

Александр Геннадьевич Кручинин, канд. техн. наук, заведующий лабораторией молочных консервов  
 Рамиль Ришадович Вафин, д-р биол. наук, профессор РАН, старший научный сотрудник  
 Искра Александровна Радаева, д-р техн. наук, главный научный сотрудник  
 Хамид Халимович Гильманов, канд. биол. наук, научный сотрудник  
 Светлана Николаевна Туровская, старший научный сотрудник  
 Елена Евгеньевна Илларионова, научный сотрудник  
 ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», Москва  
 Алана Владиславовна Бигаева, научный сотрудник  
 ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М.Горбатова» РАН

УДК 637.12.04/07

DOI: 10.31515/2073-4018-2020-2-50-52

# К вопросу зависимости технологических свойств молока от его генотипической принадлежности по каппа-казеину

В статье рассмотрены некоторые аспекты взаимосвязи технологических свойств молока (сыропригодности и термоустойчивости) с генотипическими особенностями основного белка молока – казеина, а также его отдельных фракций. Наибольший интерес в данном направлении представляет изучение гетерогенности  $\kappa$ -казеина, обусловленной его генетическим полиморфизмом, а именно аллельной вариативностью гена CSN3, который на сегодняшний день достаточно подробно исследован и задействован в селекционном воспроизводстве молочных пород КРС. ДНК-диагностика генотипической изменчивости CSN3 на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) позволяет выявлять новые варианты для изучения аллельного разнообразия и связанных с ним технологических свойств молока-сырья и сухого молока.

**Ключевые слова:** казеин, сыропригодность, термоустойчивость, генотип, аллель, CSN3, ПЦР, ПДРФ.  
 Kruchinin A.G., Vafin R.R., Radaeva I.A., Gilmanov Kh.Kh., Turovskaya S.N., Illarionova E.E., Bigaeva A.V.  
**About the relation between milk technological properties and its kappa-casein genotype**

The article focuses on several aspects of interconnection between milk technological properties (like cheeseability and thermostability) and genotypic characteristics of casein (the main milk protein) and its particular fractions. The major interest in this area belongs to the study of  $\kappa$ -casein heterogeneity that depends on genetic polymorphism, specifically on gene CSN3 which is today thoroughly examined and is widely used in selective breeding of dairy cows. Basing on polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP), the analysis of CSN3 DNA genetic variability reveals new ways to study allelic variability and the related technological traits of raw and dry milk.

**Key words:** casein, cheeseability, thermostability, genotype, allele, CSN3, PCR, RFLP.

**Б**елки коровьего молока неодинаковы по строению, физико-химическим характеристикам и биологическим функциям. Основная их часть, имеющая наиболее значимую производственную ценность, представлена различными фракциями казеина. На использовании его биологических особенностей, физических и химических свойств базируется производство большинства молочных продуктов (сыров, кисломолочных продуктов, молочных консервов и пр.).

Массовая доля казеина в коровьем молоке варьирует от 2,1 до 2,8 %, что составляет порядка 80 % всех молочных белков. Однако его фракционный состав, обусловленный рядом гено- и паратипических факторов, как правило, неодинаков, и именно это объясняет существенные различия в технологических свойствах молоч-

ного сырья. Так, например, при исследовании сыропригодности  $\alpha$ - и  $\beta$ -казеиновых фракций, представляющих наибольший интерес, выявлено, что сгусток, образующийся при свертывании  $\alpha$ -казеина, имеет более прочную, но менее эластичную структуру, чем сгусток  $\beta$ -казеина [1].

В середине прошлого века, приняв за основу специфическую чувствительность компонентов казеина к воздействию раствора хлорида кальция 0,25 молярной концентрации при температуре 37 °С и pH 7, он был впервые фракционирован так, что в результате разделения  $\kappa$ -казеин остался в растворе, не будучи осажден ионами кальция, что вызвало интерес к дальнейшему всестороннему изучению его свойств.

