

# **Bioaktiva komponenter i mjölk**

**- Stipendieresa, Australien och Nya Zeeland 2006 -  
Mejeritekniskt Forum**

Anna Oliw, Skånemejerier  
Marie Söderström, Skånemejerier

## Förord

Vi vill börja med att tacka Mejeritekniskt forum för att vi har fått möjligheten att åka på en stipendieresa för att lära oss mer om bioaktiva komponenter från mjölk. Vi åkte till Nya Zeeland och Australien november 2006 och hade elva möten med totalt ca trettio personer, där flertalet var forskare (professorer eller doktorer) inom detta område. Besöken genomfördes på universitet, institut och livsmedelsföretag bl.a. Massey University och Fonterra Co-operative Group på Nya Zeeland och Victoria University i Australien.

Malmö den 2 april 2007



---

Anna Oliw, Skånemejerier



---

Marie Söderström, Skånemejerier

## Sammanfattning

Mjök innehåller många olika bioaktiva komponenter såsom proteiner, glykoproteiner, peptider, lipider och oligosackarider.

De studerade bioaktiva peptiderna kommer från mjökproteiner. De kan frigöras genom olika sorters hydrolys, antingen i människokroppen eller under olika processteg. Peptider kan påverka hjärta och kärl, nervsystemet, mag-tarmkanalen och immunförsvaret.

Laktoferrin är det mest studerade glykoproteinet från mjök. En av dess främsta uppgifter som intakt protein är att transportera järn och som hydrolyserad peptid har den antimikrobiella samt immunreglerande egenskaper.

Oligosackariderna är korta kolhydratkedjor och finns i mycket begränsad mängd i komjök. Halten är däremot hög i kolostrum och i mjök från människa. Oligosackariderna har en betydande roll för både spädbarns och kalvars tarmfloraetablering.

Mjökfett innehåller många bioaktiva molekyler, där de vanligaste är: konjugerad linolensyra, sphingolipider, smörsyra och eterlipider. De har visats vara effektiva i att reglera immunförsvaret, minska serum-LDL-kolesterol, förhindra cancer och döda bakterier.

Kolostrum är en rik källa på bioaktiva komponenter, detsamma gäller mjök från känguru. Bioaktiva komponenter kan vara känsliga mot hydrolys både i positiv och negativ bemärkelse och det är därmed viktigt med förståelse för mekanismen. Forskningen på bioaktiva komponenter går framåt, men ännu krävs i många fall fler studier på människa.

## Innehållsförteckning

<b>1 INLEDNING</b> .....	<b>4</b>
1.1 BAKGRUND .....	4
1.2 SYFTE .....	4
1.3 DISPOSITION.....	4
1.4 AVGRÄNSNINGAR.....	4
<b>2 PROTEINRELATERADE KOMPONENTER</b> .....	<b>5</b>
2.1 PEPTIDER .....	5
2.2 GLYKOPROTEINER .....	13
<b>3 OLIGOSACKARIDER</b> .....	<b>15</b>
<b>4 LIPIDRELATERADE KOMPONENTER</b> .....	<b>17</b>
4.1 KONJUGERAD LINOLENSYRA.....	17
4.2 SPHINGOLIPIDER.....	18
4.3 SMÖRSYRA.....	19
4.4 ETERLIPIDER .....	19
<b>5 DISKUSSION</b> .....	<b>21</b>
<b>6 SLUTORD</b> .....	<b>23</b>
<b>7 REFERENSFÖRTECKNING</b> .....	<b>24</b>
<b>BILAGA 1</b> – MELBOURNE UNIVERSITY – HUBERT ROGINSKI.....	<b>26</b>
<b>BILAGA 2</b> – DEPARTMENT OF PRIMARY INDUSTRIES – PROF. HARSHARN GILL...29	
<b>BILAGA 3</b> – FOOD SCIENCE AUSTRALIA – LOUISE BENNETT.....	<b>31</b>
<b>BILAGA 4</b> – THE RIDDET CENTRE – PROF. HARJINDER SINGH.....	<b>33</b>
<b>BILAGA 5</b> – FONTERRA.....	<b>35</b>
<b>BILAGA 6</b> – VICTORIA UNIVERSITY – PROF. NAGENDRA SHAH.....	<b>37</b>
<b>BILAGA 7</b> – LEPPINGTON PASTORAL COMPANY DAIRY FARM.....	<b>38</b>

# 1 Inledning

## 1.1 Bakgrund

Mjölk är fullt av bioaktiva komponenter, där proteiner, glykoproteiner, peptider, lipider och oligosackarider är de mest kända. Därtill kommer grundläggande komponenter såsom vitaminer och mineraler. På senare tid har förståelsen för de enskilda komponenterna ökat. Forskningen går ständigt framåt och det har på senare tid tillverkats förädlade livsmedel innehållande bioaktiva komponenter från mjölk.

Mjölks främsta syfte är att ge nyfödda alla näringsämnen som behövs för tillväxt och utveckling. Utöver enbart näringsämnen innehåller mjölk bioaktiva komponenter som:

- stimulerar utvecklingen av mag-tarmkanalen och immunförsvaret
- ökar matsmältningsprocesserna och näringsupptaget
- främjar tillväxten av den goda tarmfloran

## 1.2 Syfte

Syftet med detta arbete är att öka kunskapen om bioaktiva komponenter i mjölk bland medlemmarna i Mejeritekniskt forum.

## 1.3 Disposition

Vi har valt att skriva denna rapport som en relativt sammanfattande text för att ge läsaren en bild av olika intressanta möjligheter med bioaktiva komponenter från mjölk. Rapporten baseras på information från ett urval artiklar, som vi blivit rekommenderade att läsa av de personer vi träffat under resan. Flera av de personer vi träffade gav oss intressanta artiklar. Rapporten är uppdelad i tre övergripande teoriavsnitt som behandlar proteinrelaterade komponenter, oligosackarider och lipidrelaterade komponenter. Därefter följer en diskussion där bl.a. våra reflektioner från studiebesöken under stipendieresan framkommer, och i bilagorna har information om de olika besöken sammanställts. Diskussionsdelen och bilagorna är därmed centrala delar av denna rapport.

## 1.4 Avgränsningar

Rapporten behandlar bioaktiva komponenter från komjölk men även lite kring mjölk från människa och mjölk från känguru behandlas övergripande i diskussionsdelen. Fokus har inte lagts på mjölkens vitaminer och mineraler, ej heller på kolostrum som är ett på många sätt högintressant livsmedel med avseende på bioaktiva komponenter.

Rapporten bör på intet sätt anses vara heltäckande.

## 2 Proteinrelaterade komponenter

Mjölksproteinerna ger den nyfödda essentiella aminosyror. De är också med i andra biologiska funktioner såsom mineral- och vitamintransport, immunförsvar och transport av prebiotika. Många av de biologiska aktiviteterna mjölksproteinerna för med sig orsakas inte av de intakta proteinerna i sig utan av dess nedbrytningsprodukter: bioaktiva peptidsekvenser krypterade/gömda i det nativa proteinet. Till exempel har glykoproteinet laktoferrin, ett vassleprotein, järnbindande egenskaper som intakt protein och antimikrobiella samt immunreglerande egenskaper som hydrolyserad peptid.

### 2.1 Peptider

Bioaktiva peptider har definierats som specifika proteinfragment med positiv inverkan på kroppens funktioner eller tillstånd. Idag anses mjölksproteiner vara den viktigaste källan till bioaktiva peptider. Ett stort antal bioaktiva peptider har identifierats i mjölksproteinhydrolysat och fermenterade mejeriprodukter. (Korhonen & Pihlanto, 2006)

Mjölksproteiner innehåller många bioaktiva peptider som är krypterade/gömda i de intakta proteinerna. Dessa kan frigöras på tre olika sätt:

- genom hydrolys med hjälp av matsmältningsenzym
- genom hydrolys med hjälp av protolytiska mikroorganismer
- genom hydrolys med hjälp av protolytiska enzym från mikroorganismer eller växter (Korhonen & Pihlanto, 2006)

Bioaktiva peptidsekvenser kan hittas i de flesta mjölksproteinerna, däribland alla typer av kasein,  $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin och laktoferrin. Det är inte ovanligt med regioner med överlappande peptidsekvenser, där de olika sekvenserna har olika bioaktiv effekt. Dessa regioner utgör så kallade strategiska zoner. Inom respektive strategisk zon styrs frisättningen av de rådande protolytiska förhållandena. Protolys genom matsmältning ger markant avvikande peptidsekvenser jämfört med protolys genom fermentation m.h.a. bakterier. Bioaktiva peptider kan variera i storlek mellan två och tjugofem aminosyraenheter. (Darragh, 2002; Korhonen & Pihlanto, 2006)

Många kända bioaktiva peptider har producerats med hjälp av matsmältningsenzym, vanligtvis pepsin och trypsin. Exempelvis framställs kalciumbindande fosfopeptider och blodtryckssänkande peptider (*eng.* ACE\*-inhibitory peptides) främst med hjälp av trypsin. (Korhonen & Pihlanto, 2006)

De industriellt använda starterkulturerna är vanligtvis starkt protolytiska. Exempelvis har *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delibuckii* ssp. *bulgaricus* och *Lactobacillus lactis* visats ha potential att frigöra bioaktiva peptider såsom blodtryckssänkande, antimikrobiella, antioxidativa och immunförsvarsstimulerande peptider. Emmentalerost innehåller till exempel starkt protolytiska stammar av *Lb. helveticus* som frigör blodtryckssänkande peptider. (Korhonen & Joutsjoki, 2006; Korhonen & Pihlanto, 2006)

