#※}	2.54	756.026	<0.001
LEU	1.09±0.22	10.63	3.51±0.22 [#]	10.67	3.27±0.33 ^{#※}	10.67	910.076	<0.001
ILE	0.54±0.10	5.27	1.52±0.10 [#]	4.62	1.35±0.14 ^{#※}	4.40	697.316	<0.001
PHE	0.44±0.07	4.29	1.53±0.11 [#]	4.65	1.46±0.14 [#]	4.76	1529.259	<0.001
LYS	0.73±0.13	7.12	2.56±0.18 [#]	7.78	2.50±0.22 ^{#※}	8.15	1491.202	<0.001
TRP	0.14±0.03	1.37	0.33±0.05 [#]	1.00	0.32±0.04 [#]	1.04	321.620	<0.001
HIS	0.26±0.05	2.54	0.84±0.05 [#]	2.55	0.78±0.08 ^{#※}	2.54	1121.235	<0.001
CEAA	0.64±0.13	6.24	1.79±0.12 [#]	5.44	1.39±0.14 ^{#※}	4.53	561.337	<0.001
TYR	0.47±0.12	4.59	1.52±0.10 [#]	4.62	1.13±0.11 ^{#※}	3.69	569.410	<0.001
CYS	0.17±0.03	1.66	0.28±0.05 [#]	0.85	0.26±0.05 [#]	0.85	95.364	<0.001
NEAA	5.11±0.87	49.85	15.51±0.96 [#]	47.13	14.76±1.28 ^{#※}	48.14	1126.080	<0.001
ASP	0.90±0.16	8.78	1.38±0.08 [#]	4.19	1.52±0.13 ^{#※}	4.96	124.309	<0.001
SER	0.49±0.09	4.78	1.76±0.11 [#]	5.35	1.58±0.13 ^{#※}	5.15	1535.081	<0.001
GLU	1.78±0.30	17.37	6.46±0.50 [#]	19.63	6.03±0.52 ^{#※}	19.67	1594.285	<0.001
GLY	0.23±0.04	2.24	0.61±0.03 [#]	1.85	0.51±0.05 ^{#※}	1.66	622.678	<0.001
ALA	0.39±0.07	3.80	1.12±0.07 [#]	3.40	0.99±0.09 ^{#※}	3.23	873.939	<0.001
ARG	0.36±0.07	3.51	1.11±0.08 [#]	3.37	0.88±0.09 ^{#※}	2.87	720.450	<0.001
PRO	0.97±0.17	9.46	3.08±0.18 [#]	9.35	3.23±0.31 [#]	10.53	1257.621	<0.001
TAA	10.25±1.79	100	32.91±2.06 [#]	100	30.66±2.78 ^{#※}	100	1203.873	<0.001

#：与人乳相比， $P<0.05$ ；※：与牛乳相比， $P<0.05$ 。

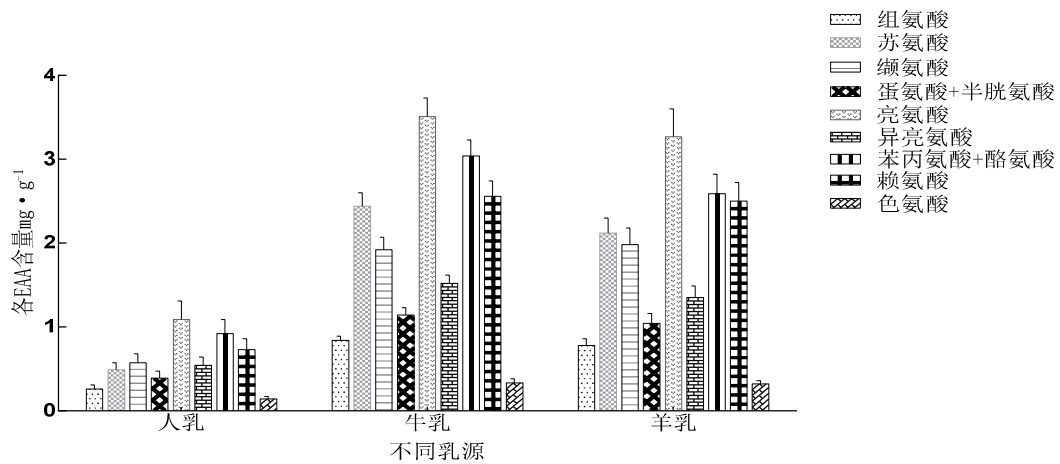


图 3.6 不同乳源中 EAA 含量

3.2.3 人乳和牛乳、羊乳的氨基酸模式

蛋白质中必需氨基酸的含量与色氨酸比值作为食物蛋白的氨基酸模式。各城市母乳氨基酸模式相近，符合人体需要模式。FAO/WHO（2011）模式下不同乳源的氨基酸比较时，牛乳和羊乳的 EAA/TAA 在 47%以上，FAO/WHO 推荐标准（36%），两者属于优质蛋白。

不同乳源的氨基酸模式与人体氨基酸需要模式相近。各组中异亮氨酸差异不具有统计学意义 ($P>0.05$)，其余氨基酸差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。不同乳源经两两比较，人乳和牛乳氨基酸模式中苏氨酸无差异，人乳和羊乳氨基酸模式中蛋氨酸和半胱氨酸无差异。详见表 3.8，图 3.7，图 3.8。

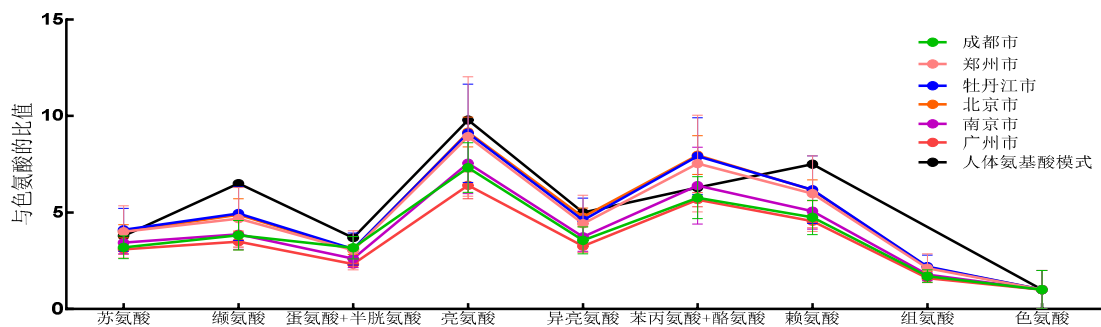


图 3.7 不同城市的人乳氨基酸模式

注：人体氨基酸模式摘自：WHO/FAO/UNU.[74]

表 3.8 不同乳源的氨基酸模式

检测指标	人乳	牛乳	羊乳	人体 [★]	F	P
THR	3.69±0.96	4.19±0.55	4.83±0.51 [★]	3.8	129.216	<0.001
VAL	4.34±1.20	5.83±0.73 [★]	6.31±0.70 [★]	6.5	23.200	<0.001
MET+ CYS	2.96±0.73	3.48±0.48 [★]	3.31±0.33	3.7	4.188	0.018
LEU	8.22±2.23	10.69±1.40 [★]	10.38±1.08 [★]	9.8	11.998	<0.001
ILE	4.10±1.09	4.63±0.63	4.29±0.47	5.0	1.534	0.220
PHE+ TYR	6.94±1.90	9.27±1.20 [★]	8.24±0.84 [★]	6.3	11.141	<0.001
LYS	5.51±1.47	8.10±1.08 [★]	7.79±0.79 [★]	7.5	29.959	<0.001
HIS	1.95±0.53	2.57±0.36 [★]	2.49±0.24 [★]	—	13.178	<0.001
TRP	1	1	1	1	—	—

★：与人乳相比， $P<0.05$ 。◆：人体氨基酸模式

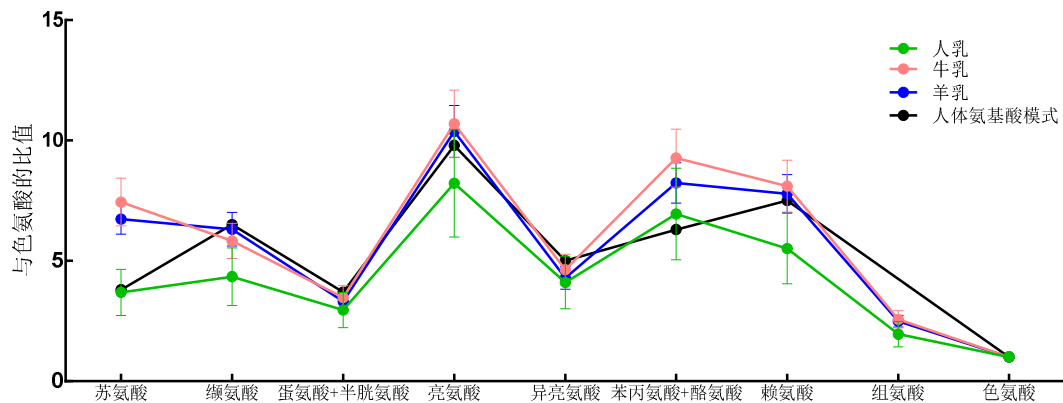


图 3.8 人乳和牛、羊乳的氨基酸模式

注：人体氨基酸模式摘自：WHO/FAO/UNU.[74]

3.2.4 人乳和牛乳、羊乳的氨基酸评分

目前,食物蛋白的氨基酸评分是被广泛采用评价蛋白质质量的方法,通过借助参考蛋白组分与待测物的氨基酸各组成进行比较,获得限制氨基酸比值。食物的氨基酸评分会受不同年龄人群、不同的食物等因素的影响,把人体需要模式作为衡量标准,进而判定最优质的食物来源。比较时,按下面的公式进行:

$$\text{氨基酸评分} = \frac{\text{被测蛋白质每克氮(或蛋白质)中氨基酸量(mg)}}{\text{理想模式或参考蛋白质中每克氮(或蛋白质)中氨基酸量(mg)}} \times 100\%$$

本研究通过对不同乳源的必需氨基酸含量与表中所列参考蛋白依次作比后,色氨酸(第一限制氨基酸)的比值作为氨基酸评分。不同乳源的氨基酸评分分别为6.39、15.07和14.61,且表中列出婴儿(6月龄)需要的氨基酸评分作为参照,经比较后,人乳的氨基酸评分更符合婴儿营养需要,其次是羊乳、牛乳。作为婴儿所特有的必需氨基酸(组氨酸)进行氨基酸评分时,其评分值分别为9.77、31.58和29.32。详见表3.9。

表 3.9 人乳和牛乳、羊乳的氨基酸评分

指标	人乳	牛乳	羊乳	婴儿 (6月龄) ^φ	参考蛋白 (白皮)鸡蛋 ^θ
THR	8.63	42.96	37.32	31	5.68
VAL	8.28	27.91	28.78	43	6.88
MET+ CYS	6.69	19.23	17.39	28	5.98
LEU	10.58	34.08	31.75	66	10.30
ILE	8.72	24.56	21.81	32	6.19
PHE+ TYR	8.30	27.83	23.63	52	10.96
LYS	8.72	30.59	29.87	57	8.37
HIS	9.77	31.58	29.32	20	2.66
TRP	6.39	15.07	14.61	8.5	2.19

注:带φ号的数据来源于第八版《营养与食品卫生学》;带θ号的数据来源于《《中国食物成分表》2009年(第二版)》

第四章 讨 论

近年来,随着我国经济的高速发展,食物供应的丰富和居民生活水平的不断提高,我国城乡居民的膳食结构发生了显著变化。目前我国居民存在3种膳食结构,即偏远城市居民保持东方膳食结构(植物性食物为主,动物性食物为辅)、经济发达城市居民是西方经济发达国家膳食结构(动物性食物及食糖消费量大)和其他膳食结构(东方膳食结构向西方经济发达国家膳食结构过渡)^[75]。根据《中国具体区域划分》及《2017年中国城市分级完整名单》,考虑项目要求的是健康状态的乳母及样本的代表性,故本研究采样地点为成都市、郑州市、牡丹江市、北京市、南京市和广州市,且调查问卷涉及乳母的基础信息和乳样的采集信息,作为各地基本数据的来源。《中国居民膳食指南(2016)》指出人乳为婴儿提供了优质、丰富和结构适宜的营养素和免疫保护,同时又能更好协作其尚未成熟消化能力,并促进其器官和功能的成熟。近年的研究显示人乳对健康带来的益处甚至可以延续到成人期,能够有效的预防其成年后非传染性慢性疾病的发生,人乳喂养的婴儿被证实在成年后具有较低的高血压和高胆固醇血症的发病率^[76]。人乳的营养成分会受到泌乳期的显著影响^[77],虽然初乳中蛋白质含量比较高,但初乳喂养时间短且蛋白变化也是最大的,成熟乳相较于其他泌乳时期,婴儿喂养时间最长,提供的营养物质更丰富和恒定,故本研究收集的是健康乳母提供的成熟乳。

国务院印发《国民营养计划(2017-2030年)》大力宣传和倡导下,公众的健康素养和营养知识显著提升,由于饮食与健康的重要关系,全球范围内人们更加关注食物的安全问题,婴幼儿食品的质量一直是消费者关注的重点^[78]。羊乳和牛乳也是婴儿配方食品的主要乳源,两者在蛋白质质量的比较方面的研究报道不多。内蒙古自治区是我国自然条件最适合乳业发展的地区之一^[79],研究所采集牛乳样本来源于内蒙古自治区某牧场;陕西地区是我国山羊奶主要产区和发源地^[80]。因此本研究所采集山羊乳来源于陕西地区某牧场。

4.1 不同乳源中总蛋白质及特殊蛋白含量比较分析

乳是人类饮食中非常重要的一部分,乳成分中所含有的蛋白质一直被评价为

优质蛋白质,具有较高的生物学价值和良好的消化率,同时具有显著的功能特殊性。本研究中,采样各城市的总蛋白、人乳铁蛋白、 α -乳白蛋白和 β -酪蛋白含量不具有差异,这些蛋白质处于一个比较稳定的水平。以往的研究显示^[81],人乳中蛋白质的含量波动较小,一般不受乳母的膳食蛋白质摄入量的影响,但是会随母亲的体重身高比的增加而增加。Yang^[82]等的研究中,人乳中蛋白质的含量被认为和乳母 BMI 的值呈正相关,这说明乳母的 BMI 对人乳中的蛋白质含量的影响大于乳母的膳食摄入,关注产前产后的 BMI 水平可为婴幼儿摄取蛋白营养提供保障。乳母 BMI 在健康的范围内,适当的提高蛋白水平,更好的保证优质乳蛋白输出。本研究显示,不同乳源的总蛋白质含量和特殊蛋白的含量之间均具有显著性差异,且牛、羊乳中蛋白质含量明显高于人乳。蛋白组学对不同乳源建立主要蛋白的电泳图谱也显示成分差异^[83],并证实乳蛋白在物种之间存在差异。乳蛋白的变化不仅物种之间差异明显,且随着哺乳期时间变化而变化^[84]。流行病学开展的大量人群调查研究^[85, 86]也证明此变化。

本研究中,各城市的人乳特殊蛋白中铁蛋白含量低。这与单炯等的研究^[87]中乳铁蛋白含量报道一致,也是婴儿配方食品进行强化的依据之一^[88]。乳铁蛋白是广泛的存在动物的乳汁中的重要特殊蛋白之一^[89],在婴儿的免疫功能、肠道运输营养等方面发挥着重要作用。Kaur 等^[90]在印度进行双盲随机对照试验中,发现了牛乳铁蛋白对低出生体重新生儿迟发型败血症首次发病具有预防作用。本研究乳铁蛋白在不同乳源中以人乳的含量最高为 72.70 mg/100g。大量的研究表明:乳铁蛋白通过抵抗微生物、促进肠道发育和免疫调节等作用发挥其健康效应。应用乳铁蛋白喂养的小猪后,猪十二指肠内的神经营养因子水平显著增高,十二指肠的绒毛生长速度加快^[91]。Ke 等^[92]在四川对 213 名足月健康婴儿开展随机对照实验,发现补充乳铁蛋白组比铁元素组的婴儿在体重、血清铁、身高 z 评分等方面均显著增高。本研究中乳铁蛋白的含量低于 α -乳白蛋白、 β -酪蛋白,但乳铁蛋白对健康效应发挥了不可低估的作用。Chen 等^[93]开展的随机对照试验中,乳铁蛋白强化组和纯母乳喂养组婴儿的呼吸道相关疾病发生率显著低于非乳铁蛋白强化奶组。Akin^[94]等对新生儿进行乳铁蛋白干预实验,干预组给予 200mg/d 的乳铁蛋白,对照组给予生理盐水。Akin 的结果显示干预组未发现坏死性结肠炎,对照组发生 5 例小肠结肠炎。乳铁蛋白在降低新生儿坏死性小肠结肠炎方面也显

示出特定的功能。

母乳的乳清蛋白中占据比例最多的是 α -乳白蛋白, 属小分子蛋白。近年来, α -乳白蛋白对于婴儿的生长发育、促进胃肠道功能、缓解情绪障碍等方面发挥的重要作用备受关注。 α -乳白蛋白是特殊蛋白中唯一能结合钙的乳清蛋白, 既是必需氨基酸和支链氨基酸合成的良好物质基础, 也是氮的良好来源^[95]。临床研究表明, 降低总蛋白的浓度并增加 α -乳白蛋白浓度, 可得到必需氨基酸浓度与母乳喂养婴儿类似的配方乳。 α -乳白蛋白与母乳中大部分蛋白质不同^[96], 在整个哺乳期含量呈逐渐下降趋势, 因此有必要在哺乳后期加强 α -乳白蛋白的补充。本研究结果显示, α -乳白蛋白在不同乳源之间存在差异, 人乳中 α -乳白蛋白相较于牛乳、羊乳含量较高(345.75 mg/100g), α -乳白蛋白在羊乳中含量最低(157.10 mg/100g)。

《中国居民膳食指南(2016)》建议中国居民每人每天摄入 300 克的乳制品, 乳及乳制品提供了优质的钙。 α -乳白蛋白对钙的吸收有极大帮助。本研究对人乳和牛、羊乳进行两两比较检验, 牛乳和羊乳的 α -乳白蛋白无差异与人体差距很大, 成年人摄入乳源无差别, 选择多元性。以往的研究证明牛乳和羊乳蛋白质的溶解度和粘性性质相似, 这可能是不同哺乳动物乳白蛋白之间氨基酸序列的差异随物种亲缘性降低而降低。

本研究结果显示人乳及牛、羊乳的 β -酪蛋白存在亚型差异, 这种差异可能来源是牛乳的酪蛋白中存在 A_1 和 A_2 两个基因型。人乳的 β -酪蛋白内部二级结构比牛乳中少, 羊乳的几种酪蛋白比例较牛乳与母乳更接近。蛋白单体内部结构构象开放疏松, 使其容易消化吸收、释放并且保留某些活性物质^[97]。本实验中羊乳的酪蛋白含量显著高于人乳和牛乳, 羊乳的酪蛋白主要以 A_2 的形式存在^[76]。在以往研究中等蛋白质量凝胶图谱中^[98]可看出: 羊乳中酪蛋白结构疏松, 更易于被婴儿消化。羊乳蛋白的良好品质是由酪蛋白的稳定性决定的, 它不会产生牛乳消化过程的 β -CM-7 (β -酪啡肽-7)。 β -CM-7 与牛乳在代谢过程中易引起胃肠道紊乱导致过敏过程密切相关, β -CM-7 产生是来源于酪蛋白的 A_1 型而非 A_2 型, 本研究中不同乳源中只有牛乳中含有 A_1 型酪蛋白。以往研究对人乳与山羊乳、牛乳在模拟婴儿消化蛋白过程进行比较分析^[99], 山羊乳为乳基的婴儿配方粉更接近人乳蛋白消化。与牛乳相比, 羊乳会在胃里形成更柔软和更小的凝乳, 这可能与消化的作用胃蛋白酶有关。1999 年世界卫生组织 (WHO) 把过敏性疾病列为人类

重点研究和预防的疾病之一,婴幼儿对乳蛋白过敏一直是食品安全领域广泛关注的重点问题。牛乳是一种主要的食物过敏原,最早影响婴儿尚未发育完全的酶系统,可能在整个成年期持续存在^[100]。研究报道证明乳类的过敏症状产生来源于牛乳,本研究发现这可能与牛乳中含有 A₁ 型酪蛋白有关。相关报道证实牛乳过敏的情况下使用山羊乳、马乳或者豆浆作为替代品能够缓解症状,针对过敏的治愈率可达 60%。婴幼儿免疫系统未发育完全可能容易受环境过敏原的影响^[101],所以乳源的安全性是保证婴幼儿能否健康发育的核心环节。

4.2 不同乳源中氨基酸含量、模式及评分比较分析

蛋白质是保证一切生命活动正常进行的重要基础物质之一,它始终处于不断地分解和合成的动态平衡之中。蛋白质消化、吸收过程中,分解的成结构单位氨基酸、酶、肽、某些激素等,都参与着体内各种生理功能调节与营养物质的输送。氨基酸被认为是“生化全能的分子”,一方面能够转化能量,另一方面可以作为碳水化合物和脂类的中间体。组成蛋白质的 20 种氨基酸除甘氨酸外,都有一个不对称的碳原子,即 α -碳原子,每种氨基酸都具有其特异和复杂的空间构象,可以分为 D-构型和 L-构型,构成人体的 20 种氨基酸都是 L-构型的结构。从机体能否内源合成的角度来看,氨基酸被归类为“非必需(NEAAs)”或“必需(EAAs)”。NEAAs 在体内由碳水化合物和脂质合成而来。然而, EAA 在人体内^[102]无法合成,需要及时且合理的从饮食中摄取,它们也是蛋白质合成最相关的营养“输送”。

食物蛋白质质量的优劣可以体现在多方面,所含营养成分含量、构比、评分、多种营养物质的交互影响以及被人体消化、吸收和利用的程度等。即便同等重量的乳蛋白前提下,因其所含有必需氨基酸的种类、含量、模式不同,其促进婴幼儿机体生长发育的效果也是有差别的。乳蛋白作为优质蛋白质一种,乳汁的分泌是乳蛋白最充足和主要来源之一。刚出生的婴儿吸吮乳房,启动乳母泌乳的全过程^[103]。本研究收集 96 份健康且充足的成熟乳,乳汁进入婴儿胃肠道后,乳蛋白需要保存完整结构或者保留其重要部分,可以释放出活性物质,供机体代谢需要,整个消化过程提供了均衡的氨基酸来源,保证婴儿生长发育的正常进行^[104]。氨基酸可反向作为蛋白质的“质”衡量指标之一,本研究通过氨基酸含量、模式、

评分等指标综合评价不同乳源的差异性。乳母因为一些原因可能无法提供乳汁给婴儿,此时代乳配方产品在供给婴儿营养中发挥重要作用。传统上,牛乳为主的产品占主导地位,以往的研究发现人乳中的一些蛋白也存在于牛乳中,但通常浓度相对较低、氨基酸种类存在差异,但是这些蛋白可以不同程度的纯化或富集添加到婴儿配方奶粉中。对于牛乳过敏的婴儿,山羊乳也可作为婴儿合适蛋白质来源。此外,市场消费表明各类乳制品的乳源以牛乳、羊乳居多。故本研究选择牛乳、羊乳与母乳进行蛋白质质量方面比较,为婴儿配方食品最佳乳源的选择提供理论参考。

氨基酸作为哺乳动物的唯一氮源,它的各种衍生物也是合成能量前体的关键物质。本研究结果中氨基酸含量在各地区之间有差异,总氨基酸的含量最高的是郑州市为 $11.04 \pm 1.37 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,含量最低的是广州市为 $7.69 \pm 1.13 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。各城市之间亮氨酸和色氨酸不存在差异。亮氨酸处于较高水平,人乳中的色氨酸处于较低的水平,属于限制氨基酸。氨基酸的代谢可作为疾病的重要指标^[105]。在不同机体和特定的生物结构中氨基酸的代谢表现为不同的特点。通常情况下,色氨酸和烟酸之间能够进行转化补充。临床上,把维持氨基酸稳态视作维持代谢能力的源头,婴儿配方食品中可以适量的补充色氨酸。乳和乳制品是人类生存所需营养不可或缺的优质来源,它们被认为是生物价值较高的蛋白质。不同乳源的必需氨基酸比较中,亮氨酸被认为是肌肉合成代谢主要营养调节剂^[106]。在外伤或者慢性病时,机体处于负氮平衡,蛋白质消耗会加大对 EAA 的需要。EAA 摄入不足时会诱发肌肉循环蛋白质的降解,这可能是肥胖患者心力衰竭产生的机制^[107]。本研究在 FAO/WHO (2011) 模式下,牛乳、羊乳的 EAA/TAA 都在 47% 以上,属于优质蛋白质,不同乳源的氨基酸模式与人体越接近越容易吸收。

氨基酸全面系统的分析为食品中蛋白质质量评价提供可靠参考。本研究中进行氨基酸含量和模式比较时,谷氨酸含量在各研究乳源中均占首位,18 种氨基酸含量在不同乳源具有差异,谷氨酸主要存在中枢神经系统中,支配婴儿大脑内神经反射发挥重要作用。各氨基酸含量存在乳源差异与^[108]研究结果一致,可能原因人乳的氨基酸模式与大猩猩灵长类动物更接近,物种之间的差异决定这一现象。人乳氨基酸模式的特殊性是其他乳源不可比拟的。临床上的一项研究中^[109],对出生一个月婴儿喂食人乳或婴儿配方乳品的两组群体进行血清氨基酸模式比

较，尽管营养需求得到满足，人乳喂养婴儿的血浆中酪氨酸和苯丙氨酸含量显著高于婴儿配方食品喂养的婴儿。氨基酸浓度在机体的抗氧化体系中发挥重要作用，一项研究^[110]比较 20 种氨基酸浓度与强氧化剂高锰酸钾氧化能力，结果显示色氨酸、蛋氨酸、组氨酸和赖氨酸等抗氧化能力作用影响更显著。

食物蛋白质的氨基酸评分^[111]是蛋白质质量评价的重要方法之一。本研究不同乳源的氨基酸评分分别为 6.39、15.07、14.61，与婴儿需要的氨基酸评分（8.5）比较后，人乳的评分更符合婴儿营养需要，其次是羊乳、牛乳，这与以往的研究结果一致^[112]。本研究结果显示调查的乳源中，羊乳比牛乳更适合做婴儿配方食品的乳源。乳和乳制品作为平衡膳食的重要组成部分，应是最完美的健康食品^[113]，对儿童青少年的成长发挥重要作用^[114]。目前，我国与其他国家相比，乳品消费水平偏低，影响乳品在膳食中发挥作用，且不同乳源的营养成分系统探讨的研究较少，但本研究样本量有限，仅能对人乳和牛乳、羊乳的蛋白质质量比较进行初步的探讨，深入机制研究有待进一步进行。

第五章 结 论

1.人不同乳源之间总蛋白和特殊蛋白含量存在统计学差异，其中，人乳中的总蛋白和 β -酪蛋白含量最低，乳铁蛋白和 α -乳白蛋白含量最高，但人乳中总蛋白和特殊蛋白的含量无地域差异。

2. 不同乳源的总氨基酸含量由高到低为牛乳>羊乳>人乳。三种乳源的氨基酸模式与人体所需的氨基酸模式相近。

3.人乳的氨基酸评分符合婴儿营养需求，其次是羊乳、牛乳。

参考文献

- [1] 耿倩, 徐丽, 生庆海. 母乳营养成分研究[J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(8): 1161-4.
- [2] 李慧, 张岩春, 戴智勇, 等. 母乳蛋白质研究进展[J]. 中国食物与营养, 2015, 21(11): 68-70.
- [3] WANG B. Sialic Acid Is an Essential Nutrient for Brain Development and Cognition [J]. Annual Review of Nutrition, 2009, 29(1): 177-222.
- [4] CG V, NC R, S M, et al. Breastfeeding in the 21st century - Authors' reply [J]. The Lancet, 2016, 387(10033): 2089-90.
- [5] Yang Z, Lai J, Yu D, et al. Breastfeeding rates in China: a cross-sectional survey and estimate of benefits of improvement[J]. Lancet, 2016, 388:S47-S47.
- [6] Lönnerdal B. Bioactive Proteins in Human Milk-Potential Benefits for Preterm Infants.[J]. Clinics in Perinatology, 2017, 44(1):179.
- [7] López Alvarez M J. Proteins in human milk.[J]. Breastfeeding Review Professional Publication of the Nursing Mothers Association of Australia, 2007, 15(1):5-16.
- [8] Permyakov E A, Berliner L J. alpha-Lactalbumin: structure and function.[J]. Febs Letters, 2000, 473(3):269.
- [9] 仲玉梅. α -乳白蛋白在婴儿营养中的重要性[J]. 食品工业科技, 1992(2):53-57.
- [10] RENNER E. Milk and dairy products in human nutrition [J]. 1983, 66(21): 11-20.
- [11] Davis A M, Harris B J, Lien E L, et al. Alpha-lactalbumin-rich infant formula fed to healthy term infants in a multicenter study: plasma essential amino acids and gastrointestinal tolerance[J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2008, 62(11):1294.

- [12] 富含 α -乳清蛋白及AA/DHA配方奶粉对足月婴儿体格生长及耐受性的影响[J]. 中国儿童保健杂志, 2006, 14(3):223-225.
- [13] ROZ J C, Barbarot S, Butel M J, et al. An α -lactalbumin-enriched and symbiotic- supplemented v. a standard infant formula: a multicentre, double-blind, randomised trial [J]. British Journal of Nutrition, 2012, 107(11): 1616-22.
- [14] 朱凌燕, 朱晗, 王军波. α -乳白蛋白对婴儿生长发育影响的研究现况[J]. 中国生育健康杂志, 2015(2):193-196.
- [15] Baker E N, Baker H M. A structural framework for understanding the multifunctional character of lactoferrin.[J]. Biochimie, 2009, 91(1):3-10.
- [16] Velliyagounder K, Alsaedi W, Alabdulmohsen W, et al. Oral lactoferrin protects against experimental candidiasis in mice[J]. Journal of Applied Microbiology, 2015, 118(1):212-221.
- [17] Liao Y, Jiang R, Lönnerdal B. Biochemical and molecular impacts of lactoferrin on small I ntestinal growth and development during early life.[J]. Biochimie Et Biologie Cellulaire, 2011, 90(3):476.
- [18] Schanler R J, Hurst N M, Lau C. The use of human milk and breastfeeding in premature infants.[J]. Clinics in Perinatology, 1999, 26(2):379-398.
- [19] Rai D, Adelman A S, Zhuang W, et al. Longitudinal changes in lactoferrin concentrations in human milk: a global systematic review.[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2014, 54(12):1539-1547.
- [20] Ochoa T J, Chea-Woo E, Baiocchi N, et al. Randomized Double-Blind Controlled Trial of Bovine Lactoferrin for Prevention of Diarrhea in Children[J]. Journal of Pediatrics, 2013, 162(2):349-356.
- [21] Nappi C, Tommaselli G A, Morra I, et al. Efficacy and tolerability of oral bovine lactoferrin compared to ferrous sulfate in pregnant women with iron deficiency anemia: a prospective controlled randomized study.[J]. Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica, 2011, 88(9):1031-1035.
- [22] Zavaleta N, Nombera J, Rojas R, et al. Iron and lactoferrin in milk of anemic

- mothers given iron supplements[J]. Nutrition Research, 1995, 15(5):681-690.
- [23] Michele, Sadler, Nicholas, 等. β -酪蛋白与婴幼儿生长和发育[J]. 临床儿科杂志, 2014(2):198-200.
- [24] 王昆, 张霞, 李荣国. 母乳成分相关研究进展[J]. 医学检验与临床, 2015(5):50-51.
- [25] Teucher B, Majsaknewman G, Dainty J R, et al. Calcium absorption is not increased by caseinophosphopeptides.[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2006, 84(1):162-166.
- [26] Sun Z, Zhang Z, Wang X, et al. Relation of beta-casomorphin to apnea in sudden infant death syndrome[J]. Peptides, 2003, 24(6):937-943.
- [27] Sumińska-Ziemann B, Gos T, Jankowski Z. The role of respiratory failure caused by congenital central nervous system abnormalities and the effect of β -casomorphins in sudden infant death syndrome pathogenesis[J]. Archiwum Medycyny Sadowej I Kryminologii, 2015, 65(2):99.37-43.
- [28] 李晓晖. 牛乳中酪蛋白的结构特性及其应用[J]. 食品工业, 2002(1):29-31.
- [29] Venables J P, Vernet C, Chew S L, et al. T-STAR/ÉTOILE: A Novel Relative of SAM68 That Interacts with an RNA-Binding Protein Implicated in Spermatogenesis[J]. Human Molecular Genetics, 1999, 8(6):959.
- [30] Laugesen M, Elliott R. Ischaemic heart disease, Type 1 diabetes, and cow milk A1 beta-casein.[J]. New Zealand Medical Journal, 2003, 116(1168): U295.
- [31] 顾佳升. 牛奶杀菌和奶制品安全[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(3):193-196.
- [32] 张书义, 顾佳升. 代乳育婴之要旨—动物乳汁纵横谈[J]. 中国奶牛, 2014(z3):24-28.
- [33] 李亚茹, 郝力壮, 刘书杰, 等. 牦牛乳与其他哺乳动物乳常规营养成分的比较分析[J]. 食品工业科技, 2016, 37(2): 379-83.
- [34] Fekete Á A, Givens D I, Lovegrove J A. Can milk proteins be a useful tool in the management of cardiometabolic health? An updated review of human

- intervention trials[J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2016, 75(3): 328-341.
- [35] 刘畅, 许晓丹, 史永翠, 等. 羊奶的营养保健功能与研究现状[J]. *乳业科学与技术*, 2013, 36(1): 25-8.
- [36] 刘欣欣, 李发弟, 乐祥鹏. 羊奶成分和奶中主要蛋白的研究进展[J]. *中国畜牧杂志*, 2016, 52(9): 87-91.
- [37] Ahmed A S, El-Bassiony T, Elmalt L M, et al. Identification of potent antioxidant bioactive peptides from goat milk proteins[J]. *Food Research International*, 2015, 74:80-88.
- [38] Costa W K, Souza E L, Beltrão Filho E M, et al. Comparative Protein Composition Analysis of Goat Milk Produced by the Alpine and Saanen Breeds in Northeastern Brazil and Related Antibacterial Activities[J]. *Plos One*, 2014, 9(3):e93361.
- [39] Hodgkinson A J, Wallace O, Boggs I, et al. Gastric digestion of cow and goat milk: Impact of infant and young child in vitro digestion conditions.[J]. *Food Chemistry*, 2018, 245:275-281.
- [40] 毕华, 史新昌, 饶春明. 氨基酸分析在重组蛋白类生物制品质量控制中的应用[J]. *中国生物制品学杂志*, 2013, 26(12): 1856-8.
- [41] 姜大勇, 伊廷存. 氨基酸生产应用现状与展望[J]. *中国果菜*, 2014, (10): 55-8.
- [42] 颜孙安, 姚清华, 林香信, 等. 氨基酸营养价值评价方法的研究[J]. *食品科技*, 2012, (4): 286-90.
- [43] 孙兴玉. 基于氨基酸序列的蛋白质结构功能预测方法研究[D]; 南昌大学, 2011.
- [44] Gonçalves E M. Leucine affects the fibroblastic Vero cells stimulating the cell proliferation and modulating the proteolysis process[J]. *Amino Acids*, 2010, 38(1):145-153.
- [45] Schmidt R L, Simonoviä M. Synthesis and decoding of selenocysteine and human health[J]. *Croatian Medical Journal*, 2012, 53(6):535-550.

- [46] Vockley J , Andersson H C , Antshel K M , et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline[J]. Genetics in Medicine, 2014, 16(2):188-200.
- [47] Barić I, Erdol S, Saglam H, et al. Glycine N-Methyltransferase Deficiency: A Member of Dysmethylating Liver Disorders?[J]. 2016.
- [48] Cant J P , Kim J J M , Cieslar S R L , et al. Symposium review:, Amino acid uptake by the mammary glands: Where does the control lie?[J]. Journal of Dairy Science, 2018: S0022030218302856.
- [49] 李喜艳, 王加启, 魏宏阳, 等. 反刍动物乳腺氨基酸的吸收与代谢[J]. 中国奶牛, 2011, (2): 11-4.
- [50] 肖凯丽, 印遇龙, 张琳, 等. 氨基酸对哺乳动物脂质代谢的调控及其作用机理[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(12): 3473-81.
- [51] Listed N A . Assessment of nutrient requirements for infant formulas.[J]. Journal of Nutrition, 1998, 128(11 Suppl):i.
- [52] 颜孙安, 林香信, 钱爱萍, 等. 化学分析法的理想参考蛋白模式及其化学生物价研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(23): 101-7.
- [53] 何志谦, 闻芝梅. 评价蛋白质质量的新方法——蛋白质消化率校正的氨基酸记分法[J]. 卫生研究, 1999, 28(1): 58-9.
- [54] Eggum B. Comments on report of a joint FAO/WHO expert consultation on protein quality evaluation, Rome 1990.[J]. Zeitschrift Für Ernährungswissenschaft, 1991, 30(2):81-88.
- [55] Boye J, Wijesinha-Bettoni R, Burlingame B. Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method[J]. Br J Nutr, 2012, 108 Suppl 2(S2):S183.
- [56] 刘家浩, 汤云珍. 人乳游离氨基酸的含量及动态变化[J]. 东南大学学报(医学版), 1991, (1): 171-5.
- [57] 张兰威, 周晓红. 人乳早期乳汁中蛋白质, 氨基酸组成与牛乳的对比分析[J]. 中国乳品工业, 1997(3):39-41.
- [58] 徐丽, 杜彦山, 马健, 等. 河北省某地区母乳氨基酸与脂肪酸含量调查

- [J]. 食品科技, 2008, 33(4): 231-3.
- [59] 丁明, 李伟, 张玉梅,等. 中国北方地区妇女饮食与母乳中氨基酸组成的相关性分析[C]中国营养学会理事会青年工作委员会学术交流会议. 2010.
- [60] 任向楠, 荫士安, 杨晓光,等. 人乳中氨基酸的含量及分析方法研究进展[J]. 氨基酸和生物资源, 2013, 35(3):63-67.
- [61] 逢金柱, 米丽娟, 刘正冬. 羊奶营养研究进展及羊乳基婴儿配方奶粉开发[J]. 中国食物与营养, 2018, 24(7):44-47.
- [62] Wu Z C, Yu J T, Wang N D, et al. Lack of association between PCDH11X genetic variation and late-onset Alzheimer's disease in a Han Chinese population [J]. Brain Research, 2010, 1357:152-156.
- [63] Ping F, Ming G, Burgher A, et al. A nine-country study of the protein content and amino acid composition of mature human milk[J]. Food and Nutrition Research, 2016, 60(1):31042.
- [64] Lã¶nnerdal B, Erdmann P, Thakkar S K, et al. Longitudinal evolution of true protein, amino acids and bioactive proteins in breast milk: a developmental perspective[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2017, 41:1-11.
- [65] 吴尚仪, 吴尚, 韩宏娇, 等. 不同泌乳期人乳与牛乳中游离氨基酸的对比[J]. 食品科学, 2018, 39(8):129-134.
- [66] 徐连彬, 林雪彦, 胡志勇, 等. 氨基酸供给与内分泌互作调控乳蛋白合成的研究进展[J]. 动物营养学报, 2016, 28(8): 2324-33.
- [67] 董学艳, 姜铁民, 刘继超, 等. 母乳和不同婴儿配方乳粉中蛋白质消化性研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(17): 28-32.
- [68] 续远龙, 陈晨. 乳制品中蛋白质检测方法的研究进展[J]. 科技经济市场, 2015(1):95-95.
- [69] 户行宇, 于景华. 加工过程对脂肪球膜蛋白质的影响[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(11):32-34.
- [70] Weekes T L, Luimes P H, Cant J P. Responses to Amino Acid Imbalances and Deficiencies in Lactating Dairy Cows[J]. Journal of Dairy Science, 2006, 89(6):2177-2187.

- [71] Ishizuka N, Tanaka K, Suzuki Y, et al. Masked function of amino acid sensors on pancreatic hormone secretion in ventromedial hypothalamic (VMH) lesioned rats with marked hyperinsulinemia[J]. Obesity Research & Clinical Practice, 2012, 6(3):e225-e232.
- [72] Cant J P, Berthiaume R, Lapierre H, et al. Responses of the bovine mammary glands to absorptive supply of single amino acids[J]. Canadian Journal of Animal Science, 2003, 83(3):341-355.
- [73] 田雯, 丁洛阳, 吴天佑, 等. 颈静脉灌注不同模式的氨基酸混合物对泌乳奶牛乳蛋白合成的影响 [J]. 动物营养学报, 2017, 29(9): 3109-19.
- [74] Consultation J W E . Protein and amino acid requirements in human nutrition.[J]. World Health Organization Technical Report, 2007(935):1.
- [75] 南开. 中国人的膳食结构[J]. 中国食物与营养, 2006, (6): 55-7.
- [76] Jung T H, Hwang H J, Yun S S, et al. Hypoallergenic and Physicochemical Properties of the A2 β -Casein Fraction of Goat Milk.[J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2017, 37(6):940-947.
- [77] 中国营养学会膳食指南修订专家委员会妇幼人群指南修订. 6月龄内婴儿母乳喂养指南[J]. 临床儿科杂志, 2016, 34(4):287-291.
- [78] 王萍. 国内外健康素养研究进展[J]. 中国健康教育, 2010, 26(4):298-302.
- [79] 双全, 王玉荣, 仲家文, 等. 内蒙古乳业发展历程及现状[J]. 中国乳品工业, 2018.
- [80] 田万强, 林清, 李林强, 等. 中国奶山羊产业发展现状和趋势[J]. 家畜生态学报, 2014, (10): 80-84.
- [81] 何必子, 刘燕萍, 李珊珊, 等. 早产产妇膳食营养摄入及与母乳成分相关性[J]. 协和医学杂志, 2014(4).
- [82] Yang T, Zhang Y, Ning Y, et al. Breast milk macronutrient composition and the associated factors in urban Chinese mothers[J]. 中华医学杂志(英文版), 2014, 127(9):1721-1725.
- [83] 杨梅, 曹雪妍, 叶清, 等. 蛋白质组学技术在人乳与牛乳中的研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2016, 39(5): 38-43.

- [84] Verd S, Ginovart G, Calvo J, et al. Variation in the Protein Composition of Human Milk during Extended Lactation: A Narrative Review[J]. *Nutrients*, 2018, 10(8):1124.
- [85] Gidrewicz D A, Fenton T R. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk[J]. *Bmc Pediatrics*, 2014, 14(1):216-216.
- [86] Boyce C, Watson M, Lazidis G, et al. Preterm human milk composition: a systematic literature review.[J]. *British Journal of Nutrition*, 2016, 116(6):1033-1045.
- [87] 单炯, 王晓莉, 陈夏芳,等. 人乳中乳铁蛋白含量的初步检测分析[J]. *临床儿科杂志*, 2011, 29(6):549-551.
- [88] Sharma D, Shastri S, Sharma P. Role of Lactoferrin in neonatal care: A systematic review[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2016, 30(16):1-35.
- [89] 程金波, 王加启, 刘光磊, 等. 牛奶中乳铁蛋白含量的影响因素及调控机制研究进展[J]. *东北农业大学学报*, 2008, 39(5): 137-40.
- [90] Kaur G, Gathwala G. Efficacy of Bovine Lactoferrin Supplementation in Preventing Late-onset Sepsis in low Birth Weight Neonates: A Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial [J]. *J Trop Pediatr*, 2015, 61(5): 370-6.
- [91] Yang C , Zhu X , Liu N , et al. Lactoferrin up-regulates intestinal gene expression of brain-derived neurotrophic factors BDNF, UCHL1 and alkaline phosphatase activity to alleviate early weaning diarrhea in postnatal piglets[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2014, 25(8):834-842.
- [92] Chen K, Zhang L, Li H, et al. Iron metabolism in infants: influence of bovine lactoferrin from iron-fortified formula[J]. *Nutrition*, 2015, 31(2):304-309.
- [93] Chen K, Chai L, Li H, et al. Effect of bovine lactoferrin from iron-fortified formulas on morbidity of diarrhea and respiratory tract infections of weaned infants in a randomized controlled trial.[J]. *Nutrition*, 2016, 32(2):222-227.
- [94] Akin I M, Atasay B, Dogu F, et al. Oral lactoferrin to prevent nosocomial sepsis and necrotizing enterocolitis of premature neonates and effect on

- T-regulatory cells.[J]. American Journal of Perinatology, 2014, 31(12): 1111-1120.
- [95] Dewey K G, Schanler R J, Koletzko B. Nutrition and Human Lactation[J]. Journal of Mammary Gland Biology & Neoplasia, 1999, 4(3):241-242.
- [96] 陈启, 赖世云, 张京顺,等. 利用超高效液相色谱串联三重四级杆质谱定量检测人乳中的 α -乳白蛋白 [J]. 食品安全质量检测学报, 2014(7):2095-2100.
- [97] Roncada P, Piras C, Soggiu A, et al. Farm animal milk proteomics.[J]. Journal of Proteomics, 2012, 75(14):4259-4274.
- [98] 韩荣勋, 罗静波, 俞海东. 巴氏消毒牛奶与羊奶粉中主要蛋白质组成的 SDS-PAGE 比较[J]. 长江大学学报(自科版), 2017, 14(10):61-63.
- [99] Maathuis A, Havenaar R, He T, et al. Protein Digestion and Quality of Goat and Cow Milk Infant Formula and Human Milk Under Simulated Infant Conditions.[J]. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition, 2017, 65(6):661-666.
- [100] Lara-Villoslada F, Olivares M, Xaus J. The balance between caseins and whey proteins in cow's milk determines its allergenicity[J]. Journal of Dairy Science, 2005, 88(5):1654-1660.
- [101] Wood R A . The natural history of food allergy.[J]. Pediatrics, 2003, 111(6 Pt 3):1631.
- [102] 王小生. 必需氨基酸对人体健康的影响[J]. 中国食物与营养, 2005(7): 48-49.
- [103] Lönnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins.[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2003, 77(6):1537S.
- [104] 崔县伟. 母乳中蛋白成分的营养与生理意义[J]. 国际儿科学杂志, 2013, 40(3):268-271.
- [105] 缪明永. 氨基酸代谢与临床[J]. 中华普通外科学文献:电子版, 2008(1):45-48.
- [106] Anthony J C, Anthony T G, Kimball S R, et al. Signaling pathways involved

