

И.В. Гмошинский¹, И.С. Зилова¹, С.Н. Зорин¹, Е.Ю. Демкина²

¹ НИИ питания РАМН, Москва

² ЗАО «Лакталис Восток», Москва

Мембранные технологии — инновационный метод повышения биологической ценности белка для питания детей раннего возраста

Contacts:

Gmoshinskii Ivan Vsevolodovich, PhD, leading research scientist and researcher of Laboratory of alimentary toxicology with evaluation group of nanomaterials safety of RI of Nutrition of RAMS

Address: 2/14, Ust'tinskii proezd, Moscow, RF, 109240, Tel.: (495) 698-53-71, e-mail: gmosh@ion.ru

Article received: 27.04.2012, Accepted for publication: 22.05.2012

Рассматривается качественно новый подход к производству белка для молочных смесей в питании детей раннего возраста. Преимущество использования мембранных технологий состоит в том, что они позволяют сохранить биологическую ценность белка и возможность контроля и управления уровнем аминокислот в белке, максимально оптимизируя их соотношение и количество.

Ключевые слова: мембранные технологии, белок PROLACTA, детские молочные смеси.

Белки — основной «строительный» материал организма человека, вещества, входящие в состав всех тканей и органов. Функции белков разнообразны, выделяют пластические, каталитические (ферменты), регуляторные (гормоны, нейропептиды и др.), двигательные (миозин, актин), опорные (коллаген, эластин), рецепторные, защитные (антитела, цитокины) и др. Источником аминокислот для построения собственных белков организма могут быть только белки пищи.

Для правильного выбора источника белка в рационе необходимо понимать, что белки, поступающие с пищей, различны по своему происхождению. Отличаясь по химическому составу, который определяется составляющими их аминокислотами, белки пищи могут с различной эффективностью использоваться для построения собственных белков организма.

Поэтому кроме абсолютного количества потребляемого белка важно его качество. Все аминокислоты принято делить на незаменимые (эссенциальные) и заменимые. Незаменимыми называют те аминокислоты, которые организм человека не может синтезировать сам и поэтому должен получать с пищей. К ним относят лейцин, изолейцин, валин, триптофан, лизин, треонин, метионин и фенилаланин. Еще две аминокислоты (цистеин и тирозин) называют условно-незаменимыми (в англоязычной литературе — «полузаменимыми» — semi-essential), т.к. они могут синтезироваться организмом из метионина и фенилаланина, соответственно. Для детей незаменимой аминокислотой считается гистидин. Остальные аминокислоты — аланин, аргинин, аспарагиновая, глутаминовая кислоты, глицин, пролин и серин являются заменимыми и могут син-

I.V. Gmoshinskiy¹, I.S. Zilova¹, S.N. Zorin¹, E.J. Demkina²

¹ SRI of Nutrition RAMS, Moscow

² CC «Lactalis Vostok», Moscow

Membrane technologies — an innovative method of protein biological value increasing in young children feeding

A qualitatively new approach to protein production for milk formulas for infants is discussed in this article. The advantage of membrane technologies usage is that they allow preserving protein biological value and make it possible to control the levels of amino-acids in protein by optimizing their proportion and quantity.

Key words: membrane technologies, protein PROLACTA, milk formulas for infants.

тезироваться в организме, в т.ч. из незаменимых аминокислот.

В научной литературе введено понятие «биологическая ценность», которое характеризует способность белка поддерживать положительный баланс азота у растущего организма, адекватный для обеспечения его роста и развития, и нулевой баланс — у взрослого.

Для оценки качества белка предлагалось множество методов, перечень и краткое описание которых представил в обзоре В.Г. Высоцкий с соавт. (1976), но наибольшее распространение получили величины биологической ценности, которые рассчитывают:

- 1) химическим методом — определение аминокислотного состава (показатель «аминокислотный скор»);
- 2) биологическими методами в эксперименте (различные коэффициенты биологической ценности).

ХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД

На основе состава аминокислот и приемлемости белка для организма введено понятие полноценности, которую характеризует содержание незаменимых аминокислот относительно установленных для них норм потребностей у человека. Показатель, характеризующий процентное содержание той или иной незаменимой аминокислоты в белке по отношению к теоретически необходимому ее количеству согласно выбранному стандарту (шкале потребности), называется аминокислотным скором, а аминокислота, содержащаяся в наименьшем количестве относительно стандарта — лимитирующей, которая определяет биологическую ценность (полноценность) данного белка.

Если таких аминокислот в анализируемом белке несколько, то они подразделяются на первую, вторую и т.д. лимитирующие аминокислоты, начиная с аминокислоты, содержание которой наименьшее относительно стандартной величины. В случае отсутствия лимитирующих аминокислот показатель аминокислотного сора белка равен 1 (или 100%) и более. Белки, в которых количество хотя бы одной незаменимой аминокислоты не достигает установленной потребности, называют неполноценными; те же, в которых незаменимых аминокислот достаточно — полноценными.

