

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА КОЗЬЕГО МОЛОКА КАК КОМПОНЕНТА ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

С.В. Симоненко, Г.М. Лесь, И.В. Хованова,
Т.Н. Головач¹, Н.В. Гавриленко², Е.М. Червяковский², В.П. Курченко²
НИИ детского питания Россельхозакадемии, Истра, Российская Федерация,
¹РУП «Институт мясо-молочной промышленности»,
²Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Введение

Вопрос качества и безопасности питания детей раннего возраста, беременных женщин и кормящих матерей является делом государственной важности. Полноценное питание в пренатальном и постнатальном периодах является неперенным условием нормального функционирования и развития детского организма, формирования и поддержания его физиологического и психического статуса и повышения иммунитета [1].

В настоящее время предприятия пищевой отрасли России и Белоруссии выпускают большой ассортимент адаптированных смесей, продуктов прикорма, продуктов для питания беременных женщин и кормящих матерей. Среди таких продуктов важное значение имеют формулы на основе козьего молока. Интерес к продуктам на основе козьего молока обусловлен тем, что оно усваивается в 5 раз быстрее коровьего, обладает бактерицидными свойствами, противоопухолевым действием, оказывает положительный эффект при повышенной кислотности желудочного сока, бронхиальной астме, колите, мигрени, болезнях печени, поджелудочной железы и желчного пузыря [2]. Постоянно совершенствуется адаптация детских молочных продуктов к составу женского молока, а также формулы для питания беременных женщин и кормящих матерей.

В связи с этим целесообразно провести сравнительные исследования состава белков коровьего, козьего и женского молока, что позволит обосновать компонентный состав продуктов на основе козьего молока для питания детей, беременных и лактирующих женщин.

Методы исследования

В работе использовали сырое цельное коровье, козье и женское молоко. Коровье и козье молоко обезжиривали центрифугированием в течение 30 мин при 5°C, 10 000 об/мин. Для получения молочной сыворотки в обезжиренное молоко (рН 6,5) при непрерывном перемешивании вносили концентрированную молочную кислоту до значения рН 4,6, при котором происходит кислотная коагуляция казеина. Через 30 мин казеин отделяли центрифугированием.

Фракционный состав белков молока определяли с использованием нативного и ДСН-электрофореза в полиакриламидном геле. В качестве стандартов использовали белки: бычий сывороточный альбумин, β -лактоглобулин и α -лактальбумин (Sigma, США). Концентрацию белка в козьем, коровьем и женском молоке измеряли методом Лоури.

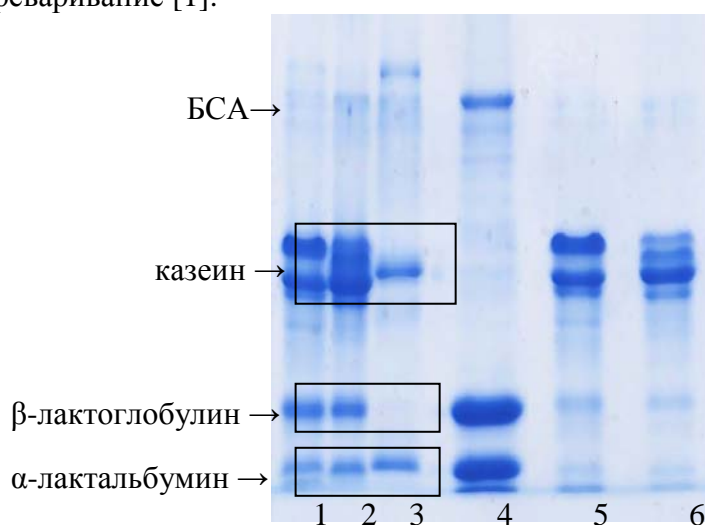
ВЭЖХ анализ белкового и пептидного состава молока проводили на хроматографе Agilent 1100 (США) с использованием колонки Zorbax-300SB C18 (4,6×250 мм). Колонку уравнивали 0,1% водным раствором ТФУ. Элюцию белков осуществляли с использованием линейного градиента ацетонитрила с 0 до 50% в течение 40 мин при комнатной температуре в потоке 1,0 мл/мин. Детекцию проводили при 214 и 280 нм.

