

Биологическая ценность белка творога, изготовленного с применением транsgлутаминазы, и особенности его влияния на растущих крыс

- Зобкова Зинаида Семеновна
- Федулова Лилия Вячеславовна
- Фурсова Татьяна Петровна
- Зенина Дарья Вячеславовна
- Котенкова Елена Александровна

Резюме

*Проведена сравнительная оценка биологической ценности белка творога, выработанного по традиционной технологии и с применением микробной транsgлутаминазы. Биологический эксперимент проведен на растущих лабораторных крысах стока Вистар, получавших в составе полусинтетического рациона в качестве белка (в количестве 10% от общей калорийности рациона) анализируемые образцы творога. На протяжении 22 сут анализировали показатели поедаемости корма и прироста массы тела животных. В обменный период (с 23-х по 24-е сутки), помимо перечисленных показателей, индивидуально учитывали количество экскретируемого с фекалиями и мочой азота. Биологическую ценность белков творога, выработанного с применением транsgлутаминазы и по традиционной технологии, оценивали, определяя коэффициенты эффективности белка, истинной усвояемости азота, азотного баланса. Помимо этого, по окончании обменного периода оценивали иммунную составляющую крови и катаболизм белков посредством биохимического анализа сыворотки крови. Результаты исследований *in vivo* позволяют высказать предположение об увеличении биологической ценности и усвояемости белка творога посредством ферментативной модификации белков молока. Выявленное достоверное увеличение концентрации общего белка (на 4%), азота мочевины (свыше 20%) и уровня креатинина коррелирует с большим количеством белка опытного продукта, потребленного животными в обменный период. Отмеченное снижение количества лейкоцитов и лимфоцитов в крови крыс, потреблявших опытные образцы творога, свидетельствует о целесообразности дополнительных исследований иммунных реакций. Расчет показателей, характеризующих биологическую ценность белка творога, исходя из его аминокислотного состава, показал увеличение аминокислотной несбалансированности в твороге, выработанном с применением транsgлутаминазы, в основном за счет избытка лизина и соответствующее снижение усвояемости на 1,7%.*

Ключевые слова: транsgлутаминаза, модификация белка, творог, аминокислотный состав, биологическая ценность, крысы, усвояемость азота, биохимические показатели крови

Вопр. питания. 2018. Т. 87, № 2. С. 44-52. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10018.

В настоящее время особое внимание уделяется разработкам стратегий по повышению биологической ценности пищевых продуктов, реализуемых путем модификации состава и внесения различных функциональных ингредиентов и модулей. Применение специализированных видов пищевых добавок, модифицирующих белок, может способствовать повышению его биологической ценности, обусловленной дополнением лимитирующими незаменимыми аминокислотами. Одним из путей повышения пищевой ценности молочных продуктов может стать разработка технологий эффективного использования побочных продуктов, образующихся в процессе производства.

Стоит отметить, что при использовании современных технологий получения творога более 70% сыворотки практически не перерабатывается. При этом молочная сыворотка, в которую в процессе производства переходит около 50% сухих веществ молока, содержит, кроме углеводов, липидов, органических кислот, минеральных солей, витаминов и ферментов, от 0,5 до 1,5% белка, включая казеин и сывороточные белки, являющиеся дополнительным источником триптофана, цистина, лизина, лейцина, гистидина, метионина, треонина [1].

Модификация белка путем ферментативного сшивания с помощью трансглутаминазы (ТГ) позволяет улучшить его функционально-технологические свойства (термостабильность, гелеобразующая и эмульгирующая способность, растворимость и др.) [2-5]. Использование ТГ при производстве творога способствует также решению проблемы увеличения выхода продукта, уменьшения потерь сухих веществ с сывороткой и, кроме того, снижения степени загрязнения сточных вод предприятий [6, 7].