Шкала суточной потребности в аминокислотах периодически уточняется и предлагается Продовольственной и сельскохозяйственной организацией ООН совместно со Всемирной организацией здравоохранения (ФАО/ВОЗ) для использования в качестве стандарта в международной практике. При этом шкала варьирует по возрастам и годам. Так, до 1990 г. использовали шкалы потребностей, предложенные ФАО/ВОЗ в 1973 г., с 1990 г. — другие. При оценке биологической ценности белков для питания детей раннего возраста часто используется шкала, основанная на показателях аминокислотного состава белка женского молока.

Исходя из того, что белки разного происхождения часто лимитированы по разным незаменимым аминокислотам относительно шкалы потребностей, существует прием создания полноценных белковых смесей по прин-

ципу комплементарности аминокислотного состава (взаимного дополнения).

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Величины биологической ценности, определяемые в экспериментах на животных, условно можно разделить на «ростовые» и «балансовые».

Выделяют следующие показатели, определяемые на основе прироста массы тела относительно употребляемого белка (обычно у растущих крыс в силу схожей с человеком пищеварительной системы):

- коэффициент эффективности белка PER (в отечественной литературе КЭБ);
- коэффициент чистой эффективности белка NPR (или КЧЭБ), который учитывает потери в массе тела у животных на безбелковом рационе (за счет эндогенных потерь азота).

Показатели, определяемые на основе баланса азота, поступившего с пищей и выделенного в процессе жизнедеятельности с мочой и калом:

- BV — биологическая ценность (отношение величины баланса азота к разнице между потребленным азотом и выделенным с калом);
- NPU — чистая утилизация белка — отношение величины баланса азота к потребленному азоту).

Кроме того, на основе балансовых исследований рассчитывают усвояемость белка (D), которая определяется как соотношение разности между потребленным азотом и выделенным с калом к потребленному азоту с рационом. Для более точного определения расчеты проводят с учетом азота, выделяемого животными при получении рациона, не содержащего белок, т.е. за счет собственных белков тела (эндогенные потери). В последнем случае показатели обозначаются в соответствующей научной литературе как BV_{tr} , NPU_{tr} и D_{tr} , где tr — обозначение учета эндогенных потерь организма при расчете этого показателя.

Перечисленные «ростовые» показатели биологической ценности используют обычно в экспериментах, особенно при изучении новых источников или форм белка для оценки воздействия данного белка на рост и развитие животных и для выявления его оптимального уровня, необходимого для нормального развития.

Показатели биологической ценности и усвояемости, основанные на исследовании баланса азота, о которых было упомянуто выше, используют как в экспериментальных исследованиях с животными, так и в исследованиях с участием человека.

Опубликованные данные показывают, что величины показателей биологической ценности различаются как для разных белков, так и при разных уровнях одного и того же белка в рационе, при этом количество полноценного белка, включенного в состав рациона, может быть меньше для достижения максимальных результатов.

Исследования в биологических экспериментах требуют высоких материальных затрат, достаточно длительны и лишь косвенно учитывают аминокислотный состав. Поэтому с недавнего времени Университетом ООН апробирован и предложен новый показатель качества бел-

ка, учитывающий как химический состав — показатель аминокислотного сора, так и биологический показатель качества белка — величину «истинной» усвояемости (Dtr), которая характеризует степень утилизации (использования) потребленного белка в организме с учетом эндогенных потерь организма (за счет естественного распада собственных тканей).

Новый показатель качества белка, обозначенный как PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score, ФАО) — аминокислотный скор, скорректирован по усвояемости.

Указанную величину значительно легче рассчитать, тем более что в литературе опубликованы составы аминокислот практически всех существующих белков, а также величины Dtr наиболее часто используемых белков в рационах как в чистом виде (изолированные и концентрированные формы белков цельного коровьего молока, казеинатов, лактальбумина, яичного альбумина, сои, пшеничного глютена и т. п.), так и в составе пищевых источников (говядина, овсяные хлопья, консервированные бобовые, пшеница и др.).

При необходимости оценки нового источника белка или белка какого-либо продукта достаточно провести короткий эксперимент по определению усвояемости Dtr и рассчитать аминокислотный состав белкового компонента или определить его на аминокислотном анализаторе.

Качество белка, используемого в детских молочных смесях, остается одним из актуальных вопросов на сегодняшний день. Изучение последствий нарушения белковой обеспеченности остается основным вопросом в питании детей раннего возраста. Ожирение, риск развития сахарного диабета, сердечно-сосудистых патологий доказанно связаны с избыточным потреблением белка и дисбалансом аминокислот в потребляемом белке в раннем возрасте.

Для правильного роста и развития детей первого года жизни, помимо адекватного содержания белка в рационе питания, необходимо максимально близкое соответствие аминокислотного профиля белка детской смеси аминокислотному профилю белка женского молока. Создание белка для заменителя грудного молока с высоким показателем аминокислотного сора является одной из ключевых задач в области технологии заменителей грудного молока.

