

羊乳中类胰岛素生长因子 I 的特性

侯院林¹, 张富新^{1*}, 李龙柱², 于玲玲¹, 云丹¹, 雷飞燕¹

1(陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安, 710062)

2(西安市碑林区食品药品监督管理局, 陕西 西安, 710000)

摘 要 采用双抗体夹心酶联免疫法研究了温度、pH、紫外线以及金属离子等因素对羊乳中类胰岛素生长因子 I (insulin-like growth factor-I, IGF-I) 浓度的影响。研究表明: 羊乳中 IGF-I 在 20 ℃ 时浓度最高, 达到 (29.91 ± 0.91) ng/mL ($P < 0.05$), 在 40 ℃ 时具有较高的热稳定性; IGF-I 在 pH = 4 时浓度最高, 达到 (28.53 ± 1.11) ng/mL ($P < 0.05$), 在 pH 值为 6 ~ 8 时稳定性较高; 紫外线照射会造成 IGF-I 的浓度显著降低 ($P < 0.05$)。Na⁺、Ca²⁺、Al³⁺、Zn²⁺ 等金属离子对 IGF-I 的浓度具有抑制作用, 而 Mg²⁺、Fe²⁺ 对 IGF-I 无明显影响, 低浓度的 Fe³⁺、Cu²⁺ 对 IGF-I 的浓度具有抑制作用, 而高浓度的 Fe³⁺、Cu²⁺ 对 IGF-I 具有激活作用。通过研究, 评估温度、pH、紫外线以及金属离子对羊乳中 IGF-I 浓度的影响, 为生产具有更高 IGF-I 浓度的功能活性羊乳产品提供依据和指导。

关键词 羊乳; 类胰岛素生长因子 I; 特性; 双抗体夹心酶联免疫法

羊乳不仅含有人体所需的营养成分, 同时还含有多种对人体有益的生物活性物质^[1]。其中类胰岛素生长因子 (insulin-like growth factor, IGF) 是羊乳中生物活性物质的重要组成成分, 具有重要的生理功能, 对新生儿胃肠道的发育具有重要的生理作用^[2-4]。羊乳中 IGF 主要以类胰岛素生长因子 I (insulin-like growth factor-I, IGF-I) 和类胰岛素生长因子 II (Insulin-like growth factor-II, IGF-II) 形式存在, 其 IGF-I 浓度和生理活性远大于 IGF-II^[5]。IGF-I 是由 70 个氨基酸组成的分子质量为 7.6 kDa 的单链多肽, pI 为 8.2, 有 3 个二硫键, 分别在 6-48、47-52、18-61 号位置^[6-7]。IGF-I 与胰岛素的结构相似, 对糖尿病具有一定的辅助疗效^[8]。现代医学表明, IGF-I 对糖尿病人降血糖具有一定的作用。《本草纲目》中也记载羊奶有“治消渴”(治疗糖尿病)的作用。目前, 有关 IGF-I 对哺乳动物的生理功能方面的研究报道较多^[9-10], 但对 IGF-I 在乳品加工过程中的变化报道较少。由于 IGF-I 易受 pH、温度等环境变化影响, 容易发生氧化、变性、聚集或沉淀反应等, 而乳品加工过程中常伴随有均质、杀菌、喷雾干燥等工艺环节^[11-13],

会造成乳制品中的 IGF-I 浓度降低, 严重削弱了乳制品的营养价值^[14-15]。因此, 本文对影响羊乳中 IGF-I 浓度的温度、pH、紫外线以及金属离子因素进行研究, 评估加工过程对 IGF-I 浓度的影响, 以便为进一步利用羊乳资源, 生产具有更高 IGF-I 浓度的功能活性羊乳产品。

1 材料与方法

1.1 材料

羊乳: 选用西北农林科技大学动物科技学院畜牧场健康萨能奶山羊, 人工挤奶方式取样。为防止微生物污染, 采样前用干净毛巾对乳房清洗, 并弃去前 3 把乳 (约 30 mL), 然后用预先灭菌的取样管采集挤奶中段的乳样。每只羊收集 50 mL 乳样, 共收集 20 个乳样, 然后人工混匀制成混合样, 立即在 -40 ℃ 下冷冻储存, 需要用时在 4 ℃ 的冰水混合浴中解冻备用。