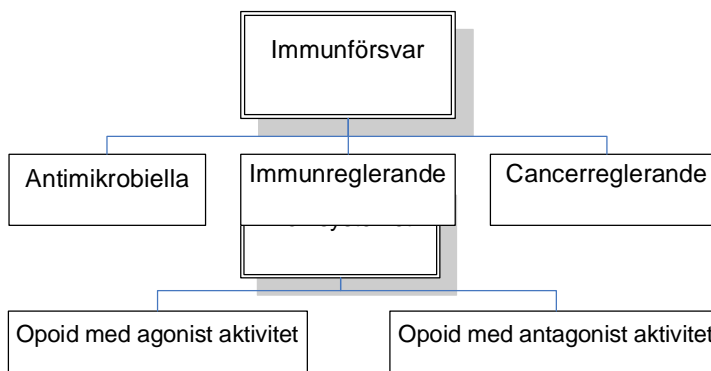
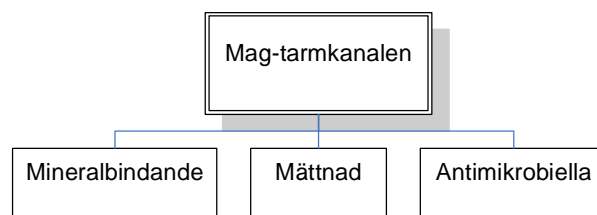
---

\* Angiotensin-converting enzyme

**Tabell 1** *Fermenterade mjölkprodukter med identifierade bioaktiva peptider.*  
(Korhonen & Pihlanto, 2006)

<b>Produkt</b>	<b>Bioaktivitet</b>	<b>Exempel på identifierade bioaktiva peptider</b>
<b>Osttyp</b>		
Parmigiano-Reggiano	Fosfopeptider, $\beta$ -casomorfin föregångare	$\beta$ -cn f(8-16), f(58-77) och $\alpha_{s2}$ -cn f(3-33)
Cheddar Italienska varianter: Mozarella, Crescenza, Italico och Gorgonzola	Flera fosfopeptider Blodtryckssänkande	$\alpha_{s1}$ - och $\beta$ -kaseinfragment $\beta$ -cn f(58-72)
Gouda	Blodtryckssänkande	$\alpha_{s1}$ -cn f(1-9) och $\beta$ -cn f(60-68)
Festivo	Blodtryckssänkande	$\alpha_{s1}$ -cn f(1-9), f(1-7) och f(1-6)
Emmental	Immunförsvarsstimulerande, flera fosfopeptider, antimikrobiell	$\alpha_{s1}$ - och $\beta$ -kaseinfragment
Manchego	Blodtryckssänkande	Får $\alpha_{s1}$ -, $\alpha_{s2}$ - och $\beta$ - kaseinfragment
Emmental	Blodtryckssänkande	Aktiva peptider (inte ännu identifierade)
<b>Fermenterad mjölk</b>		
Yoghurt	Svagt blodtryckssänkande	Aktiva peptider (inte ännu identifierade)
Dahi	Blodtryckssänkande	Ser-Lys-Val-Tyr-Pro

Peptidernas egenskaper kan delas in i olika grupper:



**Figur 1** *Fysiologiska funktioner hos bioaktiva komponenter* (Korhonen & Pihlanto, 2006).

## Hjärta och kärl

### Blodtryckssänkande

Bland bioaktiva peptider är det de blodtryckssänkande peptiderna som är mest studerade. Vissa peptider har blodtryckssänkande effekt genom att de hämmar enzymet Angiotensin Converting Enzyme, som är en huvudkomponent i ombildandet av angiotensin-I till angiotensin-II. De egenskaper som gör att ACE kan reglera blodtrycket är:

- Angiotensin-I-Converting-Enzyme - *ett exopeptidas* - katalyserar ombildningen av angiotensin-I till angiotensin-II - *angiotensin är blodtryckshöjande*
- ACE inaktiverar bradykinin - *bradykinin är blodtryckssänkande*

Inhibering av ACE, t.ex. med hjälp av ACE-inhiberande peptider, leder till minskad bildning av angiotensin-II - *angiotensin-II är mycket mer blodtryckshöjande än angiotensin-I* - och minskad inaktivering av bradykinin. Detta gör att intag av ACE-inhiberande peptider kan leda till sänkt blodtryck. (Darragh, 2002; Korhonen & Pihlanto, 2006; Shah, 2000)

Många ACE-inhiberande peptider har isolerats genom hydrolys av olika mjölkproteiner med hjälp av matsmältningsenzym. Det finns flera olika mekanismer peptider kan påverka blodtrycket. Utöver ACE-inhibering finns det peptider som inhiberar frisättningen av endothelin-1 från blodkärlens innervägg, stimulering av bradykinins aktivitet, ökning av blodkärlsväggens produktion av kväveoxid och ökning av kärlvidgande egenskaper genom att de binder till opiatreceptorer. (Korhonen & Pihlanto, 2006)

Bioaktiva peptider kan ha flera olika effekter, t.ex. har peptiden kasomorfin-7 från kasein både ACE-inhiberande effekt och opoidliknande effekt. (Narva, 2004)

### **Antioxidativa**

Studier har nyligen visat att antioxidativa peptider kan frisättas från kasein genom hydrolys med hjälp av matsmältningsenzym och under fermentation av mjölk med protolytiska laktobaciller. De flesta av de identifierade peptiderna kommer från  $\alpha_{s1}$ -kasein. De inhiberar fria radikaler, inhiberar enzymatisk och icke enzymatisk lipidoxidation. (Korhonen & Pihlanto, 2006)

### **Antitrombotiska**

Casoplatelin, en peptid från  $\kappa$ -kasein, kan tävla med  $\gamma$ -delen av det mänskliga fibrinogenet om blodplättarnas receptorer och därmed inhibera blodkoaguleringen. Det finns även andra peptider som har liknade förmåga, till exempel två små peptidfragment från  $\kappa$ -kasein:  $f(106-110)$  och  $f(103-111)$ . (Darragh, 2002; Shah, 2000)

Studier på spädbarn har visat att det går att detektera antitrombotiska peptider från  $\kappa$ -kasein i blodplasman efter intag av antingen komjölkbaserad spädbarnsformula eller modersmjölk från människa. Det är dock osäkert om antitrombotiska peptider bildas under matsmältningen hos vuxna människor och dessutom finns det inget som tyder på att dessa peptider skulle absorberas till blodet hos vuxna. (Darragh, 2002; Korhonen & Pihlanto, 2006)

### **Kolesterolsänkande**

Kolesterolsänkande peptider har hittats, till exempel Ile-Ile-Ala-Glu-Lys från  $\beta$ -lactoglobulin. Denna peptid har i *in vitro*-studier gett minskad kolesterolabsorption till Caco-2 celler och *in vivo*-studier på råttor har visat att denna peptid har kolesterolsänkande effekt (i studien intogs råttorna en peptidlösning oralt). Den kolesterolsänkande mekanismen är ännu inte förklarad. (Korhonen & Pihlanto, 2006)

### **Nervsystemet**

#### **Opoidagonist och opoidantagonist**

Opoidagonistpeptider binder till receptorer och stimulerar receptorernas aktivitet medan opoidantagonistpeptider binder till receptorer och blockerar receptorernas aktivitet så att de inte kan utöva sin funktion. Det finns opoidreceptorer i nerv-, endokrin- och immunsystemet, men även i mag-tarmkanalen hos däggdjur. De kan interagera med dess endogena ligander och med exogena opoider och opoidantagonister. (Korhonen & Pihlanto, 2006)

Opoidpeptider har visat morfinliknande egenskaper. Efter injektion av opoidpeptider till blodet har smärtstillande och lugnande effekt iakttagits på grund av deras effekt på nervsystemet.  $\alpha$ -Lactorphin har visats ha en svag opoideffekt på glatta muskler.  $\beta$ -Lactorphin har visats påverka glatta muskler till sammandragning. (Shah, 2000)

Det är troligt att opoidagonistpeptider och opoidantagonistpeptider bildas i mag-tarmkanalen då kasein hydrolyseras (Shah, 2000).

Opoidpeptidsekvenser har hittats i flera mjölproteiner och de har visat sig ha agonisteffekt på opoidreceptorer i kroppen. De flesta opoidpeptider i form av  $\beta$ -kasomorfiner kommer från  $\beta$ -kasein. Det finns också flera opoidpeptider i vassle (både från ko och från människa), de har dock generellt lägre opoidpotential än casomorfiner. (Darragh, 2002)

I djurmodellförsök har det kunnat demonstreras att intag av  $\beta$ -kasomorfiner påverkar metabolismen efter en måltid genom att hormoner som insulin och somatostatin ändrar tarmtransporthastigheten av aminosyror, elektrolyter och vatten samt förlänger transporttiden genom mag-tarmkanalen. Även en studie på friska människor har visat att en syntetisk  $\beta$ -kasomorfinliknande peptid kan förlänga transporttiden genom mag-tarmkanalen. (Darragh, 2002; Korhonen & Pihlanto, 2006)

En peptid från  $\alpha_{s1}$ -kasein, f(91-100), har visat ha lugnande egenskaper mot stress i både djurmodeller och studier på människa. Denna peptid har använts kommersiellt som en ingrediens i konfektyr och läskedrycker. (Korhonen & Pihlanto, 2006)

### **Mag-tarmkanalen**

#### **Mineralbindande**

Redan 1950 föreslog Mellander att kaseinfosopeptider, CPPs, har effekt på människa. Han menade att CPPs leder till ökad kalciumabsorption oberoende av vitamin D och att den ökade kalciumabsorptionen sker i den distala tunntarmen. (Narva, 2004)