Сравнение аминокислотного состава белка коровьего и женского молока позволяет определить основные задачи, которые стоят перед разработчиками и производителями детских молочных смесей:

- снижение в белке уровня аминокислоты треонина;
- повышение уровня аминокислоты триптофана;
- достижение наиболее благоприятного соотношения триптофан/треонин;
- обеспечение баланса аминокислот в белке между соотношением количества триптофана и уровнем «больших нейтральных аминокислот» (лейцин, изолейцин, валин).

Решение этих задач практически невыполнимо при использовании традиционных способов получения белка для заменителей женского молока.

С развитием пищевых технологий подходы к получению высококачественного белка молочных смесей в значительной степени совершенствуются. Мембранные технологии (МТ) в настоящее время находят самое широкое применение, а мировой рынок мембран ежегодно растет на 8–12% в течение последних 50 лет [1]. В последние годы стимул к проведению исследований в области мембранных технологий придало то обстоятельство, что они оказались важным разделом нанотехнологий, поскольку эффект селективности массопереноса во многом определяется наличием наноразмерных пор в мембранах. Мембранными материалами являются многочисленные природные (целлюлоза) и синтетические полимеры. Сюда же относятся керамика, графит и металлические сплавы. Главное свойство мембраны — высокая селективность, характеризующая способность разделять компоненты смеси. В России также имеются производители мембран, некоторые из которых финансирует ОАО «РОСНАНО».

В пищевой промышленности, в частности в молочной отрасли, мембранные технологии используются при выделении из молока его компонентов, концентрировании и разделении белков и т. д. Высокая селективность, безопасность, мягкие условия проведения, способствующие максимальному сохранению термолабильных пищевых веществ, способствуют массовому распространению мембранных технологий. С внедрением принципа тангенциальной фильтрации, позволившего преодолеть трудности метода, связанные с эффектами образования околослойных слоев и концентрационной поляризации, стала возможной разработка МТ, обладающих высокой производительностью.

При мембранной фильтрации основную роль в эффекте разделения играет размер частиц, тогда как их физические и химические свойства, определяющие взаимодействие с мембраной, имеют второстепенное значение. В зависимости от размера пор применяемых мембран выделяют следующие виды мембранных технологий:

1. Микрофильтрация, использующая мембраны с порами диаметром более 100 нм ($1 \text{ нм} = 10^{-9} \text{ м}$). Микрофильтрационные мембраны задерживают бактериальные и соматические клетки, жировые капельки, мицеллы казеина, крупные белковые агрегаты и беспрепятственно пропускают белки молока и низкомолекулярные компоненты (соли, лактозу) (рис. 1).
2. Ультрафильтрация, при которой размер пор мембраны находится в интервале 1–100 нм. Такие мембраны используются для селективного фракционирования белков по их молекулярным массам, разделения белка и лактозы молочной сыворотки, а также для отделения негидролизованного белка от коротких пептидов и других малых молекул в ходе получения ферментативных белковых гидролизатов (рис. 2).
3. Нанофильтрация, применяющая мембраны с размером пор 0,1–1 нм, позволяет проводить обессоливание пищевых веществ, в т. ч. низкомолекулярных (пептиды и лактоза). Нанофильтрационные мембраны

Рис. 1. Характеристика процесса микрофльтрации (используется при производстве PROLACTA)

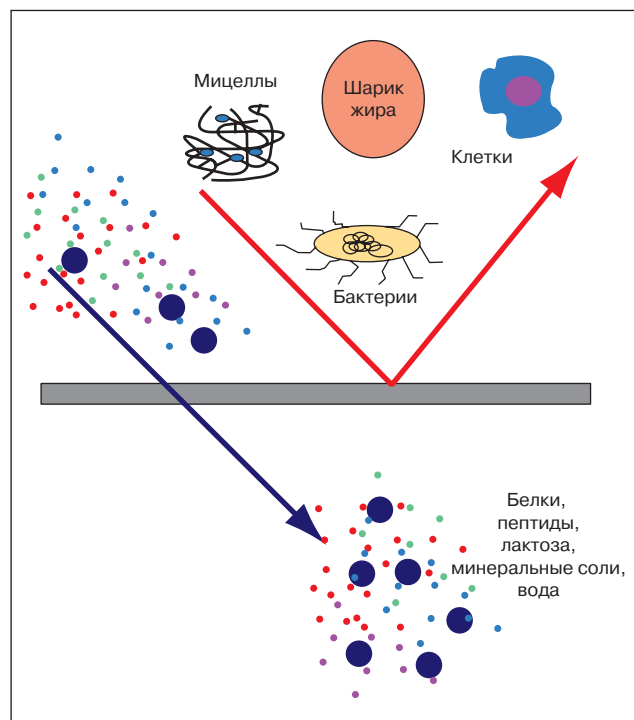


Рис. 2. Характеристика процесса ультрафльтрации (используется при производстве PROLACTA)