试剂盒: 山羊 IGF-I 酶联免疫试剂盒, 购自美国 R&D 公司。

1.2 主要设备

HDM-3000 型数字控温电热套, 江苏荣华仪器有限公司; 雷磁 pH-3C 型精密 pH 酸度计, 上海精密科学仪器有限公司; TGL-16B 型台式低温高速离心机, 上海安亭科学仪器厂; GSP-9080MBE 型隔水式恒温培养箱, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; Multiskan Go 型全波长酶标仪, 美国热电公司; 移液器 (量程: 0.5 ~ 10、10 ~ 100、100 ~ 1000 μL), 德国 Eppen-

第一作者: 硕士研究生 (张富新教授为通讯作者, E-mail: 891685945@qq.com)。

基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划项目 (2013BAD18B00); 农业部公益性行业 (农业) 科研专项 (201103038); 陕西省农业攻关项目 (2014K01-17-05)

收稿日期: 2015-06-21, 改回日期: 2015-08-17

dorf 公司。

1.3 测定方法

1.3.1 样品处理

样品处理按 LORENZO CASTIGLIEGO^[16] 方法并加以改进。将冷冻的乳样在室温下缓慢解冻后,用移液器吸取 1 mL 乳样置于 2 mL 离心管中,在 3 000 g 下离心 15 min 脱脂,吸取 400 μ L 的脱脂乳,加入 40 μ L 2 mol/L 的 HCl,充分混合,室温下静置 30 min 后,在 4℃,10,000 g 下离心 30 min。吸取 100 μ L 的上清液,添加 264 μ L 的缓冲溶液(由 11.7 mmol/L KH_2PO_4 ; 36.2 mmol/L Na_2HPO_4 , 60 mmol/L Tris-base, 体积分数为 0.07% 的 Tween 20, 250 ng/mL IGF-II 组成),充分混合后,再在 4℃,10,000 g 下离心 10 min,取上清液,用于试剂盒检测 IGF-I 浓度。

1.3.2 IGF-I 的检测

IGF-I 浓度采用双抗体夹心酶联免疫(ELISA)试剂盒测定。将试剂盒在室温下平衡 20 min 后,取出试剂盒中板条。取 10 μ L 处理后的乳样加入板条反应孔中,然后加入样品稀释液 40 μ L,再加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗体液 50 μ L,用封板膜封住反应孔后,在 37℃ 下保温 60 min。保温结束后弃去反应孔中液体,将板条翻转,在滤纸上拍干。在反应后的反应孔中加入 350 μ L 洗涤液,静置 1 min 后,弃去洗涤液,在滤纸上拍干,如此重复 5 次。在洗涤后的板条反应孔中加入底物 A、B 各 50 μ L,37℃ 避光保温 15 min。最后在反应孔中加入终止液 50 μ L,15 min 内在 450 nm 波长处测定各孔吸光度。每个样品重复 3 次。

1.3.3 IGF-I 浓度的计算

将山羊 IGF-I 酶联免疫试剂盒中浓度为 10 ng/mL 的 IGF-I 标准品用试剂盒中的标品稀释液依次稀释成浓度为 0、0.625、1.25、2.5、5、10 ng/mL 的溶液。用 1.3.2 方法检测不同浓度 IGF-I 标准品的吸光度,然后以浓度为横坐标(X),OD 值为纵坐标(Y),绘制 IGF-I 标准曲线,计算线性回归方程($Y = 0.1371X + 0.0172, R^2 = 0.9918$),按回归方程计算测试样品中 IGF-I 浓度。