В частности, рядом исследователей отмечена восприимчивость  $\kappa$ -казеина к влиянию сычужного фермента с частич-

ной потерей молекулярной массы и способности к стабилизации мицеллы при осаждении кальцием. Существует мнение, что именно эта белковая фракция наиболее подвержена гидролизу сычужным ферментом [1].

В то же время качество молочных продуктов, подвергающихся высокотемпературной обработке в процессе производства, в немалой степени зависит от термоустойчивости сырья, а именно от способности казеина оставаться в состоянии коллоидной суспензии при значительном тепловом воздействии. Причины, способные вызвать коагуляцию протеиновой фазы в процессе тепловой обработки, отчасти объяснимы ее поликомпонентным составом [2].

Именно поэтому потребности рынка на сегодняшний день заключаются не только в широко представленном ассортименте молочной продукции, но также и в сырьевых составляющих (в том числе сыром молоке) с заданными качественными показателями, такими, например, как фракционный состав белков, отрегулированный в соответствии с производственными требованиями по сыропригодности или, напротив, термостабильности. Это, в свою очередь, формирует необходимость в выявлении и использовании именно тех технологических свойств молока, которые востребованы в конкретном молочном кластере, обуславливая возникновение направлений в селекции для выявления генетических маркеров, связанных с каче-

ственными признаками молочной продуктивности. Наибольший интерес в этом направлении для исследователей представляют белковые фракции  $\alpha_{S1}$ -,  $\beta$ - и  $\kappa$ -казеина. Тестирование биоматериала и (или) молочного сырья по локусу гена  $\kappa$ -казеина (*CSN3*) является одним из широко используемых на сегодняшний день [1, 2].

Поскольку  $\kappa$ -казеин, как гликопротеид, содержит порядка 5 % углеводов, это ощутимо повышает растворимость указанной фракции в солевых растворах, в частности в растворах хлорида кальция. Выступая в качестве защитного коллоида всего казеинового комплекса,  $\kappa$ -казеин обуславливает его способность к растворению с образованием коллоидного раствора. Помимо этого  $\kappa$ -казеин занимает важное место в качестве источника биологически активных пептидов, которые образуются в результате его ферментативного расщепления и по механизму действия сходны с гормонами [3].

Исследования казеиновой фракции в составе молочного белка коровьего молока отдельно взятых лактирующих животных выявили не только отличия в общем содержании  $\kappa$ -казеина, но и гетерогенность этого компонента, обусловленную его генетическим полиморфизмом. Полиморфизм (от греческого *polymorphos* – многообразный) – одновременное присутствие у популяции животных двух или более вариаций признака в таком пропорциональном соотношении, когда частота встречаемости наиболее редкой из них не столько обуславливается протеканием мутационных процессов в исследуемом локусе, сколько проявляется как результат гетерозиготного состояния существующих аллелей. Понятие генетического (биохимического) полиморфизма используется при частоте встречаемости двух или нескольких аллелей локуса хромосомы более 0,01 в отдельной популяции. Генетический полиморфизм также объясняют существованием наследственно обусловленных форм различных генетических вариантов определенного белка [1].

Проведение оценки лактирующих животных по связанным с локусами количественных признаков генетическим маркерам имеет особое значение для поздно выявляемых фенотипических показателей, таких, например, как молочная продуктивность и качественные показатели получаемого молока. Поэтому отдельной областью маркерной селекции становится

ДНК-диагностика аллельного полиморфизма в геноме молочного скота, позволяющая контролировать и корректировать эти признаки [3].

На сегодняшний день достаточно подробно исследован и задействован в селекционном воспроизводстве полиморфизм гена *CSN3*, ДНК-анализ которого позволяет выявлять новые варианты изучения аллельного разнообразия и связанных с этим технологических свойств получаемого молока [4].

При проведении ПЦР-амплификации фрагмента гена *CSN3* используют определенные праймеры, подобранные так, чтобы амплифицируемый фрагмент ДНК содержал сайты узнавания, являющиеся специфичными для *A*- и *B*-аллельных вариантов гена *CSN3*. Суть исследования полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДРФ) заключается в расщеплении ферментом рестриктазой амплифицированных фрагментов ДНК, содержащих изучаемую точку мутации. В соответствии с длиной полученных рестриктных фрагментов определяют отсутствие или наличие данного аллеля в исследуемом генетическом материале [5].