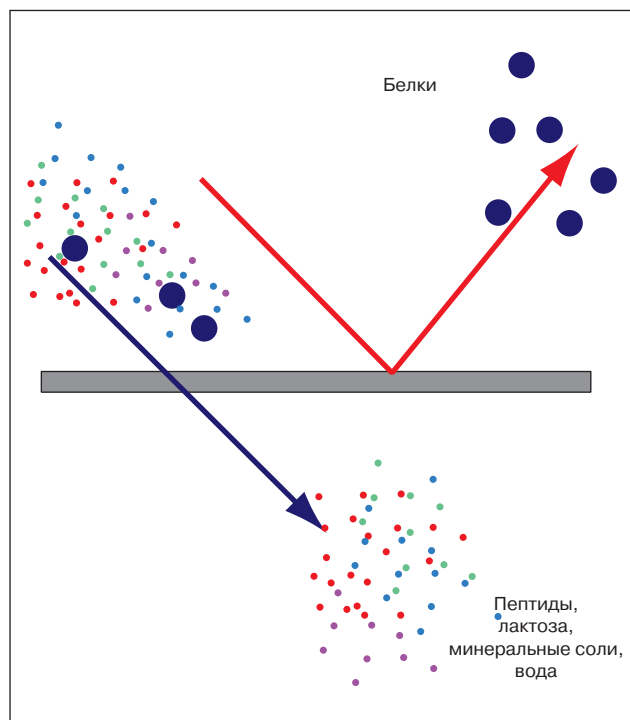


Рис. 3. Характеристика процесса нанофльтрации (используется при производстве PROLACTA)

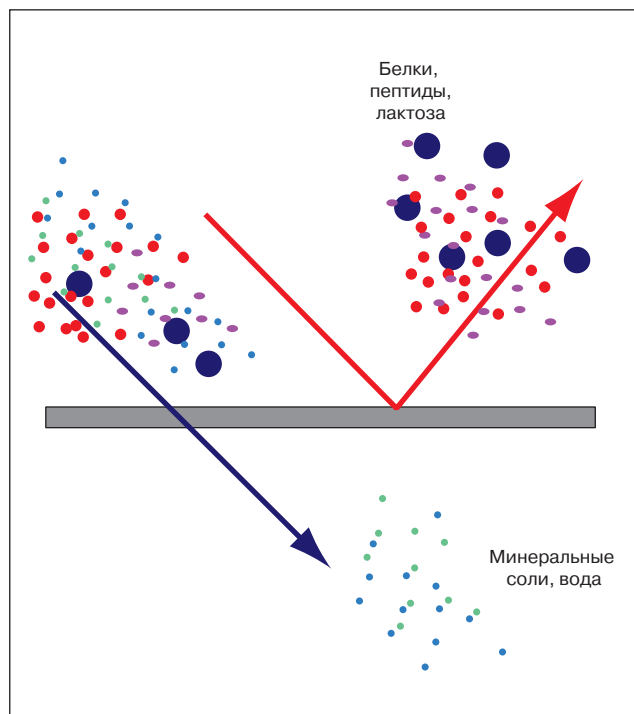
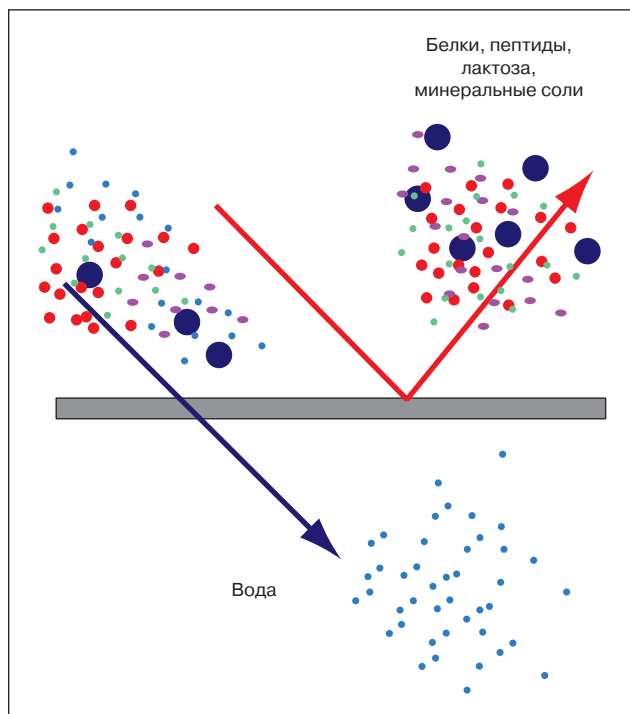


Рис. 4. Характеристика процесса обратного осмоса (используется при производстве PROLACTA)



задерживают макромолекулы растворимых белков, пептидов, лактозы, пропускают ионы минеральных солей, воду (рис. 3).

4. Обратный осмос (поры диаметром около 0,1 нм, проницаемы только для воды) позволяет концентрировать пищевые вещества и получать высокоочищенную питьевую воду (рис. 4).

Важно подчеркнуть, что хотя мембранные технологии и являются по формальным признакам нанотехнологиями, их продукция (пищевые вещества в виде очищенных фракций) не относится к наноматериалам, т.к. не содержит наночастиц, а представлена только веществами в традиционных для питания человека формах.

Главное преимущество использования мембранных технологий в производстве белка для питания детей раннего возраста — возможность получения продукта с регулируемым аминокислотным составом. Одновременно возможно улучшить перевариваемость, растворимость белка, его вкусовые свойства. Вследствие низкой температуры, при которой протекают процессы мембранного разделения, значительно снижается степень протекания реакции Майяра, приводящей к потемнению белково-углеводных смесей и снижению биологической ценности вследствие потерь аминокислот. Высокая скорость мембранных процессов значительно снижает риск микробной контаминации продукта.

Использование МТ позволяет получить продукты с регулируемым минеральным составом и снизить осмоляемость смеси, что влияет на переносимость детьми молочной смеси, а также отказаться от производства продуктов для детского питания с использованием молочной (подсырной) сыворотки, которая, по сути, является отходом производства сыроделия. К недостаткам молочной сыворотки, как источника белка, относится кислая среда (низкие значения pH), избыточное количество солей, неудовлетворительные вкусовые качества, а также то, что в подсырной сыворотке помимо сывороточных белков содержатся микробные и сычужные ферменты, значительные количества остаточного жира и бактерий.

Помимо всего перечисленного, в молочной сыворотке невозможно контролировать количество гликомакропептида, который выделяется под воздействием сычужного фермента из каппа-казеина молока. Согласно данным G. Boehm и соавт., гликомакропептид служит источником избыточного поступления треонина и его повышения в плазме крови, чего следует избегать, т.к. при этом происходит увеличение концентрации глицина в головном мозге. Указанные изменения негативно воздействуют на нейротрансмиттерный баланс в головном мозге, что может повлиять на развитие центральной нервной системы в ранний постнатальный период жизни [2].

Одним из примеров использования мембранных технологий в получении белка для питания детей раннего возраста может служить белок PROLACTA.

С помощью мембранных технологий сывороточные белки напрямую извлекают из обезжиренного молока, избегая применения высоких температур, химического и ферментативного воздействия, привычных в производствах с получением сыворотки. Вследствие этого белки PROLACTA избегают денатурации, т.е. полностью сохраняют свои нативные свойства (рис. 5).

Оптимизированный белок PROLACTA — это изолят сывороточных белков молока, полученный с использованием методов микрофильтрации, ультрафильтрации, нанофильтрации и обратного осмоса (рис. 6). Состав ами-

Рис. 5. Характеристика мембранных технологий, используемых в процессе производства белка PROLACTA

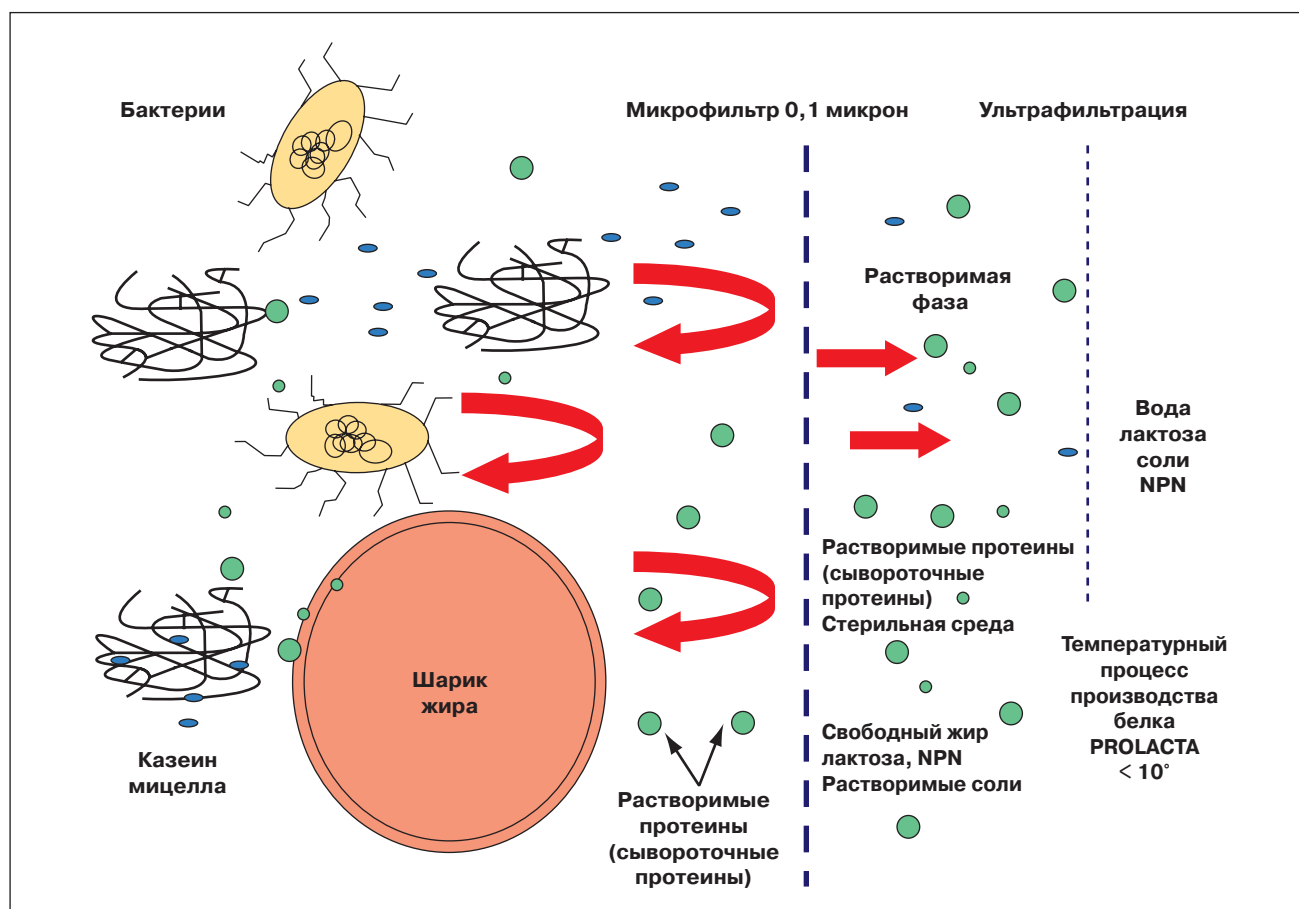
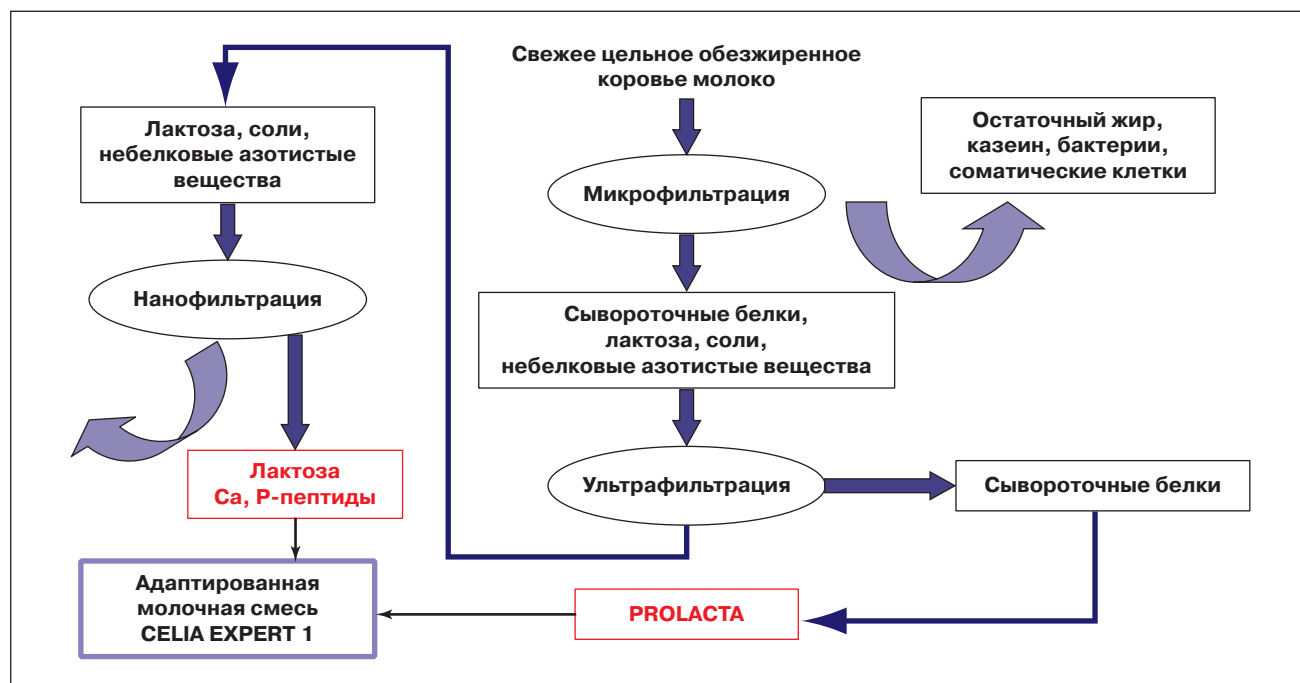


Рис. 6. Технологическая схема производства белка PROLACTA



нокислот белка PROLACTA был проанализирован в сравнении с белком деминерализованной молочной сыворотки, полученной стандартным путем. Сравнительные результаты (г/100 г белка) приведены в табл.

