



№ 2 • 2020

СЫРОДЕЛИЕ И МАСЛОДЕЛИЕ

dmprDrying
Machinery
Process

ОБОРУДОВАНИЕ И ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА СЫРА

Официальное представительство

VPS®

Евгения Юрьевна Агаркова, канд. техн. наук, заведующая лабораторией
 Ксения Александровна Рязанцева, канд. техн. наук, научный сотрудник
 Александр Геннадьевич Кручинин, канд. техн. наук, старший научный сотрудник
 ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»
 E-mail: euagarkova@mail.ru

УДК 637.047
 DOI: 10.31515/2073-4018-2020-2-55-56

Белки молочной сыворотки как источник антиоксидантных пептидов

Возрастание объемов производства продуктов, в том числе молочных, обогащенных пищевыми ингредиентами с различными биологическими эффектами, обусловлено ухудшением социально-экономических условий, нестабильной экологической обстановкой и несбалансированным питанием. В то же время не теряют актуальности проблемы, связанные с необходимостью развития технологий переработки молочной сыворотки. В статье проанализирована субстратная специфичность используемых в молочной промышленности ферментных препаратов с точки зрения придания сывороточным белкам определенных функциональных свойств, а именно антиоксидантной активности по отношению к различным радикалам и в системах с окислением липидов. Показано, что на основе белков молочной сыворотки возможно получение функциональных пищевых ингредиентов с доказанными антиоксидантными свойствами.

Ключевые слова: функциональные свойства, гидролиз, ферменты, биологические эффекты, антиоксидантная активность.

Agarkova E.Yu., Ryazantseva K.A., Kruchinin A.G. Whey proteins as a source of antioxidant peptides

The increase in production volumes of products, including dairy products, enriched with food ingredients with various biological effects is due to the deterioration of socio-economic conditions, unstable environmental conditions and unbalanced nutrition. At the same time, the problems associated with the need to develop technologies for processing whey do not lose relevance. The article analyzes the substrate specificity of enzyme preparations used in the dairy industry from the point of view of imparting certain functional properties to whey proteins, namely antioxidant activity in relation to various radicals and in systems with lipid oxidation. It is shown that on the basis of whey proteins it is possible to obtain functional food ingredients with proven antioxidant properties.

Key words: functional properties, hydrolysis, enzymes, biological effects, antioxidant activity.

Молочная сыворотка является ценным вторичным продуктом молочной промышленности в результате производства творога, сыра или казеина. Восприятие сыворотки как загрязняющего вещества изменилось с открытием ее функциональных и биологически активных свойств [1, 2]. Белковые гидролизаты молочной сыворотки, полученные ферментативным катализом, проявляют различные функциональные свойства, связанные с биологически активными пептидами. Биоактивные пептиды неактивны в последовательности исходного белка, но могут высвобождаться путем гидролиза пищеварительными ферментами, протеолитическими микроорганизмами, действием растительных или микробных протеаз [3]. Коммерческие протеазы были успешно протестированы для производства биоактивных гидролизатов из молока, включая сывороточные белки. За последние два десятилетия проведены многочисленные исследования антиоксидантных, антигипертензивных, антимикробных и других биологических свойств пептидов, полученных в результате гидролиза казеиновых и сывороточных белков, подтверждающие важность белков молока в качестве источника биологически активных пептидов [4]. Кроме того, биоактивные пептиды, образующиеся при ферментативном гидролизе, обладают огромным потенциалом для создания новых функциональных продуктов [4, 5].

Хорошо известно, что перекисное окисление липидов в пищевых продуктах может привести к ухудшению их качества и сокращению срока годности. Перекисное окисление липидов влечет за собой образование свободных радикалов, которые, в свою очередь, могут привести к разложению жирных кислот, что снижает пищевую ценность и безопасность пищевых продуктов из-за образования нежелательного привкуса и токсичных веществ [6]. Свободные радикалы также могут модифицировать ДНК, белки и небольшие клеточные молекулы и, как полагают, играют важную

роль в возникновении таких заболеваний, как сердечно-сосудистые, сахарный диабет, неврологические расстройства и даже болезнь Альцгеймера. Следовательно, важно замедлять окисление липидов и образование свободных радикалов в пищевых продуктах, содержащих липиды и (или) жирные кислоты [7].

Доказано, что пептиды из белковых гидролизатов действуют как антиоксиданты через механизмы инактивации активных форм кислорода (АФК), удаления свободных радикалов, ингибирования перекисного окисления липидов, хелатирования ионов металлов или комбинации этих механизмов [7].

Антиоксидантные пептиды обычно состоят из 5–11 аминокислот, включая гидрофобные аминокислоты, пролин, гистидин, тирозин и триптофан. Предшественником большинства идентифицированных антиоксидантных пептидов является α-казеин. Данные пептиды обладают активностью по удалению свободных радикалов и ингибируют ферментативное и неферментативное перекисное окисление липидов. Хотя антиоксидантные пептиды, полученные из молочных белков, в основном ассоциированы с казеиновыми белками, гидролиз сывороточных белков также может привести к выработке антиоксидантных пептидов [8]. Последовательности некоторых антиоксидантных пептидов, полученных из α-лактальбумина и β-лактоглобулина, представлены в таблице [9–13].