Однако, несмотря на многочисленные свидетельства преимуществ использования ТГ для сшивания функциональных молочных белков, данных о влиянии потребления молочных продуктов, в частности творога, полученного с применением ферментативной модификации, на усвоение нутриентов организмом недостаточно. Известно, что использование ТГ может приводить к появлению дополнительных ковалентных перекрестных связей между белками пищи, вызывая тем самым существенные изменения в их структуре, и оказывать негативное влияние как на пищевые качества конечного продукта, так и на общее состояние организма [8]. Несмотря на то что во всем мире проводятся исследования по изучению постпрандиальных эффектов ферментативно сшитых белков животного происхождения, появляются публикации, в которых высказываются гипотезы о том, что микробные ТГ могут выступать в качестве нового экологического триггера глютеновой энтеропатии. Эти предположения преимущественно строятся на том, что микробные ТГ, так же как и эндогенные ТГ тканей человека, дезаминируют/трансаминируют глютен и способны, сшивая белки и другие макромолекулы, изменять их антигенные свойства за счет повышения стабильности белка против собственных протеиназ организма и неполного гидролиза чужеродного белка, что при повышенной кишечной проницаемости может приводить к увеличению антигенной нагрузки на иммунную систему организма [8]. Помимо этого, опасения по поводу широкого применения ТГ связаны с вопросом биодоступности лизина обработанных продуктов, так как в результате воздействия ТГ образуются сшивки между глутамином и лизином [9].

Отдельно стоит отметить недостаточность исследований по оценке качественных характеристик молочных продуктов, изготовленных с применением ТГ. Очевидно, что образование ковалентных перекрестных связей аминокислот в той же самой или в другой белковой молекуле белка может снизить усвояемость и биологическую доступность незаменимых аминокислот, участвующих в реакции сшивания. В связи с этим актуально изучение биологической ценности и усвояемости белка конечного продукта, изготовленного с применением ТГ.

Цель исследований - сравнительное изучение биологической ценности и усвояемости белка творога, подвергнувшегося ферментной модификации.

Материал и методы

Объектами исследований являлись образцы молочного продукта - творога, изготовленного по традиционной технологии (КТ), и творога, изготовленного с использованием ТГ (ТТГ) [10].

Аминокислотный состав обоих видов творога определяли методом ионообменной хроматографии на аминокислотном анализаторе LC-5000 ("Biotronik", Германия), расчет содержания аминокислот производили автоматически с помощью Chromatorac C-R3A ("Shimadzu", Япония). Исходя из аминокислотного состава анализируемых продуктов с целью оценки его сбалансированности и биологической ценности белка были рассчитаны следующие критерии: коэффициент избыточности незаменимых аминокислот, характеризующий общее количество аминокислот, которое теоретически из-за взаимной несбалансированности не может быть утилизировано организмом на анаболические нужды; коэффициент сопоставимой избыточности, характеризующий суммарную массу не утилизируемых аминокислот в таком количестве оцениваемого белка, которое эквивалентно их потенциально утилизируемому содержанию в 100 г белка-эталона; показатель усвояемости белка [11, 12].

Биологический эксперимент проводили на 33 растущих белых крысах-самцах стока Вистар, полученных из филиала "Андреевка" ФГБУН "Научный центр биомедицинских технологий" ФМБА России. После прохождения карантина в течение 10 сут крыс произвольно разделили на 3 группы по 11 животных. Средняя масса тела крыс на начало эксперимента составила $88,0 \pm 10,0$ г. На протяжении всего срока проведения исследований экспериментальные животные получали изокалорийные (400 ккал/100 г сухого корма) полноценные рационы с содержанием расчетного уровня белка 10% по калорийности, представленного для контрольных крыс 3-й группы казеином (К), для опытных крыс 1-й и 2-й групп - ТТГ и КТ (табл. 1). Рацион был рассчитан и скорректирован на основании химического состава исследуемых образцов. Кормление животных осуществляли ежедневно в одно и то же время, в период с 15.00 до 16.00. Животные потребляли воду, полученную на установке водоподготовки ("Merck Millipore", Германия) и минерализованную путем добавления минеральных солей для получения физиологически полноценного минерального состава.

Таблица 1. Состав полусинтетического рациона животных экспериментальных групп

Компонент		Содержание, г на 100 г сухого корма		
		1-я группа (ТТГ)	2-я группа (КТ)	3-я группа (К)
Казеин (86% белка)*		–	–	12,0
ТТГ (19,0% белка, 3% углеводов, 0,6% жира, 23,8% сухих веществ)		56/13,3 (в пересчете на сухое вещество)	–	–
КТ (16,7% белка, 3% углеводов, 0,6% жира, 21,5% сухих веществ)		–	62,9/13,5 (в пересчете на сухое вещество)	–
Жировая композиция	лярд, г	7,4	7,4	7,7
	масло, г	3,8	3,8	3,8
Крахмал, г		70,4	70,2	72,0
Минеральная смесь, г**		4,0	4,0	4,0
Жирорастворимые витамины, мл***		1,0	1,0	1,0
Водорастворимые витамины, г****		0,1	0,1	0,1