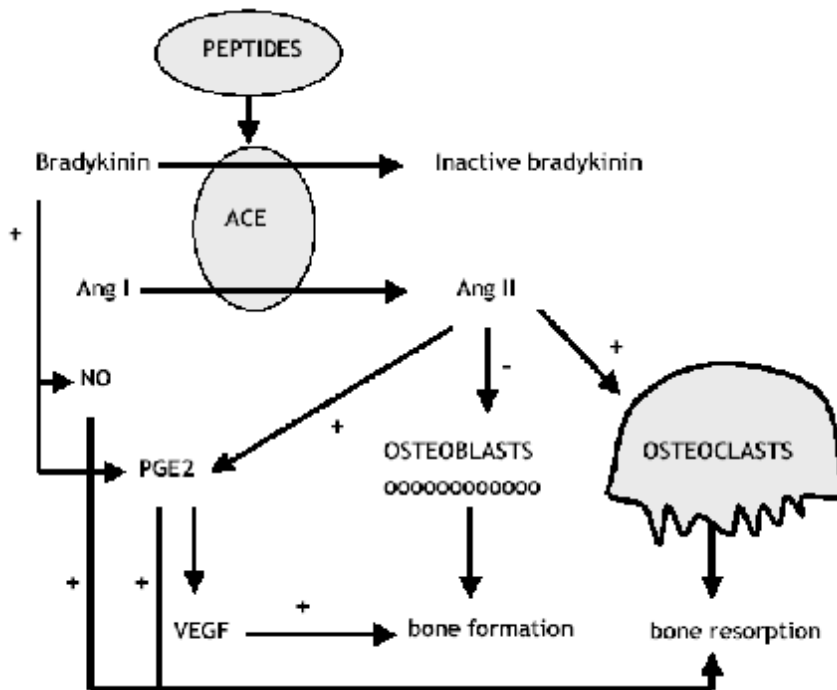
CPP är en stor grupp peptider som har fosforylgruppen gemensam. Fosfopeptider kan bildas från kasein med hjälp av ett protolytiskt enzym både under fermentation och i mag-tarmkanalen. CPP har i studier visats öka kalciumabsorptionen genom att det bildar ett hydrofobiskt komplex med kalcium och därmed förhindras bildningen av olösligt kalciumfosfat. *In vitro*-studier har kunnat visa att CPP påverkar kalciumabsorptionen genom att inhibera utfällningen av kalcium i tarmarna. Utöver kalcium har CPP från  $\beta$ -kasein en specifik affinitet för att binda järn. *In vivo*-studier har även visat att zinkabsorptionen ökas av CPP. (Darragh, 2002; Narva, 2004)

De enda bioaktiva peptider från mjölk som har studerats i syfte att påverka kalciummetabolismen är CPPs. Motstridiga resultat på kalciumabsorption har dock uppnåtts, bl.a. i studier på människa där 1-2 gram CPP adderades till olika livsmedel. Addition av CPP till en mjölklösning gav inte akut ökad kalciumabsorption jämfört med vanlig mjölk (mjölk utan extra tillsatt CPP). Det är troligt att tillsatta kaseinfosfopeptider inaktiveras av enzymer som finns i mag-tarmkanalen, medan nya kaseinfosfopeptider bildas från mjölken under digereringen i mag-tarmkanalen. (Narva, 2004)

Många peptiders biotillgänglighet bygger på att de inte digereras i mag-tarmkanalen och vissa peptider är bioaktiva i mag-tarmkanalen utan att de absorberas, vilket gäller bl.a. CPP. (Narva, 2004)

För att kunna demonstrera CPPs och andra peptiders potential att öka mineralbioaktiviteten och modulera benvävnadsstillväxt krävs dock fler studier på såväl cellkulturer som människa. (Korhonen & Pihlanto, 2006)

IPP och VPP peptider producerade under fermentation av *Lactobacillus helveticus* har ACE-inhiberande aktivitet både *in vivo* och *in vitro*. ACE inhibering kan påverka benvävnaden genom att angiotensin-II inhiberas eller genom att bradykinin aktiveras. (Narva, 2004)



**Figur 2** Bilden beskriver en hypotes: Bradykinin och ACE inhiberar benbildning och återabsorption till benvävnaden. (ACE= Angiotensin-Converting-Enzyme, Ang I = Angiotensin-I, Ang II = Angiotensin-II, NO = kväveoxid, PGE2 = prostaglandin E 2, VEGF = vascular endothelial growth factor (som är en tillväxtfaktor för de celler som täcker blodkärlens insida)) (Narva, 2004)

### Mättnad

Det har gjorts många studier de senaste tio åren på glukomakropeptider (GMP) och dess icke glykosylerade form kaseinmakropeptider (CMP) för att fastställa dess potentiella roll i att reglera tarmfunktioner. Det har rapporterats att CMP inhiberar magsekretion och gör magsäckens kontraktioner långsammare. Det har också föreslagits att CMP stimulerar frisättningen av cholecystokinin (CKK), vilket är ett hormon som är involverat i kontrollandet av livsmedelsintag och digering i tolvfingertarmen hos djur och hos människa. Det har visats att CMP kan trigga stimulation hos tarmreceptorer utan att absorberas. Intakt CMP har hittats i magen under digestion och dessutom har det observerats att GMP kan absorberas intakt och partiellt digererat till blodcirkulationen hos vuxna människor efter intag av mjölk eller yoghurt. (Korhonen & Pihlanto, 2006)

Kommersiella produkter innehållande GMP har lanserats på marknaden i syfte att reglera aptit och därmed vikt, dock måste den kliniska effekten fastställas. I en kort studie på vuxna människor visade CMP ingen effekt på livsmedelsintag eller på indikatorer på mättnad, dock har GMP en hälsosam roll i att modulera tarmfloran. Makropeptiden har visats gynna tillväxten av bifidobakterier genom sitt kolhydratinnehåll (främst salic syra). (Korhonen & Pihlanto, 2006)

### **Antimikrobiella**

Olika antimikrobiella peptider har identifierats från mjölkproteinhydrolysat. Laktoferrin (både från ko och från människa) är de mest studerade antimikrobiella peptiderna. Några få antimikrobiella peptider har identifierats från  $\alpha_{s1}$ -kasein och  $\alpha_{s2}$ -kasein. Peptiderna har antimikrobiell effekt på olika Gram-positiva och Gram-negativa bakterier, till exempel *Escherichia*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Salmonella* och *Staphylococcus*, jäst och trådliknande svamp. Laktoferrins antimikrobiella mekanism kan delvis förklaras genom deras rubbning av den normala membranpermeabiliteten. Det har föreslagits att de kan påverka tarmfloran när de bildas under digestionen av mjölk *in vivo*. (Korhonen & Pihlanto, 2006)

### **Immunsystemet**

#### **Immunförsvarsreglerande**

Det finns en stor mängd *in vitro* bevis på att peptider från mjölk kan modulera immunrespons. Dessa immunmodulerande peptider kan komma både från kasein och från vassleproteiner, dessutom kan peptidernas storlek variera kraftigt (allt från två till tjugofem aminosyraenheter). Människors periferala blodlymfocyter kan både stimuleras och hämmas av bioaktiva peptider från mjölk och detta kan vara en dosberoende effekt. T.ex. har både  $\beta$ -kasomorfin och  $\beta$ -kasokinin visat positiv effekt på tillväxten av lymfocyter, men även negativ effekt och detta beroende på peptidconcentration. (Darragh, 2002)

Mekanismerna kring hur de immunomodulerande peptiderna utövar sin effekt är inte helt kända, dock finns det resultat som tyder på att opioidpeptider ändrar immunresponsen hos immunceller, även ACE-inhiberande peptider kan utöva en immunmodulerande effekt genom att skydda bradykinin mot klyvning, som i sin tur verkar som en förmedlare av en akut inflammatorisk process som stimulerar makrofager, ökar lymfocytmigrationen och utsöndringen av immunförsvarsbudbärare. (Darragh, 2002)

#### **Cancerreglerande**

Peptider från mjölk kan vara involverade i cancercellers funktion.  $\beta$ -kasomorfin-7 och CPPs från  $\beta$ -kasein f(1-25) både håller tillbaka celldelningen och ökar celldöden av cancerceller i människo- och djurstudier, medan peptiden laktoferricin från laktoferrin kan inhibera metastas (spridningen av cancer från en del av kroppen till en annan) och motverkar att nya blodkärl bildas (vilket är viktigt för att tumörerna skall kunna växa). (Darragh, 2002)

## 2.2 Glykoproteiner

Proteiner som har någon del eller delar glykosylerade kallas glykoproteiner (ett *glykoprotein är förenklats sett ett protein med kolhydratrester, oligosackarider, bundet till sig*). Glykoproteiner är makromolekyler. Både intakta och nedbrutna glykoproteiner har visat sig ha fysiologisk effekt på människa i olika avseenden. Endast glykoproteinet laktoferrin kommer att behandlas.

### **Laktoferrin**

Laktoferrin är ett naturligt glykoprotein i människokroppen och finns bland annat i vissa leukocyter, mukosalt sekret samt exokrint sekret såsom saliv och tårar. Dess främsta egenskap är att binda och transportera järn. Proteinet består av två globulära enheter vilka båda kan binda en Fe<sup>3+</sup> jon. Då dess järnaffinitet är hög har proteinet förmågan att binda järn även vid låga pH. Något exempelvis transferrin inte klarar. (Brock, 2002)

Fritt laktoferrin förekommer i mycket små mängder i människokroppen och de betydande mängderna hittas istället i specifika granuler. Då dessa granuleras, vilket sker exempelvis vid inflammation, kan proteinet frisättas till blodet och halten höjs avsevärt. (Brock, 2002)

Uppskattningsvis finns det ungefär 100 mg laktoferrin per liter komjölk. Halten är högre i kolostrum, 1500 – 500 mg /L och ännu högre i humanmjölk, 2000 – 4000 mg/L. Laktoferrin anses vara mycket viktigt för nyföddas primära försvarssystem, vilket kan hänvisas till de höga värdena i humanmjölk. Laktoferrin från komjölk har en homologstruktur med laktoferrin från humanmjölk och de fysiologiska effekterna som har hittats för humanmjölk tros därför även gälla för komjölk (Magnusson, 1990).