Исследования, проведенные с пептидами из разных источников белка, показали, что роль биоактивных пептидов с помощью различных радикальных механизмов связана с преобладанием гидрофобных аминокислот, таких как аланин, пролин, валин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, триптофан, тирозин и метионин.

Впервые об антиоксидантных свойствах пептидов, полученных из сывороточных белков путем ферментативного гидролиза, было заявлено Hernández-Ledesma с соавторами [9]. Ими была исследована антиоксидантная активность гидролизатов из сывороточных белков коровьего α-лактальбумина и β-лактоглобулина коммерческими протеазами (пепсин, трипсин, химотрипсин, термоллизин и королаза PP). Королаза PP была наиболее подходящим ферментным препаратом для получения антиоксидантных гидролизатов из α-лактальбумина и β-лактоглобулина (значения ORAC-FL 2,315 и 2,151 ммоль ТЭ/г белка соответственно). Королаза PP представляет собой сложную смесь ферментов, соответствующих препарату поджелудочной железы, содержащему эндопептидазы и экзопеп-

Исходный белок	Антиоксидантные пептиды, полученные из сывороточных белков		
	Фермент	Аминокислотная последовательность	Фрагменты протеина
α-Лактальбумин	Термоллизин	INW	f (100–103)
		INWV	f (101–104)
		LDQW	f (115–118)
β-Лактоглобулин	Королаза PP	WYSLAMAASDI	f (19–29)
		MHIRL	f (145–149)
		YVEEL	f (42–46)
	Термоллизин	FNPTQ LQKW LDTDYKK	f (151–155) f (58–61) f (95–101)
	Трипсин	VAGTWY	f (15–20)
	Алкалаза	WYSL	f (19–22)

тидазы, которые синергически действуют на белки, что приводит к обширному расщеплению. Авторами всего были идентифицированы 42 пептидных фрагмента в гидролизате β -лактоглобулина с помощью королазы PP. Значения ORAC-FL для гидролизатов, полученных из α -лактальбумина и β -лактоглобулина А, варьировались от 0,667 до 2,954 ммоль ТЭ/мг белка. Гидролизаты, полученные из α -лактальбумина с помощью королазы PP и химотрипсина (2,954 и 2,528 ммоль ТЭ/мг белка соответственно) и β -лактоглобулина с помощью королазы PP (2,151 ммоль ТЭ/мг белка), показали самую высокую антиоксидантную активность. Одна из последовательностей WYSLAMAASDI f (19–29) обладала способностью поглощать радикалы (значение ORAC-FL 2,621 ммоль ТЭ/мг белка) выше, чем у бутилированного гидроксианизола (БГА) (2,43 ммоль ТЭ/мг БГА). БГА в настоящее время используется в пищевой промышленности в качестве синтетического антиоксиданта, хотя его потенциальные неблагоприятные эффекты стимулировали его замену новыми природными антиоксидантами. Результаты данных исследований подтверждают, что гидролизаты сывороточного белка могут быть пригодны в качестве натуральных ингредиентов для усиления антиоксидантных свойств функциональных пищевых продуктов и предотвращения реакции окисления при переработке пищевых продуктов [9].

В исследованиях Contreras с соавторами после гидролиза концентрата сывороточных белков термолизинном активность гидролизатов по поглощению радикалов возрастала в 16 раз, показывая, что значения ORAC-FL находились в диапазоне от 0,832 до 2,572 ммоль ТЭ/мг белка [10]. Авторами было идентифицировано 19 полученных из β -лактоглобулина фрагментов. Данные фрагменты представляли собой небольшие пептиды, содержащие от трех до десяти аминокислотных остатков. Шесть из этих пептидов, а именно LIVTQT, LKPTREGD, LQKW, IIAEKTQIP, VRTPE и VDDEA, ранее были обнаружены в пермеатах из коммерческого β -лактоглобулина, гидролизованного термолизинном. Фрагменты LQKW и LDTDYKK содержат аминокислоты с антиоксидантной активностью, что указывает на их важный вклад в антиоксидантные свойства концентратов сывороточных белков, гидролизованных термолизинном. Также отмечено, что пептид LQKW оказывает ингибирующую активность в отношении ангиотензинпревращающего фермента и обладает антигипертензивным действием на спонтанно гипертензивных крыс. Некоторые из гидролизатов сывороточных белков, полученных с использованием термолизина, проявляли сильную активность по поглощению радикалов. Наибольшая антиоксидантная активность (2,57 ммоль ТЭ/мг белка) была обнаружена в сывороточных концентратах, гидролизованных термолизинном через 8 ч при 80 °C и субстрат-ферментном соотношении 0,1 % [10].

В исследованиях Sadat с соавторами после гидролиза молочной сыворотки термолизинном были идентифицированы пептиды из α -лактальбумина с антиоксидантными свойствами. Наиболее эффективную антиоксидантную активность проявляли