П р и м е ч а н и е. * – белок коровьего молока СА.160030 (ENVIGO, Новая Зеландия); ** – состав (г на 1 кг смеси): натрий хлористый NaCl – 139; калий фосфорнокислый однозамещенный K_2HPO_4 – 338,8; магний сернокислый гидрат $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 57,4; кальций углекислый $CaCO_3$ – 381,4; железо (II) сернокислое $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 26,4; йодид калия KI – 0,77; марганец сернокислый $MnSO_4 \times 2H_2O$ – 4,45; медь сернокислая гидрат $CuSO_4 \times 5H_2O$ – 0,48; кобальт хлористый гидрат $CoCl_2 \times 6H_2O$ – 0,024; фтористый натрий NaF – 0,5; алюминievoкалиевые квасцы $AlK(SO_4)_2 \times 12H_2O$ – 0,11; *** – состав (мл на 100 мл раствора): α -токоферол (50 мг/мл) – 10; ретинол (100 тыс. МЕ/мл) – 0,8; холекальциферол (50 тыс. МЕ/мл) – 1,4; подсолнечное масло рафинированное дезодорированное до 100 мл; **** – состав (в мл на 100 г смеси): тиамин (B_1) – 500; рибофлавин (B_2) – 500; пиридоксин (B_6) – 500; пантотенат кальция (B_5) – 2800; никотиновая кислота (B_3) – 2000; фолиевая кислота (B_9) – 200; цианокобаламин (B_{12}) – 4; викасол (K) – 100; глюкоза – 93 600. Здесь и в табл. 2–6: расшифровка аббревиатур дана в тексте.

С 1-х по 22-е сутки включительно животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище в пластмассовых клетках TECNIPLAST тип IV S, в которые помещали не более 6 крыс (в соответствии с нормами размещения животных) [13]. Условия содержания животных были стандартизированы: температура - 20 ± 3 °C, влажность - $48 \pm 2\%$, освещение режим день/ночь (с 6.00 до 18.00/с 18.00 до 6.00). В качестве подстилки использовали березовую стружку. В этот период учитывали прирост массы тела животных с помощью электронных технических весов Ohaus ("Adventurer Pro", США) с точностью $\pm 0,1$ для определения массы тела животных.

С 23-х по 24-е сутки, в обменный период, животных всех групп пересаживали в индивидуальные метаболические клетки ("Techniplast", Испания). После пищевой депривации (10 ч) животным индивидуально скармливали соответствующие рационы, содержание белка в которых определяли методом Кьельдаля [14], используя коэффициент пересчета с общего азота на белок (6,25). На протяжении 3 дней ежедневно учитывали массу тела животных, индивидуальные показатели поедаемости корма, собирали фекалии и мочу, определяя в них содержание азота на аппарате Кьельтек 2300 ("Foss Tecator", Швеция).

Для оценки влияния потребления КТ и ТТГ на растущих крыс рассчитывали следующие показатели [15, 16]:

- коэффициент эффективности белка (КЭБ) (PER):

$$KЭБ = \frac{\Delta B}{I_p}$$

где ΔB - прирост массы тела животного в процессе проведения эксперимента (г); I_p - суммарное количество белка (г), потребленного животным за тот же период;

- истинную усвояемость ($D_{ист}$) азота исследуемых образцов/казеина по формуле:

$$D_{ист} = \frac{I - (F - F_0)}{I} \times 100,$$

где I - общее количество азота (г), потребленного в составе рациона крысой в течение обменного периода; F - количество азота (г), экскретированного с калом крысой в течение обменного периода; F_0 - эндогенный азот кала (г) крысы, гипотетически находившейся на безбелковой диете, в течение такого же обменного периода. Значение показателя F_0 принято равным 0,020 [17];

- биологическую ценность (БЦ) по формуле:

$$БЦ = \frac{I - (F - F_0) - (U - U_0)}{I - (F - F_0)} \times 100,$$

где U - количество азота (г), экскретированного с мочой крысой в течение обменного периода; U_0 - эндогенный азот мочи (г) крысы, гипотетически находившейся на безбелковой диете, в течение такого же обменного периода. Значение показателя U_0 принято равным 0,005 [17];