Для получения поликлональных антител против белков сыворотки коровьего молока кроликов иммунизировали β -лактоглобулином (варианты А и В; Sigma, США), α -лактальбумином (Sigma, США) с интервалом в одну неделю в течение 2,5 месяцев. Для инъекции использовали 1 мл раствора белка в концентрации 1 мг/мл в смеси с полным адьювантом (Freund's adjuvant; Calbiochem-Behring Corp., США). Забор крови

осуществляли с интервалом в одну неделю в количестве 20-40 мл. Специфичность сыворотки определяли методом двойной радиальной иммунодиффузии в агарозном геле (по Ухтерлони). Полученные сыворотки использовали для оценки аллергенных свойств белков молока.

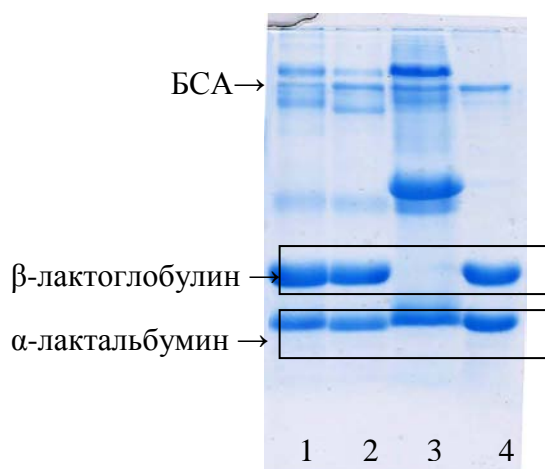
Результаты и обсуждение

Известно, что в козьем и женском молоке по сравнению с коровьим молоком белковая фракция α -s₁ казеин практически отсутствует, поэтому козье молоко вызывает меньше аллергических реакций и расстройств пищеварения, чем коровье [3]. Сравнительный анализ белков коровьего, козьего и женского молока, представленный на электрофореграмме (рисунок 1), свидетельствует о существенных различиях в составе белков не только казеиновой, но и сывороточной фракций. Преобладающим сывороточным белком коровьего молока является β -лактоглобулин (β -лг), а козьего и женского молока - α -лактальбумин (α -ла) (рисунок 2). Такой состав белков козьего молока приводит к тому, что в желудке молоко образует менее плотный сгусток, что значительно облегчает переваривание [1].



1 - молоко коровье цельное, 2 - молоко козье цельное, 3 - молоко женское, 4 - смесь стандартов сывороточных белков, 5 - казеин из коровьего молока, 6 - казеин из козьего молока

Рисунок 1 – ДСН-электрофореграмма белков молока и казеиновой фракции



1 - сыворотка коровьего молока, 2 - сыворотка козьего молока, 3 - сыворотка женского молока, 4 - смесь стандартов белков (β -лактоглобулина, α -лактоальбумина и бычьего сывороточного альбумина)

Рисунок 2 – ДСН-электрофореграмма белков молочной сыворотки и стандартов сывороточных белков

Проведено сравнение аминокислотных последовательностей предшественников коровьего (*Bos taurus*) и козьего (*Capra hircus*) β -лактоглобулинов (β -лг) с использованием методов компьютерного анализа (рисунок 3) [4]. Предшественник коровьего β -лг состоит из 178 аминокислотных остатков, первые 16 из которых входят в состав сигнального пептида, отщепляющегося на стадии процессинга данного белка. Сигнальный пептид козьего β -лг содержит два дополнительных аминокислотных остатка.

А	MKCLLLAL--ALTCGAQALIVTQTMKGLDIQKVAGTWYSLAMAASDISLLDAQSAPLRVY	58
Б	MKCLLLALGLALACGIQAIIVTQTMKGLDIQKVAGTWYSLAMAASDISLLDAQSAPLRVY	60
	***** **:* ** :*****	
	VEELKPTPEGDLEILLQKWENGESCAQKKIIAEKTKIPAVFKIDALNENKVLVLDTDYKKY	118
	VEELKPTPEGNLEILLQKWENGESCAQKKIIAEKTKIPAVFKIDALNENKVLVLDTDYKKY	120
	***** :*****	
	LLFCMENSAEPEQSLACQCLVRTPEVDDEALEKFDKALKALPMHIRLSEFNPTQLEEQQCHI	178
	LLFCMENSAEPEQSLACQCLVRTPEVDKEALEKFDKALKALPMHIRLAFNPTQLEGQCHV	180
	***** .***** :***** ** :	

Рисунок 3 - Сравнение аминокислотных последовательностей предшественников коровьего (А) и козьего (Б) β -лг