1.3.4 温度对 IGF-I 浓度影响的测定

将解冻后的混合乳样分别在 20、40、60、80、100、121、135℃ 的恒温油浴中加热 15 s 后,冷却至室温,测定其 IGF-I 的浓度。

1.3.5 IGF-I 热稳定性的测定

将解冻后的混合乳样分别在 40、60、80、100℃ 水

浴中保温 15、30、60、120 min,或在 121、135℃ 的恒温油浴中保温 15、30、60、180 s 后,冷却至室温,测定其 IGF-I 浓度。

1.3.6 pH 对 IGF-I 浓度影响的测定

在 25℃ 的条件下,用 1 mol/L 的 HCl 或 1 mol/L 的 NaOH 溶液将乳样的 pH 值分别调整到 3、4、5、6、7、8、9、10,放置 15 s 后,测定其 IGF-I 的浓度。

1.3.7 IGF-I pH 稳定性的测定

在 25℃ 的条件下,用 1 mol/L 的 HCl 或 1 mol/L 的 NaOH 溶液将乳样的 pH 值调整到 3、4、5、6、7、8、9、10,然后分别放置 15、30、60、120 min,测定其 IGF-I 的浓度。

1.3.8 紫外线对羊乳 IGF-I 浓度的影响

将解冻后的混合乳样置于 12 cm 培养皿中,培养皿中的乳样高度为 3 mm,在室温条件下,用波长为 365 nm 的 4 W 紫外灯在距离乳样 50 cm 处分别照射 15、30、60、120 min,测定其 IGF-I 的浓度。

1.3.9 金属离子对羊乳 IGF-I 浓度的影响

在解冻后的混合乳样中分别加入浓度为 100 mmol/L 的 CaCl_2 、 ZnCl_2 、 NaCl 、 AlCl_3 、 FeCl_2 、 FeCl_3 、 CuCl_2 、 MgCl_2 溶液,使其在羊乳中金属离子的浓度分别达到 1 mmol/L 和 5 mmol/L,在 25℃ 下放置 30 min 后,测定 IGF-I 的浓度。

1.4 数据处理

数据用 DPS 统计软件进行分析,并采用 Duncan 新复极差法进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 温度对 IGF-I 浓度的影响

温度对羊乳中 IGF-I 浓度的影响如图 1 所示。

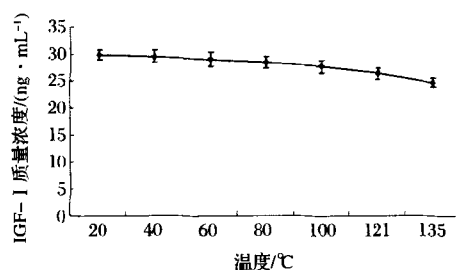


图1 温度对羊乳中 IGF-I 质量浓度的影响

Fig. 1 Effects of temperature on IGF-I concentrations in goat milk

IGF-I 的浓度随温度升高呈下降的趋势。当温度为 20~80℃ 时,IGF-I 的浓度下降较为缓慢,而当温度为 80~135℃ 时,IGF-I 浓度的下降速度较为迅速。

20 ℃ 时, IGF-I 浓度为 (29.91 ± 0.91) ng/mL, 当温度达到 135 ℃ 时, IGF-I 的浓度仅为 (24.64 ± 0.87) ng/mL ($P < 0.05$)。TAKUJI HIRAYAMA 等人^[17-24]研究了温度对牛乳中 IGF-I 活性的影响, 乳中 IGF-I 的活性与其结构密切相关, IGF-I 是一个分子质量为 7.6 kDa 的活性多肽, 其结构中含有二硫键, 热处理会引起多肽结构中二硫键的断裂, 造成羊乳中 IGF-I 浓度的下降。