- азотистый баланс (А) по формуле:

$$A = I - (F - U).$$

По окончании эксперимента (25-е сутки) животных усыпляли в камере для эвтаназии ("Vet Tech", Великобритания) с помощью углекислого газа, отбирали из левого желудочка сердца кровь. Анализ проб цельной крови проводили на автоматическом ветеринарном гематологическом анализаторе Abacus junior vet 2.7 ("Diatron Messtechnik GmbH", Австрия), используя наборы реактивов Diatron, сыворотки крови - на автоматическом биохимическом анализаторе BioChem FC 360 ("HTI", США), используя наборы реактивов High Technology (США).

Эксперимент проводили в соответствии с требованиями приказа Минздрава России от 01.04.2016 № 199н "Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики", Директив Европейского сообщества 86/609ЕЕС и 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей (Европейского парламента и Совета Европейского союза).

Статистическую обработку проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0. Результаты представлены в виде взвешенного среднего значения \pm стандартное отклонение. Достоверность различий средних величин, удовлетворяющих условиям нормального распределения и равенству дисперсий, оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA с применением критерия Дункана). Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Аминокислотный состав и скор незаменимых аминокислот контрольного и опытного образцов творога относительно идеального (эталонного) белка представлены в табл. 2.

Таблица 2. Содержание и скор аминокислот в твороге, изготовленном по традиционной технологии (КТ) и с применением трансглютаминазы (ТТГ)

Аминокислота	Содержание аминокислоты, мг/г белка/скор, %		
	шкала сравнения*	КТ	ТТГ
Аланин	–	48	47
Глицин	–	30	31
Аспарагиновая кислота	–	130	122
Глутаминовая кислота	–	146	136
Лизин	45	67/149	88/194
Гистидин	15	34/229	34/224
Треонин	23	45/194	46/199
Цистеин + метионин	22	54/246	55/248
Валин	39	65/168	63/162
Лейцин	59	93/157	89/151
Изолейцин	30	32/106**	33/108**
Серин	–	53	50
Аргинин	–	30	30
Фенилаланин + тирозин	38	48/126	51/131
Пролин	–	105	104
Триптофан	6	22/360	23/377

П р и м е ч а н и е. * – при расчете использованы рекомендации ФАО/ВОЗ по потребностям в аминокислотах взрослого человека 2007 г.; ** – минимальный скор незаменимой аминокислоты.

Таблица 3. Показатели химического состава и аминокислотной сбалансированности рационов экспериментальных животных

Показатель	Рацион		
	КТ	ТТГ	К
<i>Химический состав, массовая доля, %</i>			
Белок	10,0	10,6	10,2
Жир	10,7	10,7	10,7
Углеводы	56,3	56,3	56,3
<i>Аминокислотная сбалансированность</i>			
Σ незаменимых аминокислот, г/100 г белка	45,9	48,0	50,2
Минимальный скор, дол. ед.	1,06*	1,08*	1,5**
Коэффициент разбалансированности аминокислотного состава, %	36,0	37,4	26,7
Коэффициент избыточности незаменимых аминокислот, г/100 г белка	16,5	18,2	12,4
Коэффициент сопоставимой избыточности, г/100 г белка	15,6	16,8	5,6
Показатель усвояемости незаменимых аминокислот, г/100 г белка	83,5	81,8	94,4