Таблица. Аминокислотный состав белка PROLACTA в сравнении с белком деминерализованной молочной сыворотки [3]

Аминокислоты	Содержание, г/100 г белка	
	Белок PROLACTA	Белок деминерализованной молочной сыворотки
Аспарагиновая кислота	11,3	10,3
Треонин	5,0	7,0
Серин	4,5	5,0
Глутаминовая кислота	17,1	17,0
Пролин	4,6	5,7
Глицин	2,0	1,8
Аланин	4,8	5,0
Валин	5,1	5,7
Метионин	2,1	2,2
Изолейцин	5,0	5,7
Лейцин	12,2	10,5
Тирозин	3,4	3,2
Фенилаланин	3,8	3,3
Гистидин	2,0	1,8
Лизин	9,6	9,1
Аргинин	2,3	2,4
Триптофан	2,1	1,8
Цистин	3,1	2,5

Как следует из данных таблицы, белок PROLACTA, входящий в состав молочной смеси CELIA EXPERT, характеризуется гораздо меньшей концентрацией треонина по сравнению с молочной сывороткой, подвергшейся деминерализации (на 29% меньше), а также более высокими значениями лимитированной аминокислоты триптофана (на 18% больше) [3]. Отношение содержания триптофан/треонин в белке и продуктах на его основе (0,42) в 1,6 раза выше, чем в белке молочной сыворотки (0,26).

В 2001 г. в Национальном институте агрономических исследований г. Клермон-Ферран во Франции (CLERMONT-FERRAND CEDEX, France) исследователь Ф. Патюро–Миран продемонстрировал, что коэффициент усвояемости белка PDCAAS для белка PROLACTA был на 16% выше, чем в белке сыворотки, применяемом в традиционных молочных смесях (рис. 7) [4].

На рис. 8 представлены эксклюзионные хроматограммы на колонке супероза-12 концентрата белков молочной сыворотки и белка PROLACTA. Видно, что последний продукт отличается более высокими значениями обладающего максимальной биологической ценностью компонента α -лактальбумина по сравнению с белком молочной сыворотки.

Таким образом, мембранная обработка белка позволила не только избежать воздействия на белок высоких температур, приводящих к разрушению незаменимых аминокислот и потере биологической ценности белка, но и добиться воздействия на белковый и пептидно-аминокислотный состав белка, позволяя:

- сохранить и увеличить содержание дефицитных незаменимых аминокислот триптофана и метионина [4] (рис. 9);

Рис. 7. PDCAAS (аминокислотный скор, скорректированный по усвояемости; Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score, ФАО) белка PROLACTA в сравнении с молочным сывороточным белком традиционных молочных смесей

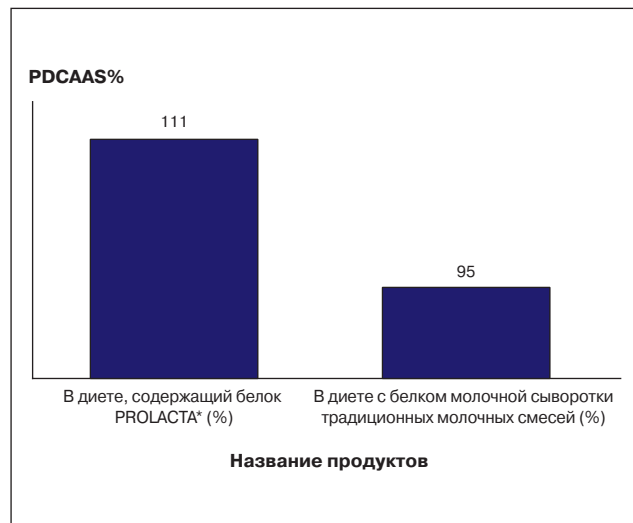


Рис. 9. Содержание триптофана в белке PROLACTA, а также в грудном молоке и концентрате белков молочной сыворотки