2.2 IGF-I 的热稳定性

羊乳 IGF-I 的浓度在 40、60、80、100 ℃ 和 121、135 ℃ 的热稳定性分别如图 2-A、图 2-B 所示。

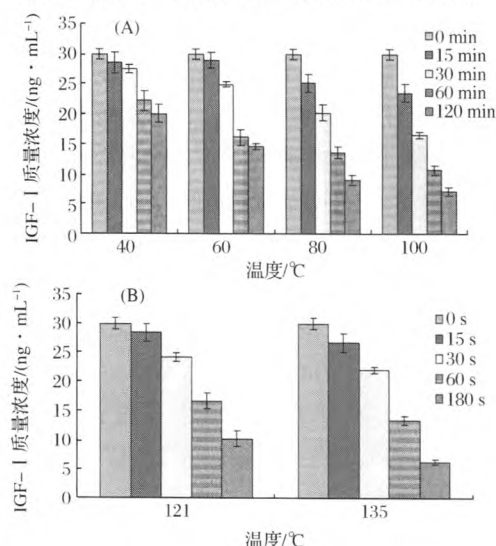


图 2 IGF-I 的热稳定性

Fig. 2 Heat stability of IGF-I in goat milk

从图 2-A 中可以看出, 随着加热时间的延长, IGF-I 的浓度均呈下降的趋势, 但在不同温度下保温相同的时间, IGF-I 的浓度下降程度有所差异, 在 40℃ 的保温过程中, 前 30 min, IGF-I 的浓度下降不显著 ($P > 0.05$), 而 60 min 时, IGF-I 的浓度显著下降 ($P < 0.05$); 在 60℃ 的保温过程中, 前 15 min, IGF-I 的浓度下降不显著 ($P > 0.05$); 在 80 ℃ 和 100 ℃ 的保温过程中, 从 0 ~ 120 min, IGF-I 的浓度始终呈显著下降趋势 ($P < 0.05$)。从图 2-B 中可以看出: 在 121℃ 的保温过程中, 前 15 s, IGF-I 的浓度下降不显著 ($P > 0.05$), 随后均呈显著下降趋势 ($P < 0.05$)。在 135℃ 的保温过程中, IGF-I 的浓度均呈显著下降趋势 ($P < 0.05$)。

由此可见, 在同一保温过程中, 在保温的开始和最后阶段, 羊乳中 IGF-I 的浓度下降均较为缓慢, 而在其中间阶段, 其浓度下降较为迅速。在不同的保温

过程中, 保温时间相同时, 保持的温度越高, IGF-I 的浓度下降速度越快, 其浓度越低。产生这种现象的原因是相比较于其他活性生长因子, IGF-I 的二级结构中二硫键的数目较少。例如转化生长因子 $\beta 2$ (transforming growth factor- $\beta 2$, TGF- $\beta 2$) 含有 9 个二硫键, 而 IGF-I 的二级结构中只含有 3 个二硫键, 造成其对加热不太敏感。当刚开始保温时, IGF-I 具有一定的热稳定性, 其浓度下降较为缓慢, 但在持续的保温过程中, 特别是在高温环境中, IGF-I 的热抵抗性迅速减弱, 结构逐渐遭到破坏, 致使其 IGF-I 浓度降低。

