

## ISPITIVANJE KVALITETA PROTEINSKE KOMPONENTE HUMANIZOVANOG MLEKA PEPSIN-PANKREATIN TESTOM\*

M. CARIĆ, D. VELIČKOVIĆ<sup>a</sup>, E. RAJČAN, B. VUCELIĆ<sup>a</sup>, J. BOROTA<sup>b</sup>  
i M. JOJIĆ<sup>b</sup>

Tehnološki fakultet, Institut za tehnologiju mesa, mleka, ulja i masti i voća  
i povrća, Novi Sad

<sup>a</sup>Poljoprivredni fakultet, Institut za tehnologiju i biohemiju, Beograd

<sup>b</sup>Medicinski fakultet, Institut za biohemiju, Novi Sad

### Sažetak

*Kao alternativa humanom mleku, u slučajevima kada majka ne može da hrani dete sopstvenim mlekom, danas se u svetu koristi najčešće kravlje mleko čiji je sastav modifikovan da bi se približio sastavu humanog mleka.*

*Kravlje mleko ima 3,5 puta više proteina od humanog mleka; sem toga u sastavu proteina kravljeg mleka nalazi se 79% kazeina i 21% serum proteina, a u proteinima humanog mleka 35% kazeina i 65% serum proteina. Sastav serum proteina takođe nije identičan. U skladu sa ovim razlikuje se i amino-kiselinski sastav navedenih proteina i njihova biološka vrednost.*

*Cilj ovog rada bio je ispitivanje biološke aktivnosti modifikovanih proteina u smeru kazein → serum protein u proizvodnji »infant formula« pepsin-pankreatin testom. Ustanovljeno je utoliko veće povećanje aktivnosti ukoliko je sastav bliži proteinu humanog mleka.*

Kao alternativa humanom mleku, u slučajevima kada majka ne može da hrani dete sopstvenim, danas se u svetu koristi najčešće kravlje mleko čiji je sastav modifikovan u smislu približavanja sastavu humanog mleka. Zahvaljujući napretku nauke i tehnologije poslednjih godina postignuta je značajna sličnost humanom mleku u formulama za proizvodnju humanizovanog mleka. Do osnovnih postavki u ovom procesu se došlo na bazi komparativnog proučavanja sastava humanog i kravljeg mleka, uloge pojedinih konstituenata, i nutritivnih i imunoloških potreba bebe.

Posmatrajući prosečan sastav humanog i kravljeg mleka (tablica 1.) može se uočiti da su osnovne razlike u količini: laktoze, proteina, mineralnih materija i masti, a postoje i razlike u frakcionom sastavu proteina i strukturi masti. Na osnovu parametara prikazanih u tablici 1. proizlazi da se modifikacija kravljeg mleka u proizvodnji humanizovanog mleka sastoji iz: frakcionisanja proteina, parcijalnog frakcionisanja i podešavanja sastava mineralnih materija i modifikovanja masti, kao primarnih operacija. To znači da se određenim tehnološkim procesom kravlje mleko mora modifikovati u smislu: smanjenja koncentracije proteina i mineralnih materija, prvenstveno natrijuma, promene odnosa proteinskih frakcija u korist serum proteina i povećanja odnosa Ca:P sa cirka 1,2 na 2,2. Manje je komplikovano povećanje sadržaja ugljenih hidrata i masti. I pored relativno složenog procesa kome se kravlje mleko treba da

\* Primenba autora: Zadržan je naziv humanizovano mleko do usklađivanja naše terminologije sa zahtevom Svetske zdravstvene organizacije (»infant formula«).

podvrgne da bi se po sastavu i osobinama približilo humanom, ono je sirovina najbližnja humanom mleku. Humanizovana mleka proizvedena na bazi raznih drugih komponenata biljnog i animalnog porekla imaju, međutim, manju sličnost sa humanim mlekom i preporučuju se najčešće samo u slučajevima intolerancije kravljeg mleka («Milk free formula»).