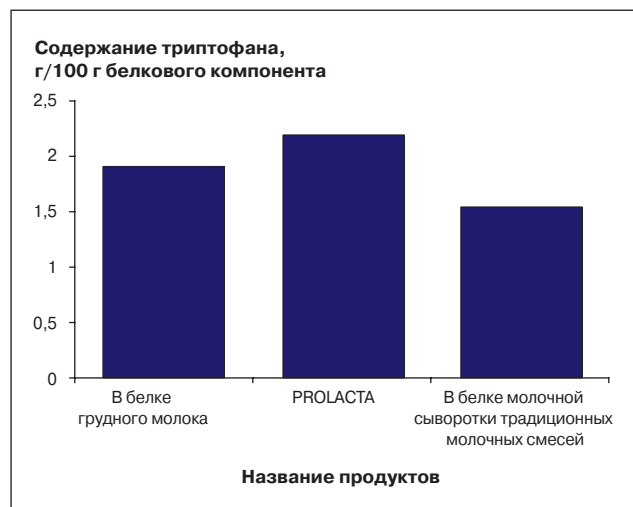
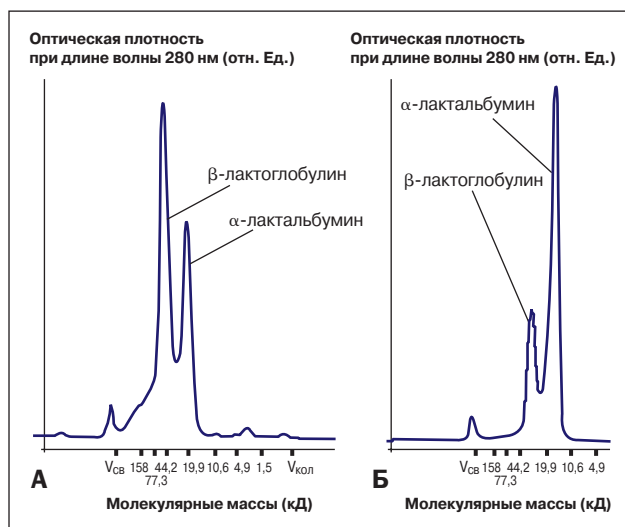
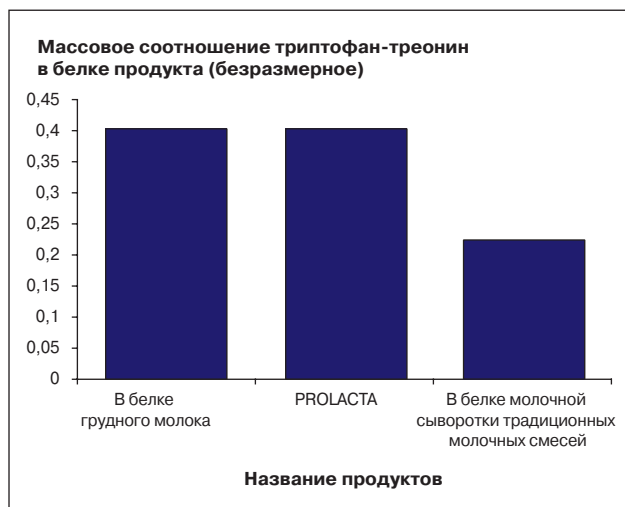


Рис. 8. Эксклюзионные хроматограммы исходного концентрата белков молочной сыворотки (А) и белка PROLACTA (Б)



Примечание. Супероза-12 (1,6*50 см). Ультрафиолетовый детектор UV-1 (280 nm).

Рис. 10. Отношение: триптофан/треонин в грудном молоке, белке PROLACTA и концентрате белков молочной сыворотки



- добиться сбалансированного (по отношению к белку женского молока) соотношения триптофан/треонин (рис. 10);
- сбалансировать минеральный состав белка;
- избавиться от нежелательных примесей (гликомакропептиды, ферменты и др.);
- достичь нейтрального значения pH и хорошего вкуса, что имеет важное значение при введении молочной смеси ребенку после грудного молока.

Таким образом, создан уникальный белок PROLACTA, содержащий сывороточные белки высокого качества с усовершенствованным аминокислотным составом

и сохранной биологической ценностью. Также удалось уменьшить общее содержание белка в формуле до 1,4 г/100 мл смеси (в стандартной смеси на основе белка молочной сыворотки содержится, как правило, 1,5 г белка на 100 мл смеси; в смесях на казеиновой основе — 1,8 г/100 мл или более). Технология производства белка является инновационной и запатентованной.

Дальнейшее развитие новых мембранных технологий позволит на принципиально новом уровне решить как научные, так и технологические задачи, стоящие перед разработчиками и производителями продуктов питания самого широкого профиля [5–8].

REFERENCES

1. Svittsov A. *Khimicheskii zhurnal — The Chemical Journal*. 2010; 10: 22–24.
2. Boehm G., Cervantes H., Georgi G. et al. Effect of Increaseing Dietary Threonine Intakes on Amino Acid metabolism of the Central Nervous System and Peripheral Tissues in Growing Rats. *Pediatric Research Foundation*. 1998; 900–906.
3. Organisation Mondiale de la Propriete Intellectuelle. Demande international publiee en vertu du traite de cooperation en matiere de brevets (pct). 2001; WO 01/93689 A1.
4. *Kompaniya Laktalis. Sobstvennye nauchnye dannye* [Company Laktalis. Current Scientific Data]. Moscow, 2001.
5. Picot Laurent et al. Impact of ultrafiltration and nanofiltration of an industrial fish protein hydrolysate on its bioactive properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2010; 90 (11): 1819–1826.
6. Bazinet L., Firdaous L. Membrane Processes and Devices for Separation of Bioactive Peptides. *Recent Patents on Biotechnology*. 2009; 3: 61–72.
7. B. Van der Bruggena Drawbacks of applying nanofiltration and how to avoid them. *A review Separation and Purification Technology*. 2008; 251–263.
8. Zorin S. N. *Nanofil'tratsiya: perspektivy ispol'zova-niya v proizvodstve spetsializirovannykh pishchevykh produktov* [Nanofiltration: Perspectives of Processing of Foods for Particular Nutritional Uses]. *Materialy X Vserossiiskogo kongressa dietologov i nutritsiologov «Pitanie i zdorov'e»* (Proceedings of 10th Russian National Congress of Dietarians and Nutritionists “Nutrition and Health”). Moscow, 2008. pp. 37–80.