Зрелые коровий и козий β -лг состоят из 162 аминокислотных остатков. Данные белки отличаются высокой степенью гомологии, которая составляет около 97%. Имеющиеся аминокислотные замены в основном не затрагивают гидрофобного ядра рассматриваемых белков и, вероятно, не оказывают существенного влияния на их вторичную и третичную структуру. Детальное рассмотрение аминокислотных замен показало, что в молекуле козьего β -лг по сравнению с коровьим белком остатки аспарагиновой кислоты замещены на аспарагин и лизин. Данные аминокислоты локализованы на поверхности белковой молекулы, что следует из данных по пространственной организации β -лг (рисунок 4). Перечисленные замены могут привести к тому, что козий β -лг будет обладать более положительным суммарным зарядом по сравнению с коровьим. Данное предположение подтверждают результаты нативного электрофореза (рисунок 5). Показано, что сыворотке козьего молока не обнаруживаются белки с электрофоретической подвижностью, характерной для β -лг сыворотки коровьего молока (рисунок 5, дорожки 4 и 5). Согласно теоретическому расчету изоэлектрических точек коровьего и козьего β -лг, проведенного с использованием алгоритма Compute pI/Mw Tool сервера ExPASy [5] pI козьего β -лг составляет 5,29, а для коровьего – 4,83.

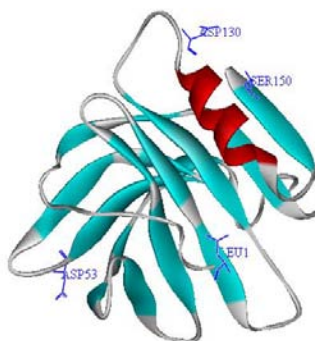
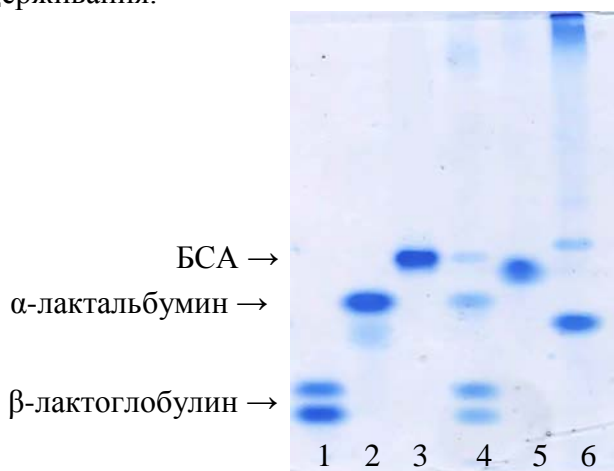


Рисунок 4 - Пространственная структура коровьего β -лг. На рисунке указаны некоторые аминокислотные остатки замещенные в козьем β -лг.

Белковый состав сывороток коровьего, козьего и женского молока изучен методом ВЭЖХ. В профиле элюции (рисунок 6А) сыворотки коровьего молока присутствуют несколько интенсивных пиков. С использованием хроматографических стандартов установлено, что пики со временем удерживания 33,1 и 33,5 соответствуют БСА κ -ла, а

двойной пик, регистрируемый на 37,3 и 37,7 мин – двум генетическим вариантам β -лг А и В. Результаты ВЭЖХ сыворотки козьего и женского молока представлены на рисунке 6 Б и В. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что сывороточные белки из указанных источников различаются по хроматографическим свойствам, а именно временам удерживания.



1 - стандарт β -лактоглобулина, 2 - α -лактальбумина, 3 – бычьего сывороточного альбумина (BSA); 4 - сыворотка коровьего молока, 5 - сыворотка козьего молока, 5 - сыворотка женского молока

Рисунок 5 - Электрофореграмма белков молока, молочной сыворотки и стандартов сывороточных белков