Tidig forskning visade att laktoferrin var viktigt för järnabsorption och järnmetabolism. Det har nu visat sig att detta inte har någon större betydelse för friska individer, utan är främst vid inflammationer. (Brock, 2002)

Laktoferrin har kopplats ihop med ett flertal funktioner, bland annat; järnbindande, järnabsorberande, bakteriedödande samt som tillväxtfaktorer. Exempelvis har man i modeller sätt att Laktoferrin kan inhibera oxidation av askorbinsyra (Lindmark-Månsson, 2000). Andra glykoprotein i humanmjölk har även visats inhibera bindning av vissa typer av *E. Coli*. Exempelvis så är laktoferrin effektiv mot gram-positiva och gram-negativa bakterier, in *vitro*. Det krävs dock fler studier in *vivo*. (Shah, 2000)

Exempel på funktion av laktoferrin (Yamauchi, 2006):

- Antimikrobiella effekter
  - Sker via bindning till bakteriella endotoxinet LPS – vilket därmed hindrar dess förmedling av inflammatoriska signaler.
- Tillväxtstimulering av bifidobakterier
  - Studier har visat att bifidobakterier inte påverkas av laktoferrins antimikrobiella effekt utan istället gynnas (både *in vivo* och *in vitro*). Ökning av bifidobakterier minskar bildandet av cancerogener samt sänker blodets kolesterolhalt.
- Immunomodulering
  - Sker genom att laktoferrin binder till receptorer på tarmens lymfatiska celler och epitelceller. Dessa celler kan sedan reglera upp produktionen av cytokiner och kemokiner vilka stimulerar leukocyter (vita blodkroppar).
- Cancerprevention
- Medverkan vid antiinflammatoriska svar
  - Har en hämmande effekt på cytokinproduktionen och då främst TNF-alpha.

Laktoferrin kan renas och isoleras från vassle och skummjolk och där ungefär 3 % av vassleproteinerna består av laktoferrin. Laktoferrin är även relativt värmetåligt och förblir intakt vid 90°C i 5 minuter vid pH 4. (Hiroaki, 1991)

Det finns ett stort intresse för laktoferrin i världen och flera produkter finns ute på marknaden. Morinaga Milk Industry Co är ett japanskt företag som har egen forskning kring laktoferrin och har även tagit fram några produkter förädlade med laktoferrin, bl.a. yoghurt.

Laktoferrin anses vara en säker livsmedelstillsatts och toxilogiska studier *in vitro* har inte visat några effekter. En dos på 2000 mg / kg kroppsvikt av råttor varje dag under 13 veckor visade inte några negativa effekter. (Yamauchi K, 2000)

### 3 Oligosackarider

Oligosackarider är enligt definition kolhydrater med mellan tre till tio monosackarider. Dessa är kovalent bundna till varandra genom så kallade glykosyliska bindningar. Även disackarider, förutom laktos, brukar benämnas oligosackarider (Gopal, 2000).

Oligosackarider kan delas in i två klasser; neutrala och sura. Neutrala oligosackarider innehåller inga laddade enheter (monosackarider), medan de sura oligosackariderna innehåller en eller flera enheter av Sialic acid som är negativt laddad. (Gopal, 2000)

I människans mjölk är oligosackarider den tredje största komponenten och ungefär 80 stycken sura och neutrala oligosackarider har hittats. I jämförelse med mjölk från människa innehåller komjölk en betydligt mindre mängd oligosackarider. Hittills har tio stycken sura och 8 stycken neutrala oligosackarider identifierats. Koncentrationen av oligosackarider är som mest i kolostrum för att därefter minska till mycket låga mängder under utvecklingen mot normal mjölk. På grund av de låga koncentrationerna av oligosackarider är det mycket svårt att isolera och analysera dessa komponenter. (Gopal, 2000)

Även om koncentration av oligosackarider i komjölk är betydligt mindre än mjölk från människa så har molekylerna liknade struktur. Det är därför troligt att de egenskaper och hälsofördelar som har hittats för mänskliga oligosackarider från humanmjölk även gäller för oligosackarider från komjölk. Förhoppningsvis finns det möjligheter att använda dessa molekyler som funktionella ingredienser i livsmedel. (Gopal, 2000)

#### **Produktion**

På grund av den låga koncentrationen av oligosackarider i komjölk har dess möjligheter att användas som bioaktiv ingrediens begränsats inom hälsa och livsmedel. Det har därför varit nödvändigt att rikta forskning mot att utveckla metoder och processer för storskaleseparation och anrikning av komjölk. Det är dock även intressant att studera möjligheterna till expression av humana oligosackarider för tillsatts i icke-human mjölk. (Mehera, 2006)

Tre tillvägagångssätt finns idag för att producera och rena oligosackarider från mjölk (dessa är inte specifika för komjölk):

1. Produktion av mjölkoligosackarider genom fermentation med hjälp av genetiskt modifierande bakterier
2. Koncentrering/fraktionering genom membran filtrering
3. Expression av human mjölkoligosackarider genom transgena djur

(Mehera, 2006)

#### **Fysiologisk funktion**

Den fysiologiska funktionen av oligosackarider *in vivo* tros vara en låg osmotisk källa för energi. Detta är troligen sant beträffande de djur som har egna enzymer i tarmen vilka kan bryta ned oligosackarider till mono- och disackarider. Då människan saknar dessa enzymer tros den främsta fysiologiska funktionen istället vara skäl andra än nutrition, nämligen prebiotika. (Gopal, 2000)

Prebiotika definieras som "*icke-smältbar ingrediens som positivt påverkar värden genom selektiv stimulering av växt och/eller aktivitet av en eller ett begränsat antal*

*bakterier i tjocktarmen - och på detta sätt påverkar världens hälsa”* ([www.mejeriinfo.se](http://www.mejeriinfo.se), 2006).

Oligosackarider från människans mjölk passar in på denna definition då de varken bryts ned eller absorberas i tunntarmen. De kan därmed levereras intakta till tjocktarmen och utgöra som näring till tjocktarmens mikroflora. Genom att främst bifidobakterier ökar sin metaboliska aktivitet, sänks tarmens pH vilket inhiberar tillväxt av gram- negativa bakterier såsom *Shigella* och *E. Coli*. Oligosackarider är därigenom viktiga bioaktiva komponenter, inte enbart i egenskap av energi utan för att förhindra bakteriella och viruala angrepp i tarmen. Det finns även bevis för att oligosackarider och glycoconjugater från kolostrum är lösliga receptoranaloger till kolhydrater som finns på det yttersta cellagret av tarmytan. De kan där tävla med bakterier och virus för ställen att fästa sig vid på tarmen. Detta är särskilt viktigt vid bildandet av en hälsosam tarmflora för nyfödda djur. (Gopal, 2000)

Humanmjölkoligosackarider är inte enbart viktiga för tillväxt av nyttiga bakterier i tarmen utan även för stimulering av nervsystemet. Dessa oligosackarider är sura och liknade oligosackarider finns i komjölk. (Gopal, 2000)

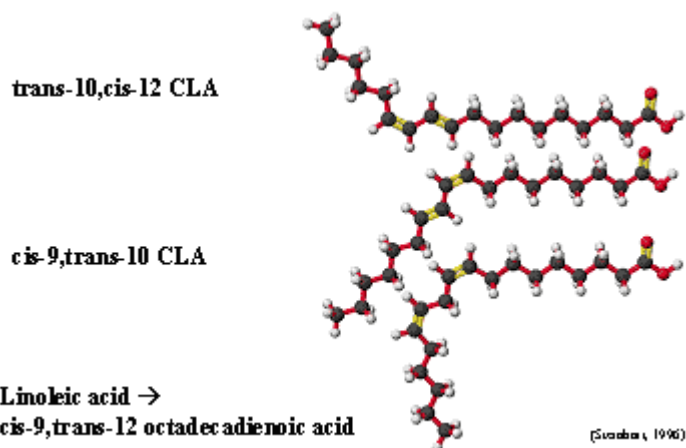
## 4 Lipidrelaterade komponenter

Fett från komjölk representerar en rik källa av bioaktiva molekyler, många med stor potential för ett kommersiellt förverkligande. Flera av de fetter som härrör från mjölk kan exempelvis modulera immunitet, minska serum-LDL-kolesterol, förhindrar cancer och fungera som ett effektiv bakteriedödande medel. Konjugerad linolensyra (CLA), sphingolipider, smörsyra, eterlipider, vitamin A och D är de mest kända bioaktiva komponenterna som kommer från mjölkfett. De hälsofördelarna som har förknippats med dessa bioaktiva komponenter från mjölkfett har främst studerats *in vitro*, de studier som finns *in vivo* är inte tillräckliga. Mer forskning är nödvändigt för att säkerställa dessa komponenters hälsopåverkande effekt på människa. (Akaln, 2006).

### 4.1 Konjugerad linolensyra

CLA är ett samlingsnamn för en eller flera isomerer av omättade linolensyror. CLA produceras naturligt av och är praktiskt taget unika för idisslare. Det finns 18 olika former av CLA i mjölk och alla formerna i mjölk har 18 kolatomer och två dubbelbindningar. De kan vrida sig (runt dubbelbindningarna) i olika strukturer och beroende på var dessa dubbelbindningar sitter, ger det dem unika kemiska egenskaper. (Pariza, 2001)

Mängden CLA i mjölk varierar beroende på ras, årstid, föda och brukar ligga från 2,5 till 18 mg per gram fett. Den vanligaste mängden ligger dock kring 4,5 till 5,5 mg (0,45 till 0,55 % fett). Forskningen har främst fokuserat på de två isomererna: 9, 11 CLA, eller *cis*-9, *trans*-11 och 10, 12 CLA, eller *trans*-10, *cis*-12 CLA. 9, 11 CLA är vanligast i mjölk och utgör ungefär mellan 75 % - 90 % av den totala mängden fett.