2.3 pH 对 IGF-I 浓度的影响

pH 对羊乳中 IGF-I 浓度的影响如图 3 所示。

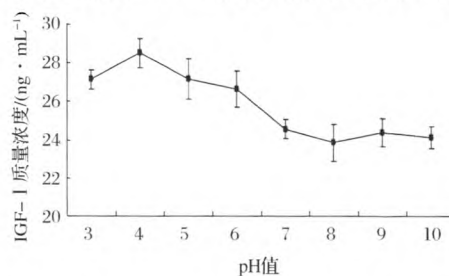


图 3 pH 对羊乳中 IGF-I 质量浓度的影响

Fig. 3 Effects of pH on IGF-I concentrations in goat milk

当羊乳的 pH 值小于 4 时, 随着 pH 值的升高, IGF-I 的浓度逐渐增高; 当羊乳的 pH 值为 4 时, IGF-I 的浓度 ((28.53 ± 1.11) ng/mL) 最高, 当羊乳的 pH 值高于 4 时, 随着 pH 值的升高, IGF-I 的浓度逐渐降低; 当羊乳的 pH 值为 8 时, IGF-I 的浓度 ((23.85 ± 1.53) ng/mL) 最低; 当羊乳的 pH 值高于 9 时, 羊乳中 IGF-I 的浓度又开始逐渐降低。由此可知, 在 pH 值为 4 时, 羊乳中 IGF-I 的浓度最高。方差分析表明, 当羊乳分别在不同的环境 (酸性与碱性) 中时, IGF-I 的浓度差异显著 ($P < 0.05$), 但在同一种环境 (酸性或者碱性) 中时, IGF-I 的浓度差异不显著 ($P > 0.05$)。当羊乳的酸性增强 ($pH < 3$) 或者碱性增强 ($pH > 9$), 都会破坏羊乳中 IGF-I 的二级结构, 致使其浓度降低。又因为 IGF-I 的 pI 值为 8.2, 当羊乳从 pH = 4 增大到 pH = 8 的过程中, 由于羊乳的 pH 与 IGF-I 的 pI 越来越接近, 造成 IGF-I 的浓度不断降低, 在 pH = 8 时, IGF-I 共价聚集在一起, 致使 IGF-I 的浓度最低。云振宇^[25] 也认为羊乳在酸性环境中的浓度高于在碱性环境中的浓度, 在 pH 值等于 8 时, IGF-I 浓度最低, 与本研究 pH 对 IGF-I 浓度影响的研究结果一致。

2.4 IGF-I 的 pH 稳定性

羊乳中 IGF-I 的 pH 稳定性如图 4 所示。

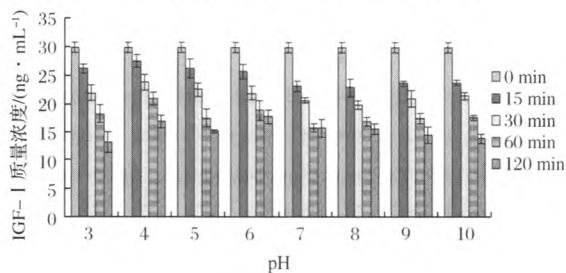


图 4 IGF-I 的 pH 稳定性

Fig. 4 pH stability of IGF-I in goat milk

随着处理时间的延长,羊乳中 IGF-I 浓度均呈下降的趋势,但在不同 pH 下处理相同时间时,IGF-I 下降程度有所差异。在 pH 3~5 和 pH 9~10 的处理过程中,随着时间的延长,IGF-I 的浓度均呈显著下降趋势($P < 0.05$)。在 pH 值为 6~8 的处理过程中,前 60 min 内,IGF-I 的浓度呈显著下降趋势($P < 0.05$),而在 60~120 min 间,IGF-I 的浓度下降不显著($P > 0.05$)。由于 IGF-I 中存在 3 个 α -螺旋和 2 个 β -折叠结构。而 IGF-I 的二级和三级结构是依赖于 pH 值的,过低或者过高的 pH 会使乳液的酸性或者碱性增强,很可能会破坏羊乳中 IGF-I 的 α -螺旋或者 β -折叠结构,造成 IGF-I 变性或降解,致使其浓度迅速下降。

2.5 紫外线对 IGF-I 浓度的影响

紫外线对羊乳中 IGF-I 浓度的影响如图 5 所示。

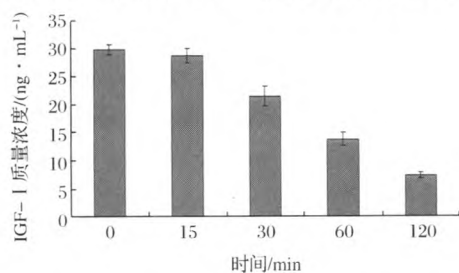


图 5 紫外线照射时间对羊乳中 IGF-I 浓度的影响

Fig. 5 The affections of ultraviolet radiation time on IGF-I concentrations in goat milk

随着紫外线照射时间的延长,IGF-I 的浓度呈下降趋势。刚开始进行紫外线照射时,IGF-I 的浓度降低较为缓慢,照射 15 min 时,IGF-I 的浓度为 (28.84 ± 1.27) ng/mL ($P > 0.05$)。但随着照射时间的延长,IGF-I 浓度呈急剧下降趋势。不同照射时间(照射 15、30、60、120 min)的羊乳样品之间,IGF-I 的浓度差异极显著($P < 0.01$),当照射 120 min 时,IGF-I 浓度仅剩 (7.26 ± 0.57) ng/mL ($P < 0.01$)。由此可见,