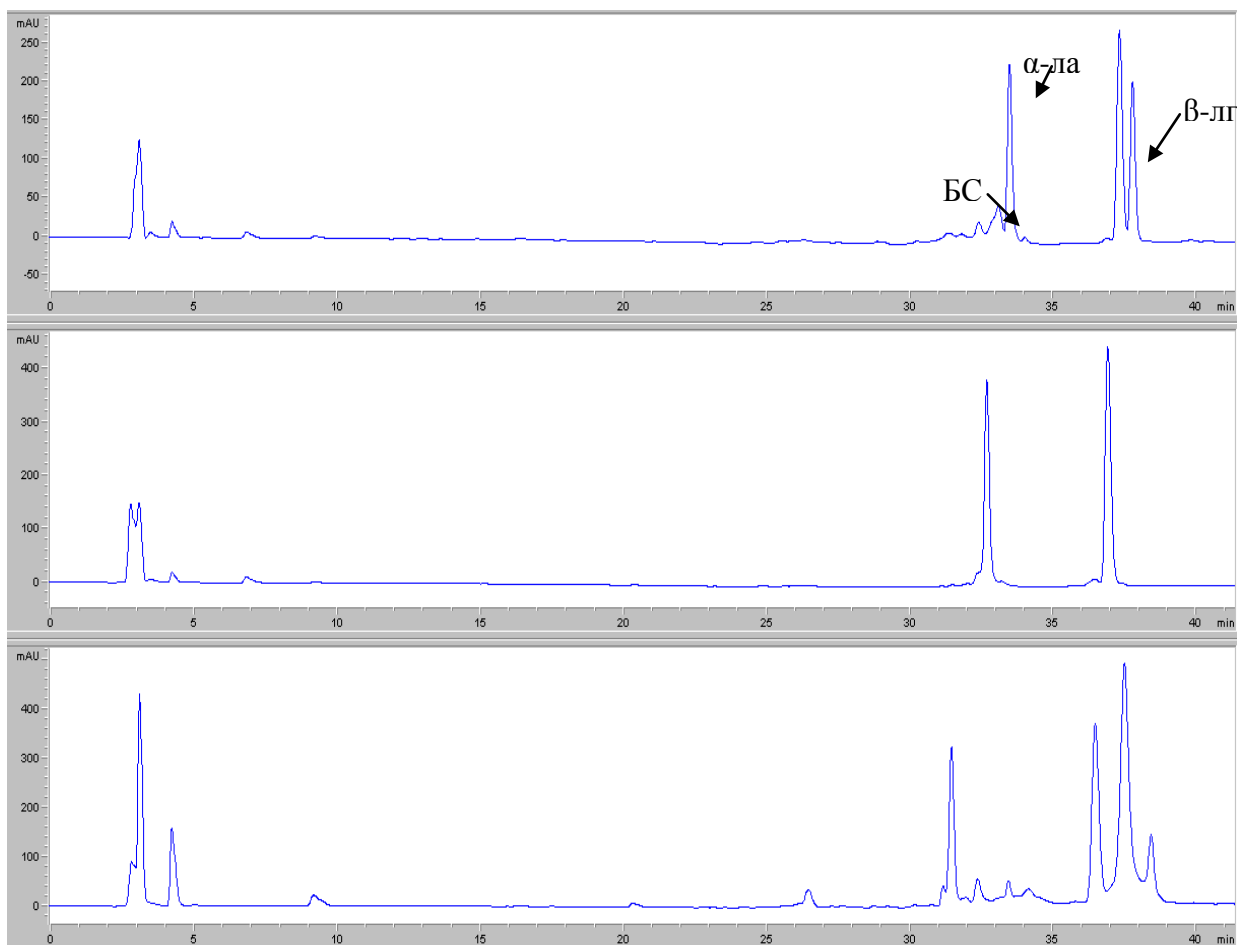
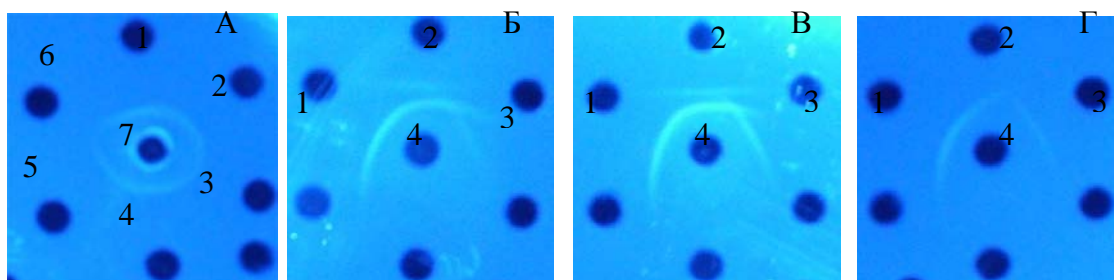