CLA produceras i våmmen genom enzymatisk nedbrytning av bakteriella biprodukter från bakterier. Enzymet, 9 desaturase, har central roll i process då den angriper den specifika transfettsyran (vaccenic syra) som alltså producerats av bakterier. För tillfället pågår forskning för att bättre förstå och kunna kontrollera den genetiska expressionen av enzymet som kan höja nivån av CLA i mjölk. En grupp har upptäckt att expressionen av genen kan varieras upp till 300 % mellan olika kor. Forskare

undersöker även hur faktorer på kons diet kan påverka produktionen av vaccenic acid. (Donagh, 1999; Gill, 2000).

Det finns flera olika fysiologiska effekter av CLA från mjölk, nedan visas några av dessa. (Ruhele, 2004)

- Anticancerogen
- Antiarterogen (minskad åderförkalkning)
- Förändrad kroppscomposition
  - o Minskad mängd fett
  - o Ökad mängd protein
  - o Ökad mängd vatten
- Övrigt (antidiabetes, immunomodulerande)

CLA påverkar utvecklingen av cancer under initieringen, utveckling och metastatiken. Mekanismen tros vara reduktion av cell tillväxt, A-vitaminmetabolism och prostaglandin metabolism (Akalin, 2006). I djurmodeller har det visats att en dos med mindre än 0,1 % CLA är tillräckligt för att ge en effekt mot cancer (Donagh, 1999). Det saknas dock tillräckligt med studier på människa för att kunna dra slutgiltiga slutsatser om dess effekt i människa.

Pariza m.fl. har visat att CLA förbättrar immunförsvaret i olika djurförsök. Det gäller exempelvis vita blodkroppar som bekämpar infektioner. Men även allergier hos marsvin kunde behandlas med CLA i kosten. Denna substans kunde även dämpa aktiviteten hos cyklooxygenas-2, ett enzym som startar många typer av inflammationer.

#### **4.2 Sphingolipider**

Sphingolipider finns i cellmembran, lipoproteiner (speciellt LDL) och andra lipidrika strukturer, som exempelvis hud (Gill, 2000). Både komplexa sphingolipider (sphingomyelins, cerebrosid, globosid, gangliosid eller sulfatid) och nedbrytningsprodukter av dessa (ceramid och sphingosin) är bioaktiva komponenter som påverkar cellreglering. Ceramid och Sphingosin förmedlar transmembrana signaler som har betydelse för att kontrollera celltillväxt och differentiering. De kan även styra apoptotiska signaler som genererar endogena cytotoxiska faktorer, som exempelvis interferon. Dessutom är sphingosin en inhibitor till protein kinase C, vilket är en viktig tillväxtfaktor för cancer. (Parodi, 1997)

Sphingomyelin har alltså en viktig roll för att påverka signaler i tumörutveckling så som celldelning och apoptos (programmerad celldöd) (Gill, 2000). Studier har visat att sphingomyelin från mjölk minskar incidenterna av tjocktarmscancer med 57 % i möss (Donagh, 1999).

Sphingolipider så som ceramid, ceramid-1-phosphat (S1P) har viktig effekt på utveckling, aktivering och reglering av immunsystem. I de flesta fall finns dessa molekyler i låga nivåer i normal mjölk, dock kan det vara högre halter i kolostrum.

Sphingomyelin påverkar flera aspekter av kolesteroltransport och metabolism. Det kan påverka åderförkalkning, antingen direkt eller genom påverkan av andra riskfaktorer såsom kolesterol. Experiment på råttor under både lång och kort tid

visade att sphingomyelin minskade mängden kolesterol i plasman, en riskfaktor för åderförkalkning. Lena Nyberg har också visat att sphingomyelin minskar kolesterolabsorptionen. (Akalin, 2006; Nyberg, 1998)

Gram-positiva bakterier är generellt känsliga för lipider och det har visats att C10 och C 12 fett syror samt nedbrytningsprodukter av sphingolipider är effektiva som antimikrobiellt medel. Försök på råttor visade att de som fick en diet med hög andel mjölkfett skyddade mot *Listeria monocytogenes* men inte mot *Salmonella enteritidis* (båda bakterierna hade getts oralt). Den ökade motståndskraften mot *Listeria* var relaterad till en högre mängd mättade fettsyror i magen. (Akalin, 2006)

Sphingolipider utgör mindre än 1 % av fettets från mjölk (Donagh, 1999), och beräknas utgöra en tredjedel av den totala mängden fosfolipider i mjölk (Gill, 2000). Precis som för oligosackarider finns det mer sphingolipider i kolostrum än i vanlig mjölk. Typiska processteg såsom homogenisering kan orsaka relokalisering av sphingomyelin från fettkulor (Gill, 2000). Detta beror på att då membranet går sönder frigörs fosfolipiderna till vattenfasen. Graden av relokalisering beror på vilken typ och hur kraftig bearbetningen har varit (Parodi, 1997). På detta sätt ökas biotillgängligheten av fosfolipider hos människa (Gill, 2000).

### 4.3 Smörsyra

Smörsyra är en kort fettsyra, bara fyra kolatomer lång och finns egentligen enbart i mejeriprodukter. Mängden smörsyra i mjölk uppgår till 7,5 – 13 mol / 100 mol total mängd fett. Förutom att den finns i små mängder direkt i mjölk bildas den även i nedre delen av tarmen under fermentering av fibrer och stärkelse. (Parodi, 1997)

Fastän smörsyran har en förhållandevis enkel kemisk struktur är den en viktig komponent för att motverka tillväxt av cancer (kan inhibera celltillväxt och inducerar differentiering av flera olika cancerceller). Den är dessutom antiinflammatorisk. Smörsyran är främst förknippad med att motverka tarmcancer. Dock visar studier att den även kan inducera apoptos i bröstcancer samt hindra metastasbildning i levern. Mekanismen bakom smörsyrans effekt mot cancer är inte helt förstådd. På molekylär nivå främjar den, indirekt, reparation av skadat DNA och stimulering av tumör suppressor gener (gener som transkriberar protein som motverkar cancer). Dessutom hindrar den expression av olika proto-oncogener (gener som stimulerar cancer). (Parodi, 1997)

Koncentrationen av smörsyra är oftast inte särskilt hög i plasman, trots detta är det viktigt att förstå att den fysiologiska effekten kan öka flera gånger genom synergier med andra anticancerogena komponenter från mjölkfett. Bland annat har en studie visat att mängden smörsyra kunde minskas med en tiondel då vitamin A gavs samtidigt, och ändå ha effekt mot leukemi. (Parodi, 1997)

### 4.4 Eterlipider

Mjölk innehåller små mängder eterlipider vilka har visats sig ha möjlighet att förhindra invasion och spridning av tumörer samt ha immunreglerande egenskaper. De hälsofördelarna som har förknippats med dessa bioaktiva komponenter från mjölkfett har främst studerats *in vitro*, de studier som finns *in vivo* är inte tillräckliga. Mer

forskning är nödvändigt för att säkerhetskälla dessa komponenters effekt för världens hälsa. (Parodi, 1997)

## 5 Diskussion

*Diskussionen behandlar våra synpunkter på teoriavsnittet samt reflektioner från studiebesöken.*

Rapporten behandlar bioaktiva komponenter från mjölk, som är ett mycket brett och komplext område. Det debatteras ofta huruvida mjölk är nyttigt eller ej. I denna rapport har vi gett några exempel på vilket sätt mjölk kan bidra till god hälsa och ökat välbefinnande. Många av de studier som görs på olika universitet och högskolor runt om i världen fokuserar på olika sjukdomstillstånd såsom cancer, hjärt- och kärlsjukdomar, infektionssjukdomar samt förbättrat immunförsvar. Gränsen mellan livsmedel och läkemedel minskar ständigt, då högt förädlade livsmedel, såsom livsmedel med bioaktiva komponenter från mjölk, kommer ut på marknaden. Detta borde leda till högre ställda krav på livsmedelsproducenternas produktion. Det skall bli intressant att se hur framtiden utvecklar sig gällande kunskap om bioaktiva komponenter inom sjukvården, livsmedelsindustrin och allmänheten.

Kolostrum innehåller hög andel bioaktiva komponenter, detta för att kalven under den första tiden skall få i sig alla nödvändiga beståndsdelar. Kolostrum är ett intressant livsmedel eftersom det naturligt innehåller hög andel av bl.a. laktoferrin och oligosackarider. För att inte förstöra de hälsosamma komponenterna i kolostrum bör det inte utsättas för värmebehandling. I Asien är produkter innehållande kolostrum och laktoferrin mycket populära. Fonterra satsar därför på laktoferrin och kolostrum, men också som tillskott i bröstmjölkersättning. Tatura Biologicals på Nya Zeeland är en stor producent av bovint laktoferrin. Även Nutri-health på Nya Zeeland säljer kapslar med laktoferrin.

Flera av de personer vi träffade under resan tog upp känguruns unika egenskap att kunna producera mjölk med olika sammansättning till ungar i olika utvecklingsstadier samtidigt. Kängurus får vanligtvis en unge per år. Ungen stannar kvar i pungen under de nio första månaderna, men fortsätter att dia upp till 17 månaders ålder. Kängurun kan samtidigt ha ungar från tre olika år i pungen, där en är fullt utvecklad och till största delen befinner sig utanför pungen, en som utvecklas i pungen och en som enbart är ett embryo och befinner sig i pungen hela tiden. Totalt har kängurun fyra mjölkkörtlar som förser ungarna i de olika stadierna med mjölk av olika komposition. Mycket forskning sker på mjölk från olika känguruarter, vilket har lett till intressanta resultat bl.a. har mycket effektiva antimikrobiella egenskaper funnits.