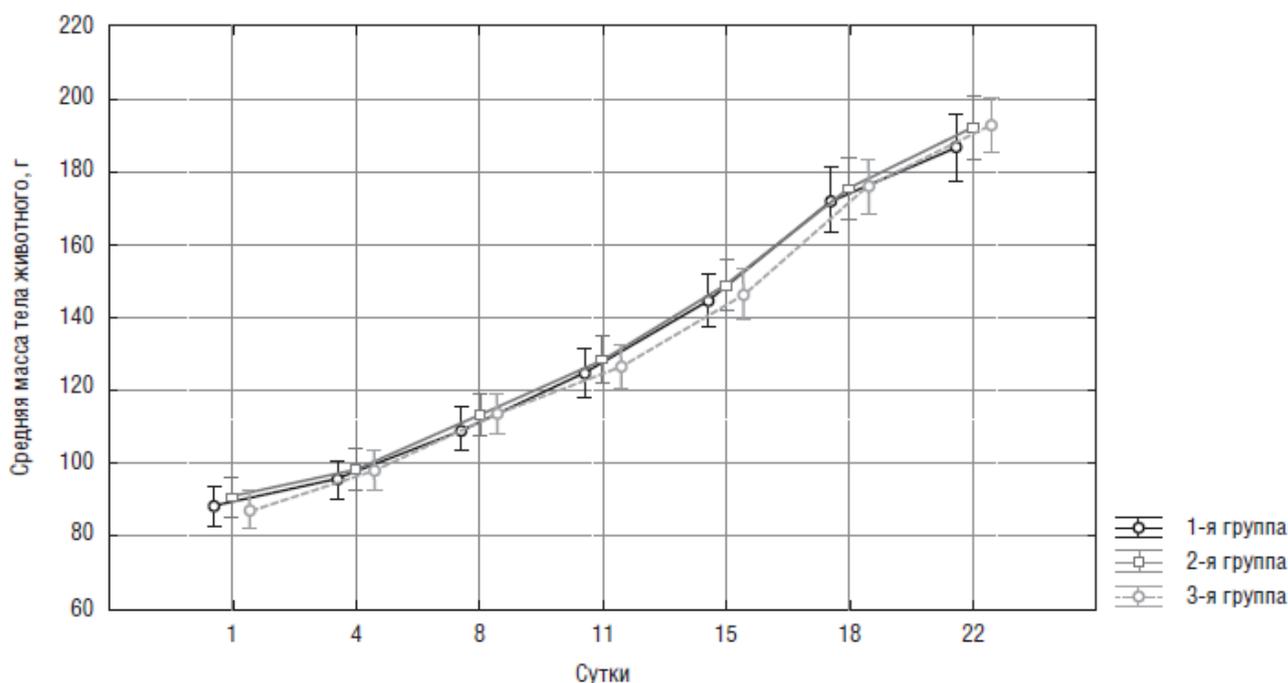
П р и м е ч а н и е. * – минимальный скор изолейцина; ** – минимальный скор метионин + цистеин.

Полученные результаты показали, что содержание практически всех незаменимых аминокислот одинаково в обоих видах творога, за исключением лизина, содержание которого в ТТГ выше почти на 21 мг в 1 г белка. В обоих образцах творога минимальный скор определен у изолейцина. Относительно казеина, выбранного в качестве контроля сравнения, можно отметить высокое содержание глутаминовой кислоты, лизина и изолейцина (превышает значения исследуемых продуктов более чем на 20%) согласно данным изготовителя, а также источникам литературы [18].

Показатели, характеризующие биологическую ценность белка рационов, исходя из аминокислотного состава, рассчитанные по методике, разработанной академиками Н.Н. Липатовым-младшим и И.А. Роговым на основе развития принципа Митчелла-Блока, представлены в табл. 3. Анализ аминокислотной сбалансированности показал, что в диете с использованием в качестве источника белка образца творога, изготовленного с применением ТГ, сопоставимая избыточность содержания незаменимых аминокислот выше на 1,2 г/100 г белка, при этом показатель усвояемости незаменимых аминокислот на анаболические цели ниже на 1,7 г/100 г. Таким образом, рациональное использование и, соответственно, биологическая ценность белка ТТГ ниже, чем КТ, вследствие большей

аминокислотной разбалансированности, обусловленной в основном увеличением количества лизина (на ~30%). Это объясняется, очевидно, специфичностью действия ТГ.

При проведении биологического эксперимента было выявлено увеличение среднесуточной прибавки массы тела у животных всех групп (см. рисунок), при этом в период с 1-х по 22-е сутки установлен достоверный прирост массы тела крыс 3-й группы. По окончании обменного периода масса тела крыс 1-й и 2-й групп была ниже, чем у животных, получавших в качестве источника белка казеин, однако различия не достигали уровня статистической значимости. Эффективность утилизации белка, выражаемая КЭБ, как в период с 1-х по 22-е сутки, так и в обменный период была также выше у контрольных крыс 3-й группы. Стоит отметить, что усредненные значения коэффициента эффективности белка за 22 сут статистически значимо не различались у крыс всех групп. Результаты определения истинной усвояемости белка крысами и биологической ценности анализируемых продуктов (табл. 4) свидетельствуют о том, что среднее количество белка, потребленного в составе рациона за сутки обменного периода, было одинаковым для животных 1-й и 2-й групп и незначительно больше, чем у животных контрольной группы. При этом экскреция азота с мочой была меньше у крыс 1-й и 2-й групп, а с фекалиями - у животных 3-й группы. Следует отметить, что у животных 3-й группы при наименьшем количестве азота, выделенного с фекалиями, наблюдалась более выраженная элиминация азотсодержащих продуктов с мочой. Выявлено, что белок ТГ обладает большей биологической ценностью, чем белок КТ и К. Коэффициент истинной усвояемости белка ТГ был ниже, чем белка казеина, но выше белка КТ. При этом азотистый баланс экспериментальных крыс всех групп достоверно не различался.



Динамика массы тела крыс в течение эксперимента

Таблица 4. Показатели роста экспериментальных животных и биологической ценности белка рационов

Показатель	Рацион			
	ТТГ (1-я группа)	КТ (2-я группа)	К (3-я группа)	
Масса тела крыс в начале эксперимента, г	88,1±9,3	90,5±17,8	89,7±8,5	
Прирост массы тела крыс с 1-е по 22-е сутки, г	98,5±18,9	108,1±21,9	112,2±25,2	
Суммарное количество белка, потребленного крысой с 1-е по 22-е сутки, г	120,3	129,2	110,9	
Масса тела крыс на начало обменного периода, г	198,2 ±6,1	196,0±9,6	205,9±10,1	
Масса тела крыс на конец обменного периода, г	201,0±6,7	198,2±5,2	210,4±7,1	
Количество белка, потребленного крысой за обменный период, г/сут	4,97±0,45	4,89±0,51	4,07±0,60	
Содержание азота	в фекалиях, г/сут	0,026±0,004*	0,034±0,003*	0,012±0,001
	в моче, г/сут	0,014±0,001*	0,016±0,002*	0,027±0,003
КЭБ за весь экспериментальный период	0,94±0,23	0,83±0,28	0,98±0,19	
КЭБ за обменный период	0,56±0,10*	0,45±0,14*	1,10±0,08	
Истинная усвояемость азота ($D_{ист}$)	99,6	98,2	100,9	
Биологическая ценность (БЦ)	98,99*	98,31	97,18	
Азотистый баланс (А)	0,78	0,77	0,79	

Примечание. * – статистически значимое отличие ($p < 0,05$) от показателя животных 3-й группы.

Таблица 5. Гематологические показатели крови экспериментальных крыс, характеризующие функциональную активность лейкоцитов

Показатель	Норма [19]	1-я группа (ТТГ)	2-я группа (КТ)	3-я группа (К)
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	5,6–12,6	5,86±0,98*	8,66±1,12	7,36±0,45
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	4,0–9,12	4,39±0,85*	7,40±0,97	5,94±0,42
Содержание смеси моноцитов, эозинофилов, базофилов и незрелых клеток, $\times 10^9/\text{л}$	0,02–0,18	0,07±0,01	0,08±0,02	0,13±0,03
Гранулоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,07–3,38	1,40±0,17	1,18±0,15	1,17±0,09
Лимфоциты, %	57,5–85,6	66,09±1,54*.*	84,91±0,75	80,29±1,70
Моноциты, %	0,6–2,9	1,53±0,31	0,84±0,18*	1,99±0,40
Относительное содержание гранулоцитов, %	20–32	31,75±3,39*.*	14,26±0,73	15,96±1,10

Примечание. Здесь и в табл. 6: * – статистически значимое отличие ($p < 0,05$) от показателя животных 3-й группы; # – статистически значимое отличие ($p < 0,05$) от показателя животных 2-й группы.

Таблица 6. Биохимические показатели сыворотки крови животных, характеризующие белковый обмен

Показатель	Норма [19]	1-я группа (ТТГ)	2-я группа (КТ)	3-я группа (К)
Общий белок, г/л	50–80	64,6±0,8*	64,5±0,9*	61,9±0,6
Альбумин, г/л	30–50	42,9±0,6	42,1±0,5	41,9±0,3
Креатинин, мкмоль/л	30,0–70,0	54,2±0,7*.*	51,6±0,4	50,9±0,6
Мочевина, ммоль/л	4,28–8,57	6,7±0,1*	7,1±0,3*	5,4±0,1

Для выявления нежелательных эффектов, сопряженных с потреблением продукта с частично "сшитым" белком, по окончании обменного опыта был проведен анализ показателей крови, характеризующий состояние лейкоцитов (табл. 5). Полученные результаты показали, что у крыс 1-й группы (ТТГ) концентрация лейкоцитов была снижена на 20,4% по сравнению с показателем животных 3-й группы (К) преимущественно за счет снижения содержания лимфоцитов (свыше 25%). При этом у крыс этой группы выявлено недостоверное увеличение относительного содержания гранулоцитов. У животных 2-й группы анализируемые показатели статистически значимо не отличались от показателей животных 3-й группы, однако выявлено статистически значимое снижение содержания моноцитов практически в 2 раза. Выявленная тенденция может указывать на возможность образования при расщеплении белков ТТГ небольшой доли негидролизированных коротких пептидов, опосредованно оказывающих влияние на активацию иммунных реакций.

Для более полного понимания катаболизма белка исследуемых продуктов были проанализированы биохимические показатели сыворотки крови животных, характеризующие белковый обмен (табл. 6). У крыс 1-й и 2-й групп (ТТГ и КТ) относительно контрольных животных 3-й группы выявлено статистически значимое увеличение концентрации общего белка на 4,3 (ТТГ) и 4,1% (КТ) и азота мочевины на 21,5 и 30,3% соответственно. Интересно отметить незначительное (до 6%, $p < 0,05$) повышение уровня креатинина в сыворотке крыс 1-й группы относительно показателей животных 2-й и 3-й групп. Данная тенденция может быть связана с необходимостью катаболизма большего количества белка, потребленного животными в обменный период.

На основании выполненных исследований необходимо отметить, что показатели, характеризующие биологическую ценность белка опытных образцов продукта, изготовленного с применением ТГ, полученные расчетным путем, расходятся с результатами проведенного эксперимента на модели биологической системы. Увеличение аминокислотной несбалансированности в твороге, выработанном с применением ТГ, в основном за счет избытка лизина, не приводило к увеличению количества не утилизируемого азота крысами, что может объясняться более высокими потребностями крыс в лизине. Снижения усвояемости белка с учетом вновь образованных дополнительных глутаминил-лизиновых связей, судя по биометрическим показателям животных, не отмечено. Эти данные согласуются с результатами исследований других авторов, которые выявили, что изопептидная связь, индуцированная ТГ между глутамином и лизином, расщепляется под действием ферментов желудочно-кишечного тракта и почек крыс [20, 21].

Проведенная сравнительная оценка кисломолочных продуктов - творога, изготавливаемого с применением ТГ и по традиционной технологии, на растущих крысах свидетельствует о том, что значения таких показателей, как потребление и экскреция азота, коэффициент эффективности белка, коэффициент биологической ценности, истинная усвояемость азота, азотистый баланс и прирост массы тела крыс, потреблявших в составе рациона творог, изготовленный с применением ТГ, незначительно (на 1,3-4,9%) превышали значения, полученные для контрольного образца творога. Колебания анализируемых гематологических и биохимических показателей крови экспериментальных животных не выходили за пределы физиологической нормы.

Полученные результаты имеют важное значение, поскольку показывают, что перекрестная "сшивка" белка, повышающая степень использования пищевого сырья при производстве творога, по крайней мере не оказывает при этом отрицательное влияние на его усвояемость и биологическую ценность, что согласуется с данными С.Ф.В. de Souza и др. [22], которые из экспериментов на крысах Вистар, потреблявших в составе рациона "сшитый" ТГ белок сухого молока, получили значения БЦ 94,59 и 94,19% для контрольной и опытной групп соответственно.

Таким образом, можно заключить, что введение в рацион растущим крысам Вистар молочного продукта (в количестве 10% белка от общей калорийности рациона) не вызывало отрицательных эффектов на анализируемые ростовые показатели животных. При этом отмеченное перераспределение иммунных клеток крови крыс, потреблявших творог, изготовленный с применением микробной ТГ, указывает на необходимость проведения дальнейших исследований, в том числе направленных на понимание реакций взаимодействия ТГ с казеинами и сывороточными белками, процессов гидролиза пищеварительными ферментами модифицированных белков и путей образования биоактивных пептидов, обладающих как позитивными (например, GMP-подобные

пептиды), так и негативными (модифицированные трансминированные пептиды Glu-C) эффектами.

Литература

1. Храмцов А.Г., Молчанов Г.И., Жидков В.Е., Лунькова Л.В. Производство и использование белков молочной сыворотки в лечебно-диетическом питании: обзорная информация. Сер. Молочная промышленность. М. : АгроНИИТЭИПП, 1993. 32 с.
2. Zhu Y., Rinzema A., Tramper J., Bol J. Microbial transglutaminase -a review of its production and application in food processing // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1995. Vol. 44. P. 277-282.
3. Liu M., Damodaran S. Effect of transglutaminase-catalyzed polymerization of beta-casein on its emulsifying properties // J. Agric. Food Chem. 1999. Vol. 47, N 4. P. 514-519.
4. Lorenzen P.C. Renneting properties of transglutaminase-treated milk // Milchwissenschaft. 2000. Vol. 55. P. 433-437.
5. O'Sullivan M.M., Kelly A.L., Fox P.F. Effects of transglutaminase on the heat stability of milk: a possible mechanism // J. Dairy Sci. 2002. Vol. 8. P. 1-7.
6. Шлейкин А.Г., Данилов Н.П., Шарапова Т.А. Технологические и медико-биологические аспекты действия трансглутаминазы // Изв. СПбГУНиПТ. 2009. № 3, 4. С. 47-49.
7. Зенина Д.В. Современные тенденции в повышении качества традиционного творога // Мол. пром-сть. 2012. № 5. С. 16-17.
8. Lerner A., Torsten M. Possible association between celiac disease and bacterial transglutaminase in food processing: a hypothesis // Nutr. Rev. 2015. Vol. 73, N 8. P. 544-552.
9. Monogioudi E., Faccio G., Lille M., Poutanen K., Buchert J., Mattinen M.-L. Effect of enzymatic cross-linking of β -casein on proteolysis by pepsin // Food Hydrocolloids. 2011. Vol. 25. P. 71-81.
10. Зобкова З.С., Зенина Д.В. О влиянии микробной трансглутаминазы на процессы модификации молочных белков при производстве творога // Научное обеспечение молочной промышленности : сборник научных трудов. М. : ГНУ ВНИМИ, 2012. С. 79-84.
11. Покровский А.А. Биохимические обоснования разработки продуктов повышенной биологической ценности // Вопр. питания. 1994. № 1. С. 1-3.
12. Липатов Н.Н. Принципы и методы проектирования рецептур пищевых продуктов, балансирующих рационы питания // Изв. вузов. Пищевая технология. 1990. № 6. С. 5-10.
13. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington, DC : National Academies Press, 2011. 248 p.
14. Скурихин И.М., Тутельян В.А. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов. М. : Медицина, 1998. 142 с.

15. Покровский А.А. О биологической и пищевой ценности продуктов питания // Вопр. питания. 1975. № 3. С. 25-39.
16. Pellett P.L., Young V.R. Nutritional Evaluation of Protein Foods. Tokyo : The United Nations University, 1980. 162 p.
17. Высоцкий В.Г., Мамаева Е.М. К оценке эндогенных потерь азота у белых крыс различного возраста // Вопр. питания. 1979. № 3. С. 48-52.
18. Просеков А.Ю., Курбанова М.Г. Анализ состава и свойств белков молока с целью использования в различных отраслях пищевой промышленности // Техника и технология пищевых производств. 2009. № 4. С. 68-71.
19. Evans G.O., George A. Animal Clinical Chemistry: A Practical Handbook for Toxicologists and Biomedical Researchers. 2nd ed. UK : CRC Press, 2009. 368 p.
20. Seguro K., Kumazawa Y., Kuraishi C., Sakamoto H., Motoki M. The epsilon-(gamma-glutamyl)lysine moiety in cross-linked casein is an available source of lysine for rats // J. Nutr. 1996. Vol. 126. P. 2557-2562.
21. Hultsch C., Bergmann R., Pawelke B., Pietzsch J., Wuest F., Johannsen B. et al. Biodistribution and catabolism of 18 F-labelled isopeptide Nε-(γ-glutamyl)-L-lysine // Amino Acids. 2005. Vol. 29. P. 405-413.
22. De Souza C.F.V., Venzka J.G., Flores S.H., Ayub M.A.Z. In vivo evaluation of cross-linked milk and wheat proteins mediated by microbial transglutaminase in white Wistar rats // Am. J. Food Technol. 2009. Vol. 4, N 3. P. 96-107.