Рисунок 6 – результаты ВЭЖХ сывороточных белков коровьего (А), козьего (Б) и женского молока (В)



А: 1 - β -лг; 2 – концентрат сывороточных белков (КСБ-УФ-70, ОАО «Щучинский маслосырзавод», ТУ ВУ 100377914.550-2008); 3 - сыворотка коровья; 4 - β -лг; 5 - сыворотка козья; 6 - сыворотка женская; 7 - антисыворотка против β -лг
 Б: 1 - α -ла; 2 – сыворотка коровья, 3 - БСА, 4 - антисыворотка против α -ла и БСА
 В: 1 - α -ла; 2 – сыворотка козья; 3 - БСА; 4 - антисыворотка против α -ла и БСА
 Г: 1 - α -ла; 2 – сыворотка женская; 3 - БСА; 4 - антисыворотка против α -ла и БСА
 Рисунок 7 - Двойная радиальная иммунодиффузия (по Ухтерлони) в агарозном геле коровьей, козьей и женской сывороток

Гомологичность белков коровьего и козьего предполагает, что антигенные детерминанты данных белков во многом аналогичны. Методом иммунопреципитации (по Ухтерлони) с использованием кроличьих антител против основных сывороточных белков коровьего молока выявлены аллергенные белковые фракции в коровьем и козьем молоке (рисунок 7, А и Б). В частности, антисыворотка против β -лг коровьего молока дает перекрестные реакции с козьим β -лг, что обуславливает аналогичную картину преципитации (рисунок 7, А, 2-3 и 5). Преципитат в реакции с сывороткой женского молока не выявлен, что связано с отсутствием в ней основного аллергена коровьего и козьего молока - β -лг.

С использованием антисыворотки против α -ла и БСА идентичные результаты получены для сывороток коровьего и козьего молока (рисунок 7, Б и В, 1-3). Таким образом, иммунохимически в анализируемых сыворотках выявлены α -ла и БСА. При анализе сыворотки женского молока перекрестные реакции с кроличьими антителами против α -ла и БСА не обнаружены (рисунок 7Г, 1-3), что свидетельствует о различиях антигенных детерминант указанных белков.

Таким образом, не смотря на различия физико-химических свойств, выявленные с использованием электрофоретических методов и ВЭЖХ, сывороточные белки козьего и коровьего молока обладают сходной иммунореактивностью.

На следующем этапе работы был проведен сравнительный анализ аминокислотного, витаминного, минерального и жирнокислотного состава козьего, коровьего и женского молока с целью оценки пищевой ценности перечисленных продуктов питания.

Известно, что жировые шарики козьего молока значительно меньше по своим размерам, чем в коровьем молоке, что способствует лучшей усвояемости жира пищеварительной системой ребенка [6]. Показано, что жир козьего молока имеет другой состав жирных кислот в отличие от коровьего молока. Так, в козьем молоке содержится меньшее количество полиненасыщенных жирных кислот, чем в коровьем.

Таблица 1 – Состав жирных кислот козьего, коровьего и женского молока

Жирные кислоты	% от общего количества		
	Коровье молоко	Козье молоко	Женское молоко
Полиненасыщенные	3,7	2,7	13,8
Линолевая кислота ($\omega 6$)	2,0	1,6	10,8
Линоленовая кислота ($\omega 3$)	1,7	1,1	0,8

Необходимо отметить, что как коровье, так и козье молоко существенно уступает женскому молоку по содержанию полиненасыщенных жирных кислот и линолевой кислоты.

Результаты сравнительной характеристики содержания минеральных веществ и витаминов коровьего, козьего и женского молока приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Содержание минеральных веществ и витаминов в коровьем, козьем и женском молоке

Наименование ингредиента	Коровье молоко	Козье молоко	Женское молоко
Витамины:			
Ретинол (А), мг	0,025	0,06	0,06
Кальциферол (D), мкг	0,05	0,06	0,8
Токоферол (Е), мг	0,09	0,09	0,4
Аскорбиновая кислота (С), мг	1,5	2,0	6,2
Ниацин (РР), мг	0,1	0,3	0,2
Тиамин (В ₁), мг	0,04	0,04	0,02
Рибофлавин (В ₂), мг	0,15	0,14	0,06
Пантотеновая кислота, мг	0,38	0,30	0,45
Пиридоксин (В ₆), мг	0,05	0,05	0,02
Фолиевая кислота (В _с), мкг	5,0	1,0	1,4
Цианкобаламин (В ₁₂), мкг	0,4	0,1	0,05
Минеральные вещества:			
кальций, мг	120	143	35
фосфор, мг	95	89	15
калий, мг	148	220	50
натрий, мг	50	47	17
железо, мг	0,067	0,1	0,04
цинк, мг	0,46	0,41	0,14
медь, мкг	12	20	30
йод, мкг	16	11	2,0-10