紫外线会影响羊乳中 IGF-I 的浓度,随着紫外照射时间的延长,IGF-I 浓度会极显著降低($P < 0.01$),这与罗素菊^[26]的结果基本相似。产生这种结果的原因可能是因为 IGF-I 是一个由 70 个氨基酸构成的多肽,而紫外线具有较高的能量,长时间照射会破坏 IGF-I 的二级结构,从而使其浓度降低。

2.6 金属离子对 IGF-I 浓度的影响

金属离子对 IGF-I 浓度的影响如表 1 所示。

表 1 金属离子对羊乳中 IGF-I 浓度的影响 单位:ng/mL

Table 1 Effects of metal ion on the concentrations of

IGF-I in goat milk

金属离子	金属离子浓度/(mmol · L ⁻¹)		
	空白	1	5
Na ⁺	20.41	13.10	12.54
Mg ²⁺	20.41	19.32	18.00
Ca ²⁺	20.41	11.45	10.83
Fe ³⁺	20.41	18.12	21.82
Al ³⁺	20.41	11.32	15.22
Cu ²⁺	20.41	19.25	23.18
Zn ²⁺	20.41	16.15	11.39
Fe ²⁺	20.41	17.41	20.36

注:表 1 中空白为不添加金属离子的乳样。

从表 1 中可以看出,不同金属离子对羊乳中 IGF-I 浓度具有不同的影响。添加 Mg²⁺、Fe²⁺ 时,IGF-I 浓度几乎无明显变化;而添加 Na⁺、Ca²⁺、Al³⁺、Zn²⁺ 时,IGF-I 的浓度降低,表明 Na⁺、Ca²⁺、Al³⁺、Zn²⁺ 对 IGF-I 的浓度具有抑制作用。同时添加 1 mmol/L 的 Fe³⁺、Cu²⁺ 时,IGF-I 浓度较低,而添加 5 mmol/L 的 Fe³⁺、Cu²⁺ 时,IGF-I 的浓度升高,表明低浓度的 Fe³⁺、Cu²⁺ 对 IGF-I 的浓度具有抑制作用,而高浓度的 Fe³⁺、Cu²⁺ 对 IGF-I 的浓度具有激活作用。金属离子对 IGF-I 浓度的影响可能与金属离子是乳中各种酶的必需组分或者辅助因子有关,不同金属离子对酶的结构和功能所起的作用不相同^[27]。KIRCHGESSNER 等^[28]报道,适宜的 Cu²⁺ 浓度在体外能激活胃蛋白酶,促进类胰岛素生长因子结合蛋白(insulin-like growth factor binding protein I, IGFBP-I)的水解,使 IGF-I 的浓度增加。而 Na⁺、Ca²⁺、Al³⁺、Zn²⁺ 在体外可能会抑制胃蛋白酶,抑制 IGFBP-I 的水解,使 IGF-I 的浓度降低。

3 结论

通过对羊乳中 IGF-I 浓度的温度、pH 值、紫外线以及金属离子等影响因素的研究。结果表明,IGF-I

在 20 ℃ 时浓度较高,且在 40 ℃ 时具有较高的热稳定性,在温度高于 100 ℃ 时,乳中 IGF-I 浓度显著下降;IGF-I 浓度受 pH 影响较大,在 pH 4 时具有较高浓度,且在 pH 6~8 时稳定性较高,在 pH 3~5 和 pH 9~10 时,IGF-I 浓度迅速下降;随着紫外照射时间的延长,IGF-I 的浓度损失较大。不同金属离子对羊乳中 IGF-I 的浓度具有一定的影响, Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Zn^{2+} 对 IGF-I 的浓度具有抑制作用,低浓度的 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 对 IGF-I 的浓度具有抑制作用,而高浓度的 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 对 IGF-I 的浓度具有激活作用。