**Tablica 1. Sastav humanog i kravljeg mleka**

Komponenta	Humano mleko	Kravlje mleko
Voda g/100 g	87,1	88,1
Protein g/100 g	0,9	3,3
Neproteinski N g/100 g	0,039	0,030
Mast g/100 g	5,3	3,8
Ugljeni hidrati g/100 g	6,6	4,7
Mineralne materije g/100 g	0,5	0,8
Energija KJ/100 g	280	273

Proces proizvodnje humanizovanog mleka na bazi kravljeg mleka se, zahvaljujući napretku nauke, poslednjih godina stalno usavršava. Najčešće se danas u svetu koristi sledeći postupak za dobijanje humanizovanog mleka: demineralizovanoj surutki se doda određena količina obranog mleka (da se postigne željeni odnos proteina), mast, laktoza, potrebni vitamini i mineralne materije. Posle izvršenih modifikacija tehnološki proces se ne razlikuje od proizvodnje punomasnog mleka u prahu, s tim što postoje posebni zahtevi za mikrobiološki kvalitet proizvoda i prah se najčešće instantizuje. Zbog niskog sadržaja linoleinske kiseline u mlečnoj masti, dodata mast može biti modifikovana (biljna ili interesterifikovana). U novije vreme se u proizvodnji humanizovanog mleka sve više koristi ultrafiltracija, metoda koja omogućava istovremeno regulisanje sadržaja proteina i mineralnih materija. I pored stalnog napretka, u oblasti tehnologije humanizovanih mleka ima još nedovoljno izraženih problema, koji će se verovatno u budućim istraživanjima rešiti: na pr. obezbeđenje imunoloških svojstava kakva postoje kod humanog mleka.

U našoj zemlji se još ne proizvode humanizovana mleka na bazi domaćih sirovina i po sopstvenom »know-how«. Da bi se pristupilo proizvodnji humanizovanog mleka potrebno je, pre svega, rešiti proteinski sastav ovog proizvoda. Kravlje mleko sadrži 3,5 puta više proteina od humanog mleka; sem toga u sastavu proteina kravljeg mleka nalazi se 79% kazeina i 21% serum proteina. Najzastupljeniji serum protein kravljeg mleka  $\beta$ -laktoalbumin ne nalazi se uopšte u humanom mleku, u kome ima relativno više  $\alpha$ -laktoalbumina. U skladu sa ovim razlikuje se i aminokiselinski sastav navedenih proteina i njihova nutritivna vrednost. Zbog toga se osnovna modifikacija proteina kravljeg mleka u proizvodnji humanizovanog mleka sastoji u menjanju proteinskog sastava u smeru kazein  $\rightarrow$  serum protein.

U ovom radu su proizvedene proteinske komponente sa sledećim odnosom kazein : serum protein = 35 : 65 (uzorak I) i 55 : 45 (uzorak II). Oba uzorka su, posle in vitro digestije pepsinom i pankreatinom podvrgnuta aminokiselinskoj analizi.

## Metodika

Pripremljeni uzorci proteina sastava kazein : serum proteini = 35 : 65 (I) i 55 : 45 (II) su enzimatski hidrolizovani po metodi A k e s o n i S t a h m a n n - a (1964.), sa sledećom modifikacijom: taloženje proteina posle enzimatske digestije izvršeno je dodatkom 1 g kristalne sulfosalicilne kiseline hidrolizatu. Nakon njenog rastvaranja, uzorci su ostavljeni na temperaturi hladnjaka 1 h. Formirani talog proteina je odvojen centrifugovanjem 30 min pri 18.000 g, a supernatant nanet na kolonu aminoanalizatora JLC-5AH JEOL, Japan. Aminokiselinska analiza je rađena po metodi Stein i Moore-a (1954.).

## Rezultati i diskusija

Rezultati aminokiselinskog sastava proteina kravljeg i humanog mleka dobijeni kiselom hidrolizom prikazani su u tablici 2. (P a u l i S o u t h g a t e,

**Tablica 2. Aminokiselinski sastav kravljeg i humanog mleka (mg AA/gN)**

Aminokiselina	Kravlje	Humano
ALA	240	245
ARG	250	230
ASP	530	535
CYS	60	120
GLU	1.440	1.075
GLY	140	150
HIS	190	150
ILE	350	320
LEU	640	580
LYS	510	430
MET	180	91
PHE	340	230
PRO	590	575
SER	370	255
THR	310	275
TRY	90	140
TYR	280	180
VAL	460	415

1978.; DHSS, 1977.). U navedenoj tablici se uočavaju neke bitne razlike u aminokiselinskom sastavu proteina kravljeg i humanog mleka. Znatno je veći odnos cistin: metionin kod humanog mleka i to je jedan od glavnih razloga da se u humanizovanom mleku mora pomeriti odnos serum protein : kazein, obzirom da je taj odnos u serum proteinima oko 10 puta veći nego u kazeinu. S druge strane, u kravljem mleku ima relativno više Ile, Leu, Lys, Phe i nekih drugih aminokiselina.

Da bi se dobio uvid u mogućnost iskorišćenja u organizmu modifikovanog proteina mleka izvršena je enzimatska hidroliza in vitro pepsinom i pankreatinom. Rezultati su prikazani u tablici 3.