По своим физико-химическим свойствам и вкусу козье молоко выгодно отличается от коровьего и от молока других видов животных. Вероятно, это связано с тем, что в козьем молоке содержится много калия, роль которого особенно велика в деятельности сердечно-сосудистой системы.

Низкое содержание лактозы (на 13% меньше, чем в коровьем молоке, и на 41% меньше, чем в женском молоке) позволяет употреблять этот продукт людям, страдающим непереносимостью лактозы.

Помимо вышеперечисленных особенностей козье молоко содержит много кальция, фосфора, меди, витаминов группы В, С и D. Однако, козье молоко, как и коровье, является бедным источником железа. Тем не менее, его количество в данных объектах выше, чем в женском молоке. Железо необходимо не только для синтеза гемоглобина крови, но и для обеспечения нормальной работы иммунной системы и адекватности поведенческих характеристик. У взрослых дефицит железа связывается с повышенной реакцией на охлаждение. Железо козьего молока усваивается намного лучше (30%), чем железо коровьего молока (10%), но не достигает уровня усвоения железа женского молока (50%) [1].

Сравнительные данные аминокислотного состава козьего, коровьего и женского молока приведены в таблице 3. Согласно полученным данным, козье молоко насыщено

лизином, тирозином и цистином. Данные аминокислоты принимают участие в процессах синтеза различных гормонов, нейромедиаторов, витаминopodobных веществ и необходимы для поддержания нормального хода целого ряда метаболических процессов.

Таблица 3 – Сравнительный анализ аминокислотного состава козьего, коровьего и женского молока

Аминокислоты	% от общего количества		
	Коровье молоко	Козье молоко	Женское молоко
Валин	6,0	6,4	6,0
Изолейцин	5,9	5,7	4,6
Лизин	7,8	8,6	6,6
Треонин	4,8	4,8	4,6
Тирозин	4,3	4,9	4,8
Цистин	0,8	1,2	2,2

Таким образом, белки козьего молока отличаются от белков коровьего и женского молока по фракционному составу и по своим структурным, физико-химическим и иммунологическим свойствам. Так как для сывороточных белков козьего и коровьего молока показана сходная иммунореактивность, гипоаллергенные свойства продуктов на основе козьего молока связаны с различиями в составе казеиновой фракции. Согласно проведенным исследованиям аминокислотного, витаминного, минерального и жирнокислотного состава установлено, что козье молоко не уступает, а по ряду показателей превосходит коровье молоко, что позволяет использовать его в качестве компонента различных продуктов питания.

Список литературы

1. Денисова, С.Н. Использование козьего молока в питании кормящих матерей для лечения и профилактики атопического дерматита у детей / С.Н. Денисова, Т.Б. Сенцова, М.В. Гмошинская, М.Ю. Белицкая // Вопросы детской диетологии. – 2004. - №2. - С. 21–24.
2. Козырева, С.Ю. О пользе козьего молока / С.Ю. Козырева, И.Н. Шманова // Технология и продукты здорового питания: материалы междунар. науч.-практ. конф., Саратов, 2007 / ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ»; редкол.: А. В. Голубева. – Саратов, 2007. – С. 62.
3. Шамова, А.Г. Пищевая аллергия у детей (новые технологии профилактики и лечения). Методические рекомендации для врачей. / А.Г. Шамова [и др.] - ГОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, Казань, 2005. - 19 с.
4. SIB BLAST Network Service [Electronic Resource] / ExPASy Proteomics Server, 2009. – Mode of access: <http://www.expasy.ch/tools/blast/> . – Date of access: 05.05.2009.
5. Compute pI/Mw Tool [Electronic Resource] / ExPASy Proteomics Server, 2009. – Mode of access: http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html . – Date of access: 05.05.2009.
6. Скальный, А.В. Основы здорового питания: пособие по общей нутрициологии / А.В.Скальный [и др.]; под ред. А.В.Скального. - Оренбург: ГОУ ОГУ, 2005. – 117 с.