Olika processteg såsom värmebehandling och homogenisering kan i olika grad påverka biotillgängligheten hos de olika bioaktiva komponenterna. Korta peptider är inte lika känsliga för värmebehandling som större molekyler och kolostrum. Processpåverkan kan dock vara positiv, vilket gäller bl.a. sphingolipider som delvis frigörs till vattenfasen vid homogenisering. För att få den önskade effekten av en bioaktiv komponent är det viktigt att ta hänsyn till den påverkan som mag-tarmkanalen kan leda till. Denna påverkan kan vara både positiv och negativ. Den är positiv då den aktiva komponenten bildas i mag-tarmkanalen och negativ då den aktiva komponenten bryts ned i mag-tarmkanalen. Det är alltså viktigt med förståelse för mekanismen i fråga.

Tillsats av bioaktiva komponenter direkt i en produkt har visat sig vara svårt. När det gäller peptider är de oftast beska och t.ex. CLA kan ge en bitter smak. Därför har

forskningsarbete lett fram till inkapsling av olika bioaktiva komponenter. Frisättningen av dessa kan då styras så att komponenten når sitt mål intakt och i rätt dos. Detta diskuterade både Louise Bennett på Food Science Australia och Professor Harjinder Singh på The Riddet Center på Nya Zeeland.

Det har börjat komma forskningsresultat på fodrets inverkan på mjölkens sammansättning. Beroende på betraktarens preferenser kan denna nya metod att öka andelen bioaktiva komponenter i mjölk vara både mer naturlig eftersom inga tillsatser eller ytterligare behandlingar krävs, men det kan även anses onaturlig för kon. Professor Harsharn Gill i Melbourne Australien arbetar på Primary Industries med bl.a. forskning kring detta på anläggningens kor.

De komponenter som är mest studerade är ACE-inhiberande peptider, CPPs och immunomodulerande peptider. Dessa kan därför anses mest lämpliga för applikationer inom Functional Foods. Andra bioaktiva komponenter såsom opoider och fettsyror verkar ha stor potential, men kräver fler studier på människa.

En sista reflektion om framtidsmöjligheterna för applikationer med bioaktiva komponenter kan nämnas att The Riddet Center med Professor Harjinder Singh i spetsen arbetar med att ta fram en ny sorts dryckesautomat. Målet med denna dryckesautomat är att ge konsumenten en dryck med unikt anpassad komposition för konsumentens behov. T.ex. ansågs gravida kvinnor och äldre människor utgöra olika målgrupper. Maskinen skulle innehålla en mängd olika bioaktiva komponenter i pulverform. Dessa är tänkta att blandas vid köptillfället direkt i maskinen. Problem som de hittills stött på är lösligheten av dessa pulver. Detta är i hög grad gränslandet mellan läkemedel och livsmedel, och det skall bli spännande att se hur framtiden utvecklar sig.

## **6 Slutord**

Syftet med detta arbete var att öka kunskapen om bioaktiva komponenter i mjölk bland medlemmarna i Mejeritekniskt forum. Vi hoppas att vi har lyckats med detta genom denna rapport och att vi förmedlat informationen på ett tydligt sätt.

## 7 Referensförteckning

Akain S (2006). Functional properties of bioactive components of milk fat in metabolism. Pakistan journal of nutrition, 5 (3), ss 194-197.

Antila, P., Pihlanto-Leppälä, A., Paakkari, I. 2002. Bioactive peptides derived from whey proteins. In: Web-Edited by: Dr. Z. Zee Haque ([Editor@Functionality.Org](mailto:Editor@Functionality.Org)). Web-Compilations on Food System Functionality: Volume I [verkkojulkaisu]. Starkville, MS: [8 p.]. <http://www.msstate.edu/org/fsfa/Vol1/1-Antilla.htm> Last modified: 05/25/02

Brock JH. (2002) The physiology of lactoferrin. Biochemical Cell Biology 80(1):1-6.

Darragh, A. J. (2002): "Physiological Impact of Milk Protein-Encrypted Bioactive Peptides". Bulletin of the IDF 375. Sid. 25-30.

Gill, H (2000). Anticancer properties of bovine milk. British journal of nutrition, 84, Suppl 1., s 161 – 166.

Gopal, P (2000). Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrums. British journal of nutrition, 84, Suppl 1., s 69 – 74.

Hiroaki Abe , mfl. (1991). Heat Stability of Bovine Lactoferrin at Acidic pH. Journal of Dairy Science Vol. 74 No. 1 65-71

Kohronen, H. och Joutsjoki, V. (2006): "Bioactive peptides – new dimension to healthiness of fermented milks. 2<sup>nd</sup> IDF Dairy Science and technology week. International Dairy Federation. Sid. 37-38.

Korhonen, H. och Pihlanto, A. (2006): "Bioactive peptides: Production and functionality". International Dairy Journal. Elsevier. Sid. 945-960.

Kunz C, Rudloff S. (2002). Health benefits of milk-derived carbohydrates. Bulletin of the International Dairy Federation, 375, 72-79.

Lindmark-Månsson, H (2000). Antioxidative factors in milk. British journal of nutrition, 84, Suppl 1., s 103 - 110.

Magnuson JS, Henry JF, Yip TT, Hutchens TW (1990). Structural homology of human, bovine, and porcine milk lactoferrins: evidence for shared antigenic determinants. Pediatric Research . 28(2):176-81.

Mc Donagh, D (1999). Milk and dairy products for better human health. Proceedings of the Natural Dairy Conference, November 1999, ss 51 – 55.

Mehra R, Kelly P (2006). Review: Milk oligosaccharides: Structural and technological aspects. International Dairy Association, 16:11, Sid.1334-1340

Narva, M. (2004): "Effects of Lactobacillus helveticus fermented milk and milk-derived bioactive peptides (CPP, IPP and VPP) on calcium and bone metabolism" Doctoral Thesis, Institute of Biomedicine, Pharmacology, University of Helsinki, Finland.

Nyberg, L. (1998): "Digestion and Absorption of Spingomyelin from Milk" Doctoral thesis, Department of Internal Medicine, University Hospital of Lund, Sweden.

Pariza, M. W., Y. Park, and M. E. Cook. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. Prog. Lipid Res. 40:283–298 (2001).

Parodi, P (1997). Cows' Milk Fat Components as Potential Anticarcinogenic Agents. The Journal of Nutrition Vol. 127 No. 6, ss 1055-1060.

Pihlanto-Leppälä, A., Antila, P., Paakkari, I., Korhonen, H.J.T. 2002. Biologically active peptides derived from milk proteins. In: Web-Edited by: Dr. Z. Zee Hague (Editor@Functionality.Org). Web-Compilations on Food System Functionality: Volume 1 [verkkajulkaisu]. Starkville, MS: [15 p.].  
<http://www.msstate.edu/org/fsfa/Vol1/2-Pihlanto.htm> Last modified: 05/25/02

Ruehle, R (2004). The use of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy nutrition. AFMA Forum 2004, Papers.

Shah, N (2000). Effects of milk-derived bioactives: an overview. British Journal of Nutrition, 84, Suppl. 1, s 3- 10.

Yamauchi K, Wakabayashi H, Shin K, Takase M. (2006) Bovine lactoferrin: benefits and mechanism of action against infections. Biochem Cell Biol. Jun;84(3):291-6. Review.

Yamauchi K, Toida T, Nishimura S, mfl. (2000) 13-Week oral repeated administration toxicity study of bovine lactoferrin in rats. Food Chem Toxicol. Jun;38(6):503-12.

:

## Bilaga 1.

### Melbourne University

Melbourne University bildades 1859 och är ett statligt universitet med fem campus omkring Melbourne. De har en framgångsrik forskning kring livsmedel och då speciellt mjölk.

Vi besökte Hubert Roginski på fakulteten Livsmedelskemi och Biokemi som är placerad i Werribe, ungefär 40 minuter med bil från centrala Melbourne. Deras huvudsyfte är att utbilda studenter och de har en högskoleingenjörsutbildning inom livsmedelsteknik. De samarbetar mycket med livsmedelsindustrin i Australien.

De har haft ett mejeri på universitetet där de har haft möjlighet att producera mejeriprodukter i studiesyfte samtidigt som de fått en inkomst för detta. Exempel på utrustning som de hade var exempelvis en stor pilotanläggning där det gick att göra de flesta mejeriprodukter samt en förpackningsmaskin. Denna pilotanläggning var till och med godkänd av Australiens livsmedelsverk vilket innebar att studenterna hade tillstånd att sälja de produkter de producerade.

### Hubert Roginski



**Principal Lecturer** (Food Chemistry/Biochemistry)

#### Forskning:

- § Bioaktiva komponenter i mjölk
- § Livsmedelskvalitet och biokemi
- § Fermenterbara mjölkprodukter

Hubert Roginski fokuserar sin forskning på främst bioaktiva peptider och proteiner i mjölk som har antimikrobiell- och antiviralaktivitet. Hans huvudintresse är kemisk modifikation av proteiner och peptider så att de starkare kan binda till bakteriernas cellvägg och därmed eliminera dem. Ett exempel på modifiering är att ersätta en negativ hydroxylgrupp med positiv aminogrupp. På detta sätt ökas pI från 5 till 9, vilket innebär att proteinet binder starkare till cellväggen. Amidering av laktoferrin höjer avdödningen av bakterier med upp till fem log-enheter. Han menar att detta i framtiden kan vara ett bra alternativ till penicillin då bl.a. det finns problem med penicillinresistens hos *Stafylococcus aureus*. Penicillinresistens förekommer p.g.a. att vissa bakterier kan hydrolysera

antibiotika och bakterier har även andra sätt att modifiera förutsättningarna för att penicillinet inte längre skall ha verkan.

Hubert pratade en del om antiviralaktivitet hos proteiner och peptider från mjölk. Det har genom *in vitro*-studier visats att vissa proteiner hindrar virusinfektioner. Laktoferrin är det protein som studerats mest omfattande när det gäller antiviraleffekt. Laktoferrin från komjölk har högre antiviraleffektivitet än laktoferrin från humanmjölk. Laktoferrins möjlighet att hindra virusinfektioner kan främst förklaras av att laktoferrin adsorberas till receptorer hos värdcellens yta eller att det binds till viruspartiklar och på så sätt hindrar viruspartiklarna att angripa cellen. Peptider härstammande från laktoferrin har viss antiviraleffekt, dock har intakt laktoferrin visats ha högst effekt. Även andra proteiner och peptider från mjölk, t.ex. laktadherin och glykomakropeptider, har visats kunna hindra vissa virusinfektioner. Kemisk modifikation av mjölkproteiner i syfte att ändra proteinernas laddning har visats ge ökad antiviraleffekt mot vissa virusinfektioner.