Так, например, применение ПЦР-ПДРФ-анализа сделало возможным выявление полиморфизма *CSN3*-гена не только у лактирующих коров, молодняк, быков, но и в сыром молоке, а также продуктах его переработки, в том числе сухом молоке. Использование ПЦР-анализа позволило получать амплифицированные фрагменты в достаточных количествах для проведения подробных исследований [4].

Несмотря на то что в ходе многолетних научных изысканий выявлено более десяти аллельных вариантов гена *CSN3* у крупного рогатого скота, наиболее распространенными являются аллельные варианты *A* (*CSN3<sup>A</sup>*) и *B* (*CSN3<sup>B</sup>*), частота встречаемости которых ощутимо варьируется в зависимости от породы животных и их географического ареала. При этом установлено значительное превалирование частоты встречаемости аллельного варианта *A* над вариантом *B*. Аллельный полиморфизм гена *CSN3* предполагает три основных генотипа: *AA*, *AB* и *BB* (*CSN3<sup>AA</sup>*, *CSN3<sup>AB</sup>*, *CSN3<sup>BB</sup>*), характеризующиеся различной частотой встречаемости, а также влияющие на состав и свойства коровьего молока. Анализ многочисленных исследований ассоциации генотипов *CSN3* молочного скота разных отечествен-

ных и зарубежных пород обнаружил имеющиеся тенденции возрастания ежедневного удоя и убывания массовой доли белка в получаемом молоке от варианта *CSN3<sup>B</sup>* к варианту *CSN3<sup>A</sup>* [3, 6].

Большинство исследователей при оценке технологических свойств молока основными факторами, влияющими на содержание белка, как следствие, на термостойкость и сыропригодность, признали именно генотипические показатели по полиморфным молочным белкам. Поэтому первоочередными задачами производителей молочной продукции становится типирование животных и получаемого молока по локусу гена *CSN3* [7, 8].

На сегодняшний день уже существует практика совершенствования традиционной селекции крупного скота с применением ДНК-маркеров, в частности генотипирование по генам белков молока, а также применение методов геномной селекции и диагностики, показывающие определенные положительные результаты [7].

Ряд исследований подтвердил, что молоко с генотипом *CSN3<sup>BB</sup>* наиболее выражено проявляет высокие технологические качества в производстве сыров. Сыры, вырабатываемые из такого молока, содержат большее количество белка и несколько меньшее количество жира. Это может быть обусловлено неодинаковым уровнем гликозилирования и меньшими размерами казеиновых мицелл молока *CSN3<sup>BB</sup>*. Такое молоко в сравнении с *CSN3<sup>AA</sup>* имеет более высокое процентное содержание белка, интенсивнее коагулирует под действием сычужного фермента и позволяет получить сгусток лучшего качества, что объясняется выраженной способностью  $\kappa$ -казеина *CSN3<sup>BB</sup>* к стабилизации мицеллы казеина. Выявлено, что при выработке сыров и кисломолочных продуктов из молока с генотипом  $\kappa$ -казеина *CSN3<sup>BB</sup>* использование молочного белка повышается до 4–8 %. Характеристика полученных сгустков из молока с различными генотипами по  $\kappa$ -казеину обнаруживает стабильно высокое качество у сгустков из молока коров с генотипом *CSN3<sup>BB</sup>* в различные периоды лактации, выраженное как физико-химическими, так и органолептическими и структурными показателями [6, 9].

В то же время наличие *CSN3<sup>B</sup>*-аллеля  $\kappa$ -казеина способствует снижению термостойкости молока, тогда как *CSN3<sup>A</sup>*-аллель способен улучшить стабильность

белковой фракции при воздействии высоких температур [10, 11].

Однако необходимо отметить, что некоторые исследования показывают противоположные результаты, а именно: более высокую термостойчивость молока, содержащего  $CSN3^B$ -аллельный вариант к-казеина наряду с более коротким временем коагуляции и качеством получаемого сгустка в сравнении с  $CSN3^A$ -аллелем, отдавая тем самым предпочтение этому варианту в качестве сырья как для производства сыров, так и стерилизованных продуктов [7].