参 考 文 献

- [1] HAENLEIN W G F. Goat milk in human nutrition [J]. Small Ruminant Research, 2004, 51(2): 155–163.
- [2] YOUNG G P, TARANTO T M, JONAS H A, et al. Insulin-Like growth factor and the developing and mature rat small intestine: receptor and Biological vactions [J]. Digestion, 1990, 46 (Suppl 2): 240–252.
- [3] ZHANG W, FRANKEL W L, ADAMSON W T, et al. Insulin-like growth factors I improves mucosal structure and function in transplanted rat small intestine [J]. Trans-Plantation, 1995, 59(5): 755–761.
- [4] ZUMKELLER W. Relationship between insulin-Like growth factor I and IGF-II and IGF-binding proteins in milk and the gastrointestinal tract: growth and Development of the gut [J]. Pediatr Gastroenterol Nutr, 1992, 15: 357–369.
- [5] FRANCIS G L, UPTON F M, BALLARD F J, et al. Insulin-like growth factors 1 and 2 in bovine colostrums: sequences and biological activities compared with those of a potent truncated form [J]. Biochem, 1988, 251(1): 95–103.
- [6] 吴晓, 李明. 人胰岛素生长因子 I 基因的克隆及其表达 [J]. 中国生化药物杂志, 2002, 23(1): 1–3.
- [7] SVOBODA M E, VAN J J, KLAPPER D G, et al. Purification of Somatomedin-C from human plasma: Chemical and Biological properties, partial sequence analysis and relationship to other somatomedins [J]. Biochem, 1980, 19(4): 790–797.
- [8] SIMPSON H L, UMPLEBY A M, RUSSELL-JONES D L. Insulin-like growth factor-I and diabetes. A review [J]. Growth Hormone and IGF Research, 1998, 8(2): 83–95.
- [9] XIAN C J, SHOUBRIGE C A, READ L C. Degradation of IGF-I in the adult rat gastrointestinal tract is limited by a specific anti-serum or the dietary protein casein [J]. Endocrinol, 1995, 146(2): 215–225.
- [10] KIMURA T, MURAKAWA Y, OHNO M, et al. Gastrointestinal absorption of recombinant human insulin-like growth factor-I in rats [J]. Pharm and Exper Therap, 1997, 283(2): 611–628.
- [11] LIDIA E, HELENA L M, MARIE P, et al. Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing [J], International Dairy Journal, 2002, 12(11): 879–887.
- [12] KANG S H, KIM J U, IMM J Y, et al. The effects of dairy processes and storage on insulin-like growth factor-I (IGF-I) content in milk and in model IGF-I-fortified dairy products [J], International Dairy Journal, 2006, 89: 402–409.
- [13] PIA O, KLAUS M. Determination of insulin-like growth factor-I and bovine insulin in raw milk and its casein and whey fractions after microfiltration and ultrafiltration [J], International Dairy Journal, 2013, 28(2): 83–87.
- [14] HANSEN P J. To be or not to be—Determinants of embryonic survival following heat shock [J], Theriogenology, 2007, 68 Suppl 1(4): 540–548.
- [15] JOUSAN F D, HANSEN P J. Insulin-like Growth Factor-I as a survival factor for the bovine preimplantation embryo exposed to heat shock [J], Biology of Reproduction, 2004, 71(5): 1665–1670.
- [16] LORENZO C, LI XIAONING, ANDREA A, et al. An immunoenzymatic assay to measure insulin-like growth factor I (IGF-I) in buffalo milk with an IGF binding protein blocking pre-treatment of the sample [J]. International Dairy Journal, 2011, 21(6): 421–426.
- [17] HIRAYAMA T, KATOH K, OBARA Y. Effects of heat exposure on nutrient digestibility, rumen contraction and hormone secretion in goats [J], Anim Science Journal, 2004, 75: 237–243.
- [18] SHARON M, DONOVAN, RAYMOND L, et al. Rosenfeld. Insulin-like growth factors I and II and their binding proteins in human milk: effect of heat treatment on IGF and IGF binding protein stability [J], Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 1991, 13(3): 242–253.
- [19] RANGMAR G, EVA H, KLAUS H, et al. Effects of different CMV-heat-inactivation-methods on growth factors in human breast milk [J], International Pediatric Research Foundation, Inc. 2009, 65(4): 458–461.
- [20] MCGUIRE M A, BEEDE D K, COLLIER R J, et al. Effects of acute thermal stress and amount of feed intake on concentrations of somatotropin, insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-II, and thyroid hormones in plasma of lactating Holstein cows [J], Journal of Animal Science, 1991, 69(5): 2050–2056.