- in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine.[J].
Journal of Nutrition, 2001, 131(3):856S.
- [107] Mitja L, Stephan V H, Wolfram D, et al. The obesity paradox in chronic disease: facts and numbers[J]. Journal of Cachexia Sarcopenia and Muscle, 2012, 3(1):1-4.
- [108] Davis T A, Nguyen H V, Garcia-Bravo R, et al. Amino acid composition of human milk is not unique[J]. Journal of Nutrition, 1994, 124(7):1126.
- [109] Rigo J, Salle B L, Cavero E, et al. Plasma amino acid and protein concentrations in infants fed human milk or a whey protein hydrolysate formula during the first month of life[J]. Acta Paediatrica, 2010, 83(2):127-131.
- [110] Naijin X , Guanqun C , Hui L . Antioxidative Categorization of Twenty Amino Acids Based on Experimental Evaluation[J]. Molecules, 2017, 22(12):2066.
- [111] 高玢玲, 木其尔, 刘莉敏, 等. 内蒙古 4 种家畜乳蛋白质和氨基酸检测与比较[J]. 食品科技, 2017, 2): 267-72.
- [112] 张熙桐, 关博元, 孔繁华, 等. 人乳、牛乳、羊乳中乳清部分氨基酸组成及乳清蛋白中蛋白质二级结构的对比 [J]. 食品科学, 2017, 38(24):113-118.
- [113] 张骞, 王潍波. 探讨:怎样实现我国乳与乳制品的质量安全[J]. 中国畜牧业, 2010(14):17-18.
- [114] Visioli F, Strata A. Milk, Dairy Products, and Their Functional Effects in Humans: A Narrative Review of Recent Evidence[J]. Advances in Nutrition, 2014, 5(2):131-143.

附 录

(一) 基本信息表

1. 乳母姓名_____
2. 乳母出生日期_____ 年龄_____
3. 乳母的联系电话_____
4. 家庭详细住址_____
5. 乳母体重_____身高_____
6. 乳母民族_____
7. 乳母配偶民族_____
8. 婴儿性别_____ (①男 ②女)
9. 婴儿出生日期_____年___月___日
10. 您宝宝出生时身长_____厘米, 体重_____千克
11. 采样时您宝宝身长_____厘米, 体重_____千克

填表日期: _____年___月___日

(二) 乳母健康状况调查表

- 1、 您的文化程度？
①高中及以下 ②大专/职大 ③大学及以上
- 2、 您孕期是否出现过以下情况？
 小腿痉挛（抽筋） ①否 ②是 ③不知道
 牙龈出血 ①否 ②是 ③不知道
 贫血 ①否 ②是 ③不知道
- 3、 您采用了哪种分娩方式？
①自然分娩（顺产、侧切、使用产钳等） ②剖腹产
- 4、 在您工作或生活环境中，您每周被动吸烟超过 15 分钟的天数是多少天？
①0 天 ②1-3 天 ③3 天以上
- 5、 在过去一周内，您平均每天身体活动（不含静坐、静卧时的活动，如打麻将、吃饭、看电视、上网、坐车等）的累计时间是几小时？
①1 小时以下 ②1-3 小时 ③3-6 小时 ④6 小时以上
- 6、 在过去一个月内，您平均每天睡眠时间是几小时？
①6 小时以下 ②6-8 小时 ④8 小时以上
- 7、 最近 1 周，您的睡眠质量如何？
①好 ②一般 ③不好
- 8、 最近 2 周，您是否使用过药物(不包括营养素补充剂)？
①否 ②是
- 9、 您是否使用过催奶方法？
①中药 ②西药 ③物理催奶（如按摩） ④没有
- 10、 您是否存在堵奶问题？
①经常 ②偶尔 ③没有
- 11、 您使用特殊补品（如燕窝等）吗？
①否 ②是
- 12、 您从孕____周起开始服用膳食补充剂，
①自然之宝孕安多维孕妇复合营养片

②阿法林-润康胶囊片剂(孕产妇专用型)

③福施福胶囊孕妇多种维生素叶酸片

④爱乐维澳洲进口孕妇营养素

⑤惠氏玛特纳复方多维元素片

⑥其他_____

作者简介及在学期间所获得的科研成果

作者介绍

姓名：武立萌 性别：女

出生年月：1991 年 5 月 19 日 民族：汉

籍贯：吉林省大安市 政治面貌：党员

在读期间获得奖励：

2017. 03 第四届“共享杯”大学生科技资源共享服务创新大赛优秀奖

2017. 09 吉林大学研究生学业奖学金

2017. 12 吉林大学 2016-2017 学年二等奖学金

2018. 03 第五届“共享杯”大学生科技资源共享服务创新大赛优秀奖

2018. 09 吉林大学研究生学业奖学金

攻读硕士期间发表的论文：

1.武立萌, 刘娅, 张李, 黄河, 方芳, 李波, 崔巍巍. 珠海、江门、肇庆三市养老机构资源配置现状调查[J]. 中国公共卫生, 2018, 32: 145-149.

致 谢

“闲云潭影日悠悠，物换星移几度秋。”三年前的此时此刻的抉择，是一场美丽与纠结的邂逅。挥手惜别，不禁三年光阴流逝。吉林大学研究生三年的学习时间是一段很重要的经历，对我的一生都是宝贵的财富。云舒云展，你青春年少，不畏千里迢迢。回首饱含温情的研究生生活收获的不仅仅是科研技能，更多的是在阅读、实践中所培养的思维方式、表达能力和广阔的视野。一路走来，很庆幸的结识了许多的良师益友，无论是学习、生活和工作上都给予了无私的帮助，感恩之情溢于言表，谨以最朴实的话语致以最崇高的敬意。

首先感谢我的导师刘娅教授，三年来，刘娅老师对我学习和研究都非常严格，并给予了悉心的指导，使我受益匪浅。从导师的身上体会到了严谨的学风、求实的态度，这都将成为我不断前行的动力和标杆。

感谢我的校外导师杨月欣老师和韩军花老师。两位老师常常在百忙之中指导我的论文和工作，其谆谆教诲也将铭记于心，对此我深深感激。

其次要感谢我的同门们，已经工作的方芳老师、崔巍巍老师、刘羽欣老师和伍翔群师姐在精神上给我莫大的支持，没有他们的帮助和支持是没有办法完成我的毕业论文；感谢我的同窗好友张丽丽、郑彤、孔一西，在我最困难的时候总能给予我安慰和鼓励，让我重拾信心。

还要感谢我的父母，给予我生命并竭尽全力给予了我接受教育机会，让我在漫长的人生旅途中得到归依，在未来日子里，我会加倍的努力学习和工作，不辜负他们对我的殷切希望！

还有很多人，也许他们只是我生命中匆匆的过客，但他们对我的支持和帮助依然深深的埋藏在心底，在此无法一一罗列，我始终心怀感激。在论文即将完成之际，我的心情无法平复，从到北京实习、课题开展到论文的顺利完成，有多少可敬的师长、同学、朋友给予我无言的帮助，在这里请接受我诚挚的谢意！