**Tablica 3. Aminokiseline u enzimskom hidrolizatu (g/100 g proteina)**

Aminokiselina	Kravlje mleko*	Humanizovano mleko	
		I	II
LYS	3,833	6,165	6,219
HIS	0,333	0,277	0,251
ARG	1,916	2,410	2,953
ASP	0,167	0,287	0,228
THR	0,583	0,536	0,454
SER	1,167	0,837	0,997
GLU	0,667	1,013	0,946
PRO	—	u tragu	u tragu
GLY	0,333	0,264	0,227
ALA	0,667	0,637	0,695
CYS	—	—	—
VAL	0,999	1,145	1,339
MET	0,917	1,040	1,027
ILE	0,833	1,297	1,315
LEU	4,666	4,858	5,362
TYR	1,792	3,066	3,671
PHE	1,999	2,994	3,575

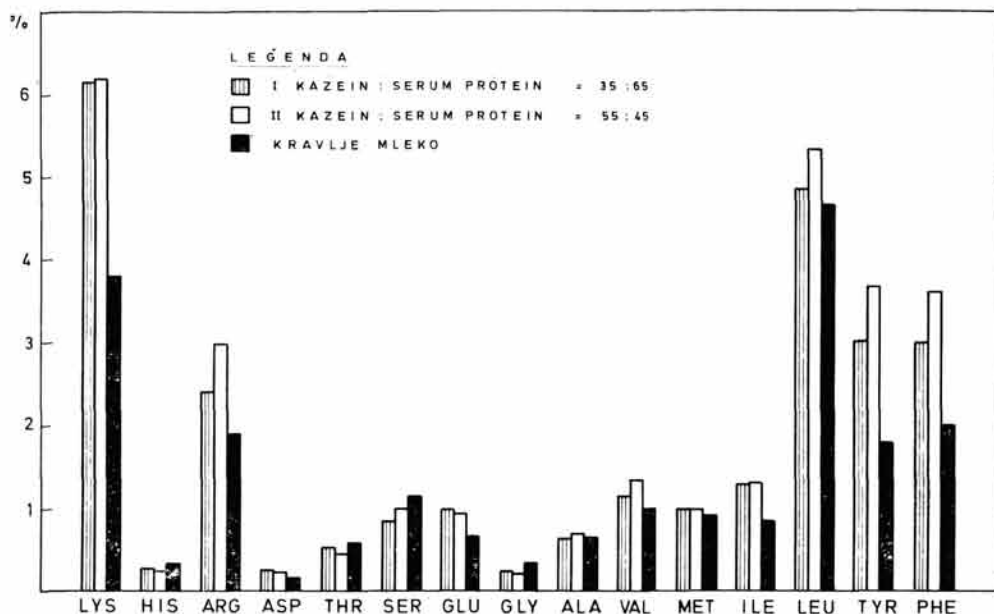
I Kazein: serum protein = 35:65

II Kazein: serum protein = 55:45

\* Prema Stojsavljeviću i sar. (1971.), *Milchwissenschaft*, 26

Dostupnost aminokiselina proteina hrane proteolitičkom delovanju digestivnih enzima može se direktno povezati sa njihovom usvojivošću i biološkom vrednošću. Tako su Akesson i Stahmann (1964.) procenjivali biološku vrednost proteina na osnovu procenta ukupnih aminokiselina koji je oslobođen enzimskom digestijom in vitro, a različite modifikacije ovakvih metoda korišćene su i za vrednovanje nutritivnih kvaliteta niza drugih proteina (jaja, belanceta, ribe, mleka, kazeina, trava, glutena, mešane hrane i dr.). Stojsavljević i saradnici (1971.) povezuju neposredno biološku vrednost proteina odnosno biološku aktivnost aminokiselina iz različitih vrsta jogurta sa njihovom svarljivošću enzimima in vitro. Posmatrano ovako, najveću biološku aktivnost kod oba ispitivana uzorka pokazao je lizin, zatim slede: leucin, tirozin i fenilalanin, dok je najmanja aktivnost utvrđena za prolin, asparaginsku kiselinu, histidin i glicin. Poređenje navedenih rezultata sa literaturnim podacima ispitivanja biološke aktivnosti aminokiselina proteina kravljeg mleka (Stojsavljević et al., 1971.), dobijenim istom metodom, ukazuju na jednaku tendenciju kretanja odnosa biološke aktivnosti pojedinih aminokiselina proteina kravljeg mleka i uzoraka modifikovanih proteina. Međutim, poređenjem literaturnih podataka sa rezultatima naših istraživanja, uočava se pri-

metno povećanje biološke aktivnosti aminokiselina s najnižom aktivnošću u slučaju približavanja proteinskog sastava sastavu proteina humanog mleka. Povećanje aktivnosti je utoliko veće, ukoliko je sastav bliži proteinu humanog mleka (uzorak I u odnosu na uzorak II, tablica 3. i grafikon 1.).



Graf. 1. Aminokiseline u enzimskom hidrolizatu (g/100 g proteina)

Iz svega navedenog proizlazi da se bolja biološka aktivnost proteina modifikovanog mleka postiže podešavanjem frakcionog odnosa kazein : serum proteini prema odnosu u humanom mleku.

#### Summary

*This study was carried out with the aim to determine biological activity of milk proteins, modified to substitute human milk proteins in infant formulae, by pepsin-pancreatin digest index.*

*The better biological activity was obtained by samples with higher similarity of modified milk proteins to human milk proteins.*

#### Literatura

- AKESON, R. W., STAHMANN, M. A. (1964.); **J. Nutr.**, 83., 3. Department of Health and Social Security (1977.): The Composition of Mature Human Milk, London, HMSO, 12.
- BAUER-STAEB G. and BOUVARD F.: **Lebensm-Wiss, u. Technol.** (Vol. 6 (1973.), No. 6
- FORD, J. E. and SALTER, D. N.; **Br. J. Nutr.** (1966.), 20 843.
- GAUTHNER, S. F., VACHON, C., JONES, J. D. and LAURENT, S.; **J. Nutr.** Vol. 112, No. 9, September 1982. The American Institute of Nutrition, 1982.

- GEHRT, A. J.; (Moormann Mfg. Co., 1000 N. 30th St., Quincy, I 11. 62301).
- HSU, H. W., LAVAK, D. L., SATTERLEE, L. D. and MILLER, G. A.: *J. of Fd. Sci.*, 1977., Institute of Food Technology, Vol. 42, No. 5, 1977.
- KARESE, I.; V-th International Symposium on Amino Acids, February 21—26, 1977. Budapest.
- McLEOD, M. N.; *J. Br. Grassld Soc.* (1972.) 27, 261.
- MOORE, S., STEIN, W. H. (1951.): *J. Biol. Chem.*, 192, 663.
- NAIR, B. M., OSTE, R., Asp Nils-Georg and Dahlqvist A.; *J. Agric. Food Chem*, Vol, 24, No. 2, 1976.
- PAUL, A. A. and SOUTHGATE, D. A. T. (1978.); Mc Cance and Widdowson's, *The Composition of Foods*, 4. Edn, London, HMSC.
- STEINHART, H.; Vth International Symposium on Amino Acids, February 21—26, 1977., Budapest.
- STOJSAVLJEVIĆ, T., RAŠIĆ, J., ČURČIĆ, R. (1971.); *Milchwissenschaft*, 26, 147.
- ROBBINS, R. C.; Verlag Hans Huber Bern Stuttgart Wien, Reprint 48, No. 1, 44—53 (1978).
- ROBBINS, R. C.; Verlag Hans Huber Bern Stuttgart Wien, Reprint 48, No. 3, 296—300 (1978.).

---

Savez mikrobioloških društava Jugoslavije — Društvo mikrobiologa Srbije organizira

### **JUGOSLAVENSKI SIMPOZIJUM O STERILIZACIJI I UZORKOVANJU I KONTROLI STERILNIH PROIZVODA**

Simpozij se održava 22., 23. i 24. novembra (studenog) 1984. godine u Novom Sadu — u prostorijama Novosadskog sajma.

Organizacioni odbor (18 članova) objavio je ove okvirne teme simpozija:

1. Uzorkovanje i kontrola sterilnih proizvoda,
2. Laboratorijski pokusi za kontrolu sterilizacije i sterilnosti gotovih proizvoda,
3. Normativna djelatnost u vezi sa sterilizacijom i dezinfekcijom.
4. Uređaji za sterilizaciju,
5. Sterilizacija prehrambenih proizvoda,
6. Sterilizacija farmaceutskih proizvoda,
7. Sterilizacija pribora za jednokratnu upotrebu,
8. Sterilizacija u zdravstvu,
9. Slobodne teme u vezi s problematikom sterilizacije.

Sažeci referata, podnijetih na simpoziju bit će objavljeni u Zborniku radova.

Kotizacija za simpozij iznosi 2.000, odnosno 2.500 din za učesnike koji se prijavljuju poslije 1. XI 1984. godine.