В настоящее время Европейской ассоциацией животноводов и рядом крупных производителей молочной отрасли предложено считать генотип  $CSN3^{BB}$  экономически важным селекционным и производственным критерием как для выведения пород крупного рогатого скота, так и оценки пригодности молочного сырья с точки зрения технологических свойств [7].

Именно поэтому для специалистов молочной отрасли, в особенности в сыроделии и молочном консервировании, немаловажное значение приобретают исследования по разработке методики, позволяющей с использованием ПЦР-ПДРФ анализа определять частоту встречаемости аллельных вариантов и генотипов к-казеина не только в выборках биоматериала от отдельных животных, но также в получаемом сборном молоке и молочном сырье, в том числе включая сухое молоко различных производителей.

#### Список литературы

1. Артемьев, А.М. Молочная продуктивность и технологические свойства молока коров черной и белой пород с различными генотипами kappa-казеина и сезонами отела: дис. ... канд. с.-х. наук / Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А.Тимирязева (РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева). – М., 2007. – 98 с.
2. Галетин, А.Г. Развитие научных основ и практические решения совершенствования технологий, повышения качества и расширения ассортимента молочных консервов: дис. ... д-ра техн. наук / Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М.Горбатова. – М., 2009. – 50 с.
3. Тюлькин, С.В. Молекулярно-генетическое тестирование крупного рогатого скота по генам белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний: дис. ... д-ра биол. наук / Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана». – Казань, 2019. – 349 с.
4. Tyulkin S.V. DNA markers – a prediction criterion for yield and quality of raw milk / S.V.Tyulkin [et al.] // News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, Series of Geology and Technical Sciences. 2019. Т. 6. № 538. С. 177–183.
5. Михайлова, Ю.А. Белкомолочность и технологические свойства молока коров с разными генотипами kappa-казеина: дис. ... канд. с.-х. наук / Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

- «Ирелавская государственная сельскохозяйственная академия». – Ирелавль, 2016. – 131 с.
6. Comin, A. Effects of composite  $\beta$ - and  $\kappa$ -casein genotypes on milk coagulation, quality, and yield traits in Italian Holstein cows / A.Comin [et al.] // Journal of dairy science. 2008. Т. 91. № 10. P. 4022–4027.
7. Валитов, Ф.Р. Эффективность использования современных методов маркерной селекции в молочном скотоводстве: дис. ... д-ра с.-х. наук / Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет». – Уфа, 2018. – 395 с.
8. Tyulkin, S.V. Technological properties of milk of cows with different genotypes of kappa-casein and beta-lactoglobulin / S.V.Tyulkin [et al.] // Foods and Raw Materials. 2018. Vol. 6. № 1. P. 154–162.
9. Бигаева, А.В. Сыропродуцты молока коров с разными генотипами kappa-казеина / А.В.Бигаева [и др.] // Сыроделие и маслоделие. 2019. № 6. С. 26–27.
10. Башаева, Д.В. Термостойчивость коровьего молока, ее генетическая и паратипическая изменчивость: дис. ... канд. с.-х. наук / Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана». – Казань, 2010. – 159 с.
11. Бигаева, А.В. Термостойчивость молока коров с разными генотипами kappa-казеина / А.В.Бигаева [и др.] // Пищевая промышленность. 2019. № 10. С. 59–61.

# Молочная ПРОМЫШЛЕННОСТЬ



# ВНИМАНИЕ! ПОДПИСКА



**ВСЁ МОЛОКЕ**  
СЫРЕ И МОРОЖЕНОМ

Почта России

Онлайн подписка <https://podpiska.pochta.ru>

В редакции

Тел./факс: (499)-264-03-44

E-mail: [info@moloprom.ru](mailto:info@moloprom.ru)

Каталог «Роспечать»

«Молочная промышленность» – индекс 70573

«Сыроделие и маслоделие» – индекс 47348

«Все о молоке, сыре и мороженом» – индекс 32961