Fakulteten Livsmedelskemi och Biokemi på Melbourne University har inte möjlighet att genomföra djurstudier. Hubert är dock stolt över att han och hans team har lyckats att jobba med virus i cellab. Det kräver nämligen extrem hygien.

Hubert Roginski är även intresserad av mjölk kvalitet, och då exempelvis hur årstidsvariationer kan påverka mjölkens komposition och kvalitet. Vidare var han även intresserad av mikrobiologi och studerade hur frysning påverkade överlevnad av *Lactococcus*.

#### **Några publikationer:**

Pan, Y., Lee, A., Wan, J., Coventry, M.J., Michalski, W.P., Shiell, B., Roginski, H. (2006): Antiviral properties of milk proteins and peptides. *International Dairy Journal* 16, 1252-1261.

Holt, C. and Roginski, H. (2001): Milk Proteins: Biological and Food Aspects of Structure and Function. In Sikorski, Z.E. (ed.) *Chemical and Functional Properties of Food Proteins*. Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster, Penn., pp. 271-334.

Rouch, D.A., Roupas, P. and Roginski, H. (2006): True protein value of milk and dairy products. *Australian Journal of Dairy Technology* 61 (1) 37-41.

McCann, K.B., Shiell, B.J., Michalski, W.P., Lee, A., Wan, J., Roginski, H. and M.J. Coventry (2006): Isolation and characterisation of a novel antibacterial peptide from bovine  $\alpha$ 1-casein. *International Dairy Journal* 16 (2) 316–323.

Pan, Y., Wan, J., Roginski, H., Lee, A., Shiell, B., Michalski, W.P. and Coventry, M.J. (2005): Effect of chemical modification on anti-microbial and anti-viral properties of milk proteins. *Australian Journal of Dairy Technology* 60 (2) 149-151.



Wan, J., Mawson, R., Ashokkumar, M., Ronacher, K., Coventry, M.J., Roginski, H. and Versteeg, C. (2005): Emerging processing technologies for functional foods. *Australian Journal of Dairy Technology* 60 (2)167-169.

McCann K.B., Shiell, B.J., Michalski, W.P., Lee, A., Wan, J., Roginski, H. and Coventry, M.J. (2005): Isolation and characterisation of antibacterial peptides derived from the f(164-207) region of bovine  $\alpha$  s2-casein. *International Dairy Journal* 15 (2) 133-143.

## Bilaga 2.

### Department of Primary Industries

Department of Primary Industries (DPI) bildades år 2002 efter en sammanslagning av flera departement inom områdena naturtillgångar och miljö i delstaten Victoria, Australien. Departementet främjar hållbar utveckling av grundindustri som skall vara till nytta för hela delstaten Victoria. Det är en av tio departement inom Victorias regeringsdepartement. DPI rapporterar till jordbruks- och energiministerrådet. DPI har samarbete som utgångspunkt för att påverka och förbättra industrin samt försöker att uppmuntra användandet av ny teknik och nya metoder. De gör detta genom att använda sin kompetens inom forskning och teknik.

Det arbetar över 2500 personer på DPI och de finns på över 80 platser i delstaten Victoria. Av dessa är ungefär 100 stycken forskare vilka arbetar nära med doktorander.

Vi besökte Harsharn Gill på avdelningen Animal Production Sciences som är specialiserad inom livsmedel, nutrition och hälsa. De fokuserar sin forskning på tre områden:

- § Livsmedelskvalitet
- § Livsmedel, näringslära och hälsa
- § Djurproduktivitet och -produktionseffektivitet

### Professor Harsharn Gill



Professor Gill har över 20 års erfarenhet av forskning och utveckling inom livsmedel och hälsa. Några av hans intressen är livsmedels roll för människors hälsa, bioaktiva komponenter och probiotika i livsmedel (speciellt som gynnar hälsa för tarm och immunsystem), nutritionsgenomik och livsmedelssäkerhet. Innan Gill började arbeta på DPI var han professor på Massey University, Nya Zeeland.

DPI har tillsammans med Australiens största mejeriföretag Murray Goulburn använt genomik och proteomik för att isolera och koncentrera bioaktiva peptider från mjölk. Två bioaktiva peptider från komjölk har hittats och de hoppas att de kan användas för behandling mot inflammatorisk vävnad och IBS. Peptiderna frigjordes av mjölksyrabakterier. *In vitro*, visades det att renad cellväggsprotein av *Lactococcus lactis* kunde frisätta oligopeptider från  $\beta$ - och  $\alpha$ -kasein. Ytterligare nedbrytning av dessa peptider genom endopeptidas och exopeptidas av mjölksyra bakterier ledde till frigörelse av bioaktiva komponenter i

fermenterade produkter. Dessa bioaktiva peptider tros absorberas genom matsmältningskanalen och transporteras till kringliggande organ.

Andra exempel på bioaktiva komponenter i mjölk som de undersöker;

- § Kolhydrater – oligosackarider: Antimikrobiellt
- § Lipider – sphingolipider, glycolipids, CLA: Immunomodulerande och antimikrobiellt
- § Vassleprotein: Anticancerogent, immunomodulerande, ACE- hämmare

Kommersiella produkter:

- § Omega-3 från fisk (genom inkapsling) – har visat att starka antioxidanter minskar lukt av fisk.
- § Utvecklat en process att extrahera  $\alpha$ -globulin från blod av får. Används inom medicin.

Gill föredrar att använda peptider som bildas i fermenterade produkter eller att ge korna foder vilket gör att korna naturligt kan producera peptider i mjölken, istället för att till slutprodukten tillsätta bioaktiva peptider.

### Urval av några publikationer:

Gill H.S. (2003). Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 17, 755-773.

Low, P, Rutherford K.J., Gill, H.S. and Cross M.L. (2003). Effect of dietary whey protein concentrate on primary and secondary antibody responses in immunised BALB/c mice. *International Immunopharmacology*, 3, 393-401.

Gill, H.S. (2003). Dairy Products and the immune function in the elderly. In: *Functional Dairy products* (Ed. Mattila-Sandholm, T. and Saarela, M.), CRC Press LLC, Boca raton, USA, pp. 132-158.

Calder, P., Fields, C. and Gill, H.S. (Editors). *Nutrition and Immune Function*. CABI Publishing, Wallingford, UK, 2002.

Gill, H.S., Rutherford, K.J., Gopal, P. and Cross, M.L. (2001). Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 833-839.

Gill H.S. , Shu, Q, Lin, H, Rutherford, K, and Cross, M.L. (2001). Protection against translocating *Salmonella typhimurium* infection in mice by feeding the immunoenhancing probiotic *Lactobacillus rhamnosus* starin HN001. *Medical Microbiology and Immunology*, 68, 190, 97-104.

Gill, H.S., Shu, Q. and Leng, R. (2000). Immunisation with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. *Vaccine*, 18, 2541-2548.



## Bilaga 3.

### Food Science Australia

Food Science Australia är Australiens ledande organisation som fokuserar på forskning inom livsmedel, hälsa och näring. Det är ett joint venture mellan CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation) och Viktorias offentliga sektor. De fokuserar på att dra nytta av forskning och hitta praktiska användningsområden inom livsmedel för industrin i Australien. Genom deras forskning skall konsumenters hälsa och välmående i första hand gynnas.

Inom mjölk fokuserar FSA främst på separationsteknik och då endast separation och rening av vassleproteiner. De screenar proteiner och peptider (från vassle) som kan vara användbara inom områdena; fetma, hjärt- och kärlsjukdomar, immunsystem, tarmcancer och Ahlzeimers. De har även stort fokus på inkapsling med antingen kasein eller stärkelse som material. Detta är ett sätt att dölja peptiders bittra smak, säkerställa att peptiden kommer dit den skall i kroppen utan att den bryts ned innan.

### Louise Bennett

Louise Bennett arbetar på FSA som forskningsledare för en grupp som arbetar med bioaktiva peptider. Hon har gjort mycket forskning kring exempelvis blodtryckssänkande peptider från vassle. Louise pratade mycket om en studie där peptider från mjölk, växt och ägg jämfördes med avseende på blodtryckssänkande effekt. Utvärderingen av de valda peptiderna från mjölk och växt indikerade att dessa gav jämförbara eller bättre bioaktivitet *in vitro* än kommersiella blodtryckssänkande peptider: VPP, IPP och C12.

Produkt	Blodtryckssänkande aktivitet, % (koncentration, mg/ml)
AmealS (VPP, IPP)	61,5 (0,1)
TwinLab (C12)	68,0 (0,18)
FSA-lead dairy product A	63,0 (0,1*)
FSA-lead plant product B	78,0 (0,1*)

\* baserat på antagandet att den aktiva peptiden motsvarade 1 % av T.S.



De valda peptiderna testades på sex veckor gamla "spontaneously hypertensive" råttor, genom intag i födan under utvecklingsperioden av högt blodtryck. De olika grupperna som dagligen behandlades var: (i) kontroll, (ii) 20 mg/kg av vald peptid, (iii) 200 mg/kg av vald peptid, (iv) 200 mg/kg Myopure (icke fraktionerat vassleproteinhydrolysat). Blodtryck, kroppsvikt, vätska och födointag observerades under de 20 veckor som studien pågick.