- [21] ALEXANDER V, SIROTKIN. Effect of two types of stress (heat shock/high temperature and malnutrition/serum deprivation) on porcine ovarian cell functions and their response to hormones[J], *The Journal of Experimental Biology*, 2010, 213: 2125 - 2130.
- [22] SETTIVARI R S, SPAIN J N, ELLERSIECK M R, et al. Relationship of thermal status to productivity in heat-stressed dairy cows given recombinant bovine somatotropin [J], *International Dairy Journal*, 2007, 90(3): 1265 - 1280.
- [23] RHOADS M L, RHOADS R P, VANBAALE M J, et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin[J]. *International Dairy Journal*, 2009, 92(5): 1986 - 1997.
- [24] PIA O, ANNE-MARIA R. Effects of heat-treatment on insulin-like growth factor-I in bovine milk[J], *International Dairy Journal*, 2012, 23(2): 73 - 78.
- [25] 云振宇, 蔡晓湛, 王安平, 等. 牛初乳 IGF- I 在常用乳品加工条件下的稳定性研究[J], *食品工业科技*, 2009(1): 72 - 74.
- [26] 罗素菊, 彭振辉, 郑焱, 等. 窄谱中波紫外线对角质形成细胞肝素结合表皮生长因子样生长因子 mRNA 的影响[J], *西安交通大学学报(医学版)*, 2007, 28(2): 211 - 214.
- [27] 刘晓波, 罗旭刚, 张荣强. 高剂量铜对猪促生长作用机理的研究进展[J], *动物营养学报*, 1997, 9(3): 1 - 6.
- [28] KIRCHGESSNER M, BEYER M G, STEINHART H. Activation of pepsin by heavy metal ions Including a contribution to the mode of action of copper sulfate in pig nutrition[J], *Br J Nut*, 1976, 36(1): 15 - 21.

Investigation on the characteristics of IGF-I in goat milk

HOU Yuan-lin¹, ZHANG Fu-xin^{1*}, LI Long-zhu², YU Ling-ling¹,
YUN Dan¹, LEI Fei-yan¹

1 (College of Food Engineering and Nutritional Science of Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

2 (Beilin Food and Drug Administration of Xi'an, Xi'an 710000, China)

ABSTRACT Effects of Insulin-like growth factor-I characteristic factors in goat milk were studied to lay the theoretical foundation for the further development of active functional goat products which contained higher IGF-I concentrations. Effects of temperature, pH, ultraviolet and metal ion on IGF-I concentrations in goat milk were studied by double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. The results showed that IGF-I concentrations reached the highest level to (29.91 ± 0.91) ng/mL at 20 °C in goat milk ($P < 0.05$) and had higher thermal stability at 40 °C. IGF-I concentrations were the highest at pH4 with 28.53 ± 1.11 ng/mL ($P < 0.05$), and more stable at pH6 ~ 8. IGF-I concentrations in goat milk decreased severely on the condition of ultraviolet radiation ($P < 0.05$). IGF-I concentrations would be inhibited if added Na^+ , Ca^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} in goat milk while Mg^{2+} , Fe^{2+} had no effect on this. IGF-I concentrations were inhibited at lower concentrations of Fe^{3+} and Cu^{2+} . However, it could be activated at higher concentrations of Fe^{3+} and Cu^{2+} . The research evaluate the effect of temperature, pH ultraviolet and metal ion on IGF-I concentrations in goat milk. It provides the basis and guidance for the active functional goat products which contained higher IGF-I concentrations.

Key words goat milk; insulin-like growth factor-I (IGF-I); characteristics; double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay