

*Е.Ю. Агаркова, К.А. Березкина, А.Г. Кручинин, В.Г. Будрик,
В.Д. Харитонов, О.В. Королева, И.В. Николаев*

*Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности
Российской академии сельскохозяйственных наук, Москва, Российская Федерация,
Институт биохимии им. Баха Российской академии наук, Москва,
Российская Федерация*

РАЗРАБОТКА ПРОДУКТОВ ДЛЯ ДИЕТИЧЕСКОГО ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ С ПОНИЖЕННОЙ АНТИГЕННОСТЬЮ

Введение. Получение белковых пищевых продуктов и ингредиентов с пониженной антигенностью является одной из актуальных задач современной пищевой биотехнологии. Исходя из данных белой книги «Всемирная организация по аллергии WAO» 2011-2012 гг., пищевой аллергией в мире страдают до 520 млн человек [1]. Особенно актуальна проблема аллергии в детском возрасте – она составляет 42,8 %, что в 2-3 раза выше, чем у взрослых.

Результаты исследований. В ходе выполнения федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы» специалисты ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии в консорциуме с такими организациями, как Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, ФГБОУ ВПО «КемТИПП»; Центр «Биоинженерия» РАН; НИИДП Россельхозакадемии; ООО «НПВФ «Экрос»; ООО «МЗ Молния» НИИ Питания РАМН, ФГБОУ ВПО «ВГУИТ» и др. в 2012-2013 годах провели работы в рамках Государственного контракта: «Разработка технологии получения гипоаллергенных функциональных молочных продуктов».

Основным направлением данной работы являлось проведение биокаталитической конверсии белков молочной сыворотки и создания на их основе продуктов с пониженной аллергенностью для диетического профилактического питания [2]. На основе анализа существующих способов получения гидролизатов (кислотного, щелочного и ферментативного) предпочтение было отдано ферментативному гидролизу, протекающему при щадящих технологических параметрах (рН, температура), обеспечивающим максимальное сохранение

питательной ценности и получение продукта с желаемой глубиной гидролиза. Помимо сниженной аллергенности белковые гидролизаты обладали различными биологическими эффектами, такими как гипотензивная, антиоксидантная, иммуномодулирующая активность.

В качестве источника получения полноценного белка, содержащего полный набор незаменимых аминокислот в количестве, достаточном для биосинтеза белка, использовали молочную сыворотку. Белки, содержащиеся в молочной сыворотке и концентратах сывороточных белков, обладают ценными биологическими свойствами. Аминокислотный состав основных белков молочной сыворотки β -лактоглобулина и α -лактальбумина наиболее близок к аминокислотному составу мышечной ткани человека, а по содержанию незаменимых аминокислот (лизина, триптофана, метионина, треонина) и аминокислот с разветвленной цепью (валина, лейцина и изолейцина) они превосходят все остальные белки животного и растительного происхождения [3].

В то же время β -лактоглобулин обладает максимальным среди всех аллергенов молока числом линейных эпитопов (290), т.е. антигенных участков белковой структуры, на которые реагирует иммунная система, вырабатывая антитела и Т-клеточные рецепторы, в результате чего возникает воспалительная цепная реакция [4, 5, 6]. Из данных НИИ питания РАМН известно, что наиболее часто аллергенспецифические IgE-антитела в сыворотке крови у детей обнаруживаются к сывороточным фракциям белка коровьего молока: α -лактоальбумину (68,4 %) и β -лактоглобулину (71,2 %) [7].

Для выделения белков молочной сыворотки, обладающих требуемым комплексом функциональных свойств и снижения их аллергенности, ее последовательно подвергали электродиализной деминерализации с последующим концентрированием через ультрафильтрационную мембрану, биокаталитической конверсии и баромембранному фракционированию. Использование приемов биокаталитической конверсии позволило снизить аллергенность минимум в 10 раз, при этом удалось избежать основной проблемы при получении гидролизатов из молочного белка – горького вкуса и использовать данные композиции при производстве молочных продуктов для людей с частичной непереносимостью белков молока.

Последовательность операций получения гидролизатов молочных белков с заданной остаточной антигенностью представлена на рисунке 1.

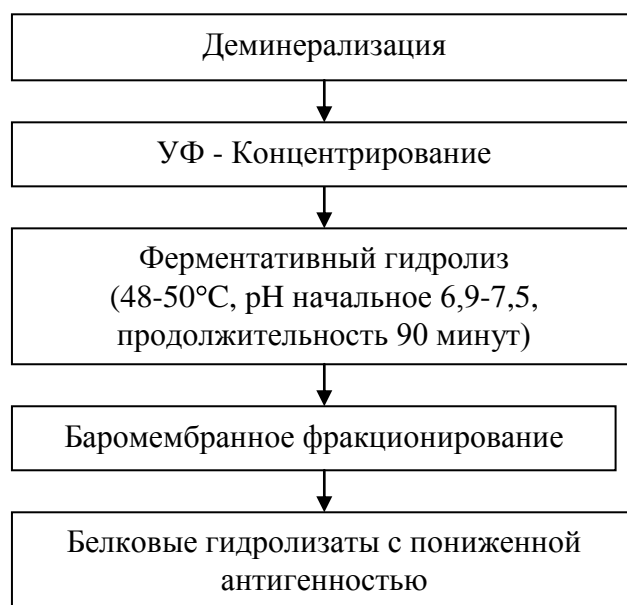


Рисунок 1 – Принципиальная схема направленного получения белковых гидролизатов с заданной остаточной антигенностью

Технология баромембранной фильтрации белковых гидролизатов молочной сыворотки является одним из направлений получения биологически активных ингредиентов. Высокое содержание низкомолекулярных олигопептидов в получаемых ингредиентах обуславливает их гипотензивное, антиоксидантное, иммуномодулирующее и цитопротекторное действие, что дает возможность построения широкой линейки функциональных продуктов питания на их основе, а использование заквасочных культур усиливает функциональность разрабатываемых пищевых продуктов.

При получении продукта с пониженной остаточной антигенностью и минимально возможным содержанием свободных аминокислот экспериментально определено и доказано *in vitro* и *in vivo*, что наиболее перспективно для гидролиза молочной сыворотки использовать биферментную композицию Alcalase и Protamex. На рисунке 2 показано оптимальное соотношение данных ферментных препаратов по отношению к массовой доле общего белка молочной сыворотки – 4,5 % Protamex и 0,5 % Alcalase.

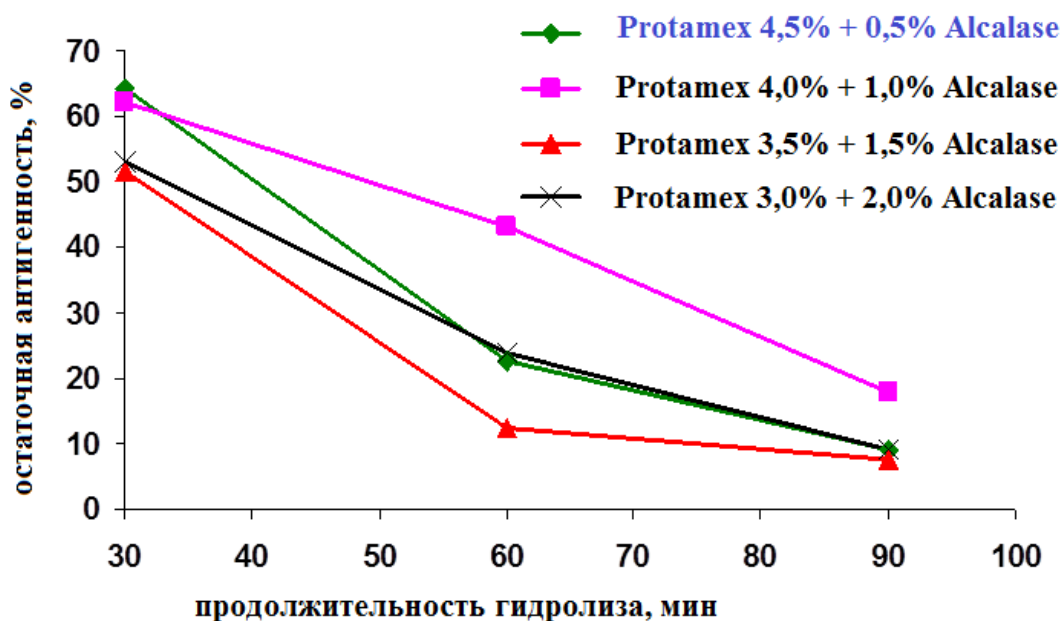


Рисунок 2 – Зависимость остаточной антигенности гидролизата УФ-концентрата молочной сыворотки ферментными препаратами Alcalase и Protamex от времени гидролиза

Полученный на базе этой композиции гидролизат со степенью гидролиза 13-17 % сочетает низкую остаточную антигенность по содержанию β -лактоглобулина с привлекательными органолептическими характеристиками.

Качественными преимуществами полученной композиции гидролизата с данной степенью гидролиза являются:

- низкая остаточная антигенность, благодаря чему гидролизаты в качестве белковых компонентов могут быть использованы при получении продуктов для профилактического питания детей и взрослых, предрасположенных к пищевой аллергии и непереносимости белков коровьего молока;

- высокая биологическая ценность, так как сбалансированное содержание незаменимых аминокислот в составе гидролизатов обеспечивает его максимально эффективное усвоение в организме и способность использоваться для построения собственных белков организма;

- отсутствие горького вкуса, благодаря чему привлекательные органолептические характеристики позволяют использовать полученные гидролизаты сывороточных белков в различных видах молочных и др. продуктов не ухудшая их вкус.

С добавлением гидролизата сывороточных белков были разработаны пять видов продуктов с пониженной аллергенностью:

- продукты кисломолочные для диетического профилактического питания ТУ 9222-512-00419785-13;

- напитки молочносодержащие пастеризованные для диетического профилактического питания ТУ 9226-513-00419785-13;

- мусс молочносодержащий для диетического профилактического питания ТУ 9226-001-02068315-13;

- продукты кисломолочные для диетического профилактического питания детей старше трех лет ТУ 9222-114-00419006-13;

- паста молочносодержащая для диетического профилактического питания детей старше трех лет ТУ 9222-113-00419006-13.

Были проведены клинические испытания данной группы продуктов. В исследование были включены пациенты в возрасте до 16 лет с легким проявлением пищевой аллергии в стадии ремиссии. Исходя из клинико-физиологической оценки эффективности были сделаны следующие **выводы**:

1. Ежедневное употребление в течение 14 дней данной группы продуктов у пациентов с пищевой аллергией не приводит к изменению уровней общего белка и циркулирующих IgG и IgE антител, специфичных к β -лактоглобулину в сыворотке крови, что указывает на низкие аллергенные свойства данного продукта

2. Применение данных продуктов у пациентов с легким проявлением пищевой аллергии оказывает положительное влияние на состояние и самочувствие пациентов

3. Клиническое наблюдение за пациентами не выявило побочных действий продукта ни в одном случае.

На основании проведенных клинических и доклинических исследований данных продуктов проведена их Государственная регистрация.

Техническая документация на разработанные продукты передана на основании лицензионного договора на ОАО Молочной комбинат «Воронежский» для промышленного производства.

Литература

1. Белая книга WAO по аллергии 2011–2012: резюме. // На русском языке под редакцией Р.И. Сепиашвили, Т.А. Славянской. – М: Медицина-Здоровье, 2011. – 12 с.

2. Харитонов В.Д., Будрик В.Г., Агаркова Е.Ю., Попов В.А., Королева О.В., Пономарев А.Н., Мельникова Е.И., Просеков А.Ю., Варламов В.П., Симоненко С.В. Некоторые аспекты создания молочных продуктов с пониженной аллергенностью // Материалы VII Московского Международного Конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» 19-22 марта 2013г. М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2013. С.33-34

3. Максимюк Н.Н., Марьяновская Ю.В. О преимуществах ферментативного способа получения белковых гидролизатов // Фундаментальные исследования: материалы конференции. – 2009. – № 1. – С. 34–35.

4. Курченко, В.П. Снижение аллергенных свойств белков молока. Технологические подходы [Текст] / В.П. Курченко, Т.Н. Головач, В.И. Круглик, В.Д. Харитонов, Е.Ю. Агаркова // Молочная промышленность. – 2012. – № 4. – С. 73 – 75.

5. Харитонов, В.Д. К вопросу о перспективных направлениях борьбы с аллергией [Текст] / В.Д. Харитонов, В.Г. Будрик, Е.Ю. Агаркова, С.Г. Ботина, К.А. Березкина, А.Г. Кручинин, А.Н. Пономарев, Е.И. Мельникова // Техника и технология пищевых производств. – Кемерово. – 2012. – № 4. – С. 3 – 7.

6. Королева, О.В. Функциональные свойства кисломолочных продуктов с использованием гидролизатов сывороточных белков [Текст]/ О.В. Королева, Е.Ю. Агаркова, С.Г. Ботина, И.В. Николаев, Н.В. Пономарева, Е.И. Мельникова, В.Д. Харитонов, А.Ю. Просеков, М.В. Крохмаль, А.Г. Кручинин, К.А. Березкина, И.В. Рожкова, Т.А. Раскошная, Е.А. Юрова, Н.А. Жижин // Молочная промышленность. – 2013. – № 11. – С. 52 – 55.

7. Ревякина, В.А. Особенности пищевой аллергии у детей на современном этапе [Текст] / В.А. Ревякина, Т.Б. Сенцова, Е.Д. Кувшинова, О.Ю. Моносова, А.М. Тимофеева // материалы XIV Всероссийского Конгресса диетологов и нутрициологов с международным участием «Алиментарно-зависимая патология: предиктивный подход». – 2012. – Т.2. прил. №1. – С.71.

*E.J. Agarkova, K.A. Berezkina, A.G. Kruchinin, V.G. Budrik,
V.D. Kharitonov, O.V. Koroleva, I.V. Nikolaev*

DEVELOPING PRODUCTS FOR DIETARY PREVENTIVE NUTRITION WITH REDUCED ANTIGENICITY

Summary

The main focus of this work is to conduct a biocatalytic conversion of whey proteins and products based on them with reduced allergenicity for dietary preventive nutrition. Based on the analysis of existing methods of obtaining hydrolysates (acid, alkaline and enzymatic), preference was given to enzymatic hydrolysis, with gentle flowing process parameters (pH, temperature), provide maximum nutritional value and to obtain a product with the desired depth of hydrolysis. In addition to reduced allergenicity protein hydrolysates have different biological effects, such as antihypertensive, antioxidant, immunomodulatory activity.