## Bilaga 4.

### The Riddet Centre

The Riddet Centre är ett gemensamt initiativ mellan de tre stora universiteten på Nya Zeeland; University of Auckland, Massey University och the University of Otago. Syftet är att samla ledande forskare inom livsmedelsteknik och human nutrition. Centrat fokuserar på innovativa lösningar inom livsmedelsindustrin, speciellt inom functional foods och livsmedelsingredienser med hittills okända egenskaper.

#### Riddet Centre står för:

- Utmärkthet
- Originalitet
- Partnerskap
- Innovation
- Internationellt ledarskap



### Professor Harjinder Singh

Professor Singh är en erkänd och världskänd ledare inom livsmedelsstruktur och funktionalitet, speciellt inom mjölksystem. Han har skrivit ungefär 200 vetenskapliga artiklar och har ett specialintresse för livsmedelskolloider och biopolymerer, funktionalitet och tillämpningsområden av livsmedelsbiopolymerer, samt formulering av livsmedelsprodukter.



Professor Singh berättade för oss att han ser en tydlig trend inom mejeribranchen som går mot att förbättra och utveckla produktens funktion, struktur och smak. För att lyckas med detta är det viktigt att förstå relationen mellan livsmedel och hälsa, sensorisk kvalitet och livsmedelsstruktur, och livsmedelsstruktur och process. Då de flesta produkterna har en komplex struktur är det en fördel att förstå hur strukturen bildats på molekylär nivå. Med hjälp av detta är det möjligt att manipulera strukturen så att den skräddarsys till specifika ingredienser som uppfyller konsumentens önsningar.

Singh menar även att de flesta bioaktiva komponenterna som tillförs ett livsmedel ofta är känsliga mot typiska processteg såsom värmning och homogenisering. Detta betyder att komponenterna kan påverka de sensoriska egenskaperna hos produkten i negativ riktning, vilket är en viktig aspekt att tänka på mot konsumenten. Därför blir en av de största utmaningarna för livsmedelsindustrin att kunna tillverka produkter med bioaktiva komponenter utan att behöva offra smakupplevelsen och konsistensen. Samtidigt skall bioaktiviteten bevaras i produkten genom hela tillverkningskedjan och under hela hållbarhetstiden.

För att fullständigt fånga hälsofördelar av mejeriprodukter (förädlade med bioaktiva komponenter) är det även nödvändigt att utveckla nya analytiska metoder. Dessa måste exakt kunna mäta de låga mängderna av bioaktiva komponenter som finns i produkten och kunna följa möjliga förändringar som kan ske under produktens livscykel.

Den kommande kunskapen av genteknik kommer att erbjuda nya genbaserade tillvägagångssätt för att identifiera bioaktiva komponenter. Bland annat kommer forskningen att fortsätta utveckla användningen av membranteknologi för att koncentrera och rena fram önskade bioaktiva komponenter från mjölk.

The Riddet Center arbetar med att ta fram en ny sorts dryckesautomat som skall ge specifika individer unikt anpassade drycker med olika bioaktiva komponenter.

#### **Urval av artiklar:**

Singh, H. and Flanagan, J. (2006) Milk proteins, In Handbook of Food Science (Ed Y.H. Hui), Marcel Dekker, New York, Sid. 21-1-26-19.

Singh, H. (2006). The milk fat globule membrane—A biophysical system for food applications Current Opinion in Colloid and Interface Science, 11, Sid. 154-163.

## Bilaga 5.

### Fonterra

Fonterra Co-operative group bildades i oktober 2001, och är en ekonomisk förening som ägs av mer än 11 600 mjölkbönder. Det är ett av de största mejeriföretagen i världen och Fonterra Co-operative group har en ledande ställning som exportör av mejeriprodukter (en tredjedel av all internationell mejeriförsäljning). Idag är Nya Zeeland världsledande inom storskalproduktion och processning av mjölk.

Tillgångar	NZ \$ 4,9
Årlig försäljning	NZ\$ 12,3
Mjök production	13,5 miljarder liter
Volym av tillverkad produkt	2,0 miljoner ton
Anställda	+ 18 000
Bönder	11 600





Vi hade möte med Dr Alison Darragh, Dr. Tim Carroll, Dr. Pramod Gopal och deras respektive team i Palmerston North. Alison Darragh är chef över FoU i Palmerston North. Hon är mycket kunnig inom ämnet bioaktiva komponenter i mjölk. Fonterra har många experter anställda inom i stort sett alla områden som berör mjölk.



*Fonterra hade hissat svensk flagga dagen till ära, så vi kände oss mycket välkomna. På bilden från vänster: Marie Söderström, Anna Oliw och Alison Darragh.*

Vi hade även möte med Karen Webber i Auckland som är deras expert på marknadssidan.



## **Bilaga 6.**

### **Victoria University**

Victoria University är ett av Australiens ledande universitet. Universitetet har ungefär 44 000 stycken studenter fördelade på elva olika campus kring Melbourne.

Studiebesöket var på institutionen Molekylärvetenskap som finns på Werribee campus. Institutionen arbetar med att utveckla och stödja vetenskap och teknologi. De satsar mycket på att utbilda studenter i bland annat livsmedelsteknik och har flera olika program som går att läsa. Denna institution är mycket framgångsrik. Institutionen för Molekylärvetenskap publicerar omkring 25 artiklar per år och har erhållit många fina priser samt bidragit till några mejeriprodukter på marknaden.

### **Professor Nagendra Shah**

Forskning kring:

- § Probiotika – *L. casei* (DSM), dess stabilitet, mikrokapsulering
- § Bioaktiva peptider – Studerar nedbrytning av proteiner i yoghurt samt under mogning av cheddar ost. Har bland hittat och renat en tripeptid som skall vara mer effektiv som ACE-hämmare än de tripeptider som tidigare har hittats (t ex VPP). Denna peptid har testats i djurmodeller (råtta och gris).
- § Vassle proteiner – Förbättras så att de klarar värmebehandling bättre.

Vi träffade Negranda Shah och hans team. De pratade om sin forskning kring bioaktiva komponenter i mjölk och visade oss runt på avdelningen. De har en imponerande mängd analysinstrument och en stor fin pilothall.

### **Urval av några intressanta publikationer:**

Shah, Nagendra (2000) "Effects of milk-derived bioactives: an overview". *British Journal of Nutrition*, 84, Sid. 3-10.

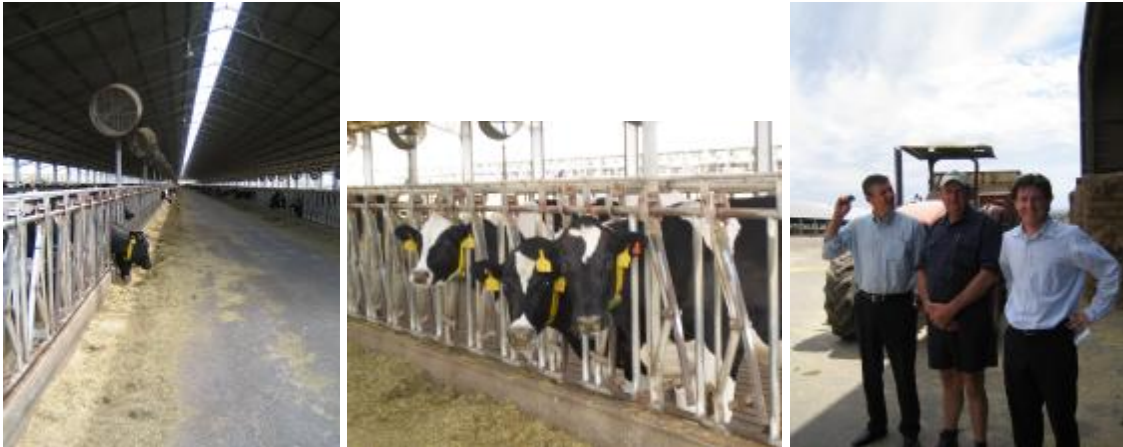
Shah, NP (2006): "Functional cultures and health benefits". 2nd IDF Dairy Science and technology week. International Dairy Federation. Sid. 37-38.

Desai, A. R., Shah, N. P. (2006) "Discrimination of Dairy Industry Isolates of the *Lactobacillus casei* Group". *Journal of Dairy Science*, 89, Sid. 3345-3351.

## Bilaga 7.

### Leppington Pastoral Company Dairy Farm

Med hjälp av Tetra Pak fick vi besöka en av Australiens största gårdar, familjeföretaget Leppington Pastoral Company i Leppington, New South Wales.



*Bilden till vänster och i mitten är på korna när de står under tak. På bilden till höger är ägaren, Mr Perich, i mitten och de två representanterna från Tetra Pak bredvid honom.*

Leppington Pastoral Company har mer än 2 000 mjölkande kor. Därtill kommer dräktiga kor samt en stor mängd kalvar, vilket gör att de totalt sett har närmare 3 000 djur på gården.

Leppington Pastoral Company producerar omkring 30 miljoner liter of mjölk per år och familjeföretaget har 45 personer anställda som jobbar treskift. Det är relativt få anställda om man tar hänsyn till den mängd mjölk de producerar. Detta beror på att gården i stor grad är automatiserad. Korna mjölkas tre gånger per dygn. De menar att korna producerar störst mängd mjölk om de mjölkas tre gånger per dygn och de samtidigt får äta så mycket de vill (korna åt mer än 24 kg foder räknat i torrsubstans och drack mellan 80 och 100 liter vatten per dag) och i övrigt har förhållanden som de trivs i. Korna producerar i medeltal 35-40 liter mjölk per dag med en proteinhalt på 3,2 % och en fetthalt på 3,8 %. Under de första månaderna efter kalvning producerar korna hela 70 liter mjölk per dag.

När vi var där hade torkan börjat och korna stod gärna under tak i skydd mot solen. Fläktar styrda av termostat slogs på då temperaturen översteg 21 grader Celcius. Med jämna mellanrum kylde korna ner m.h.a. vattenspridare. Vattenspridarna slogs på i två minuter då temperaturen översteg 25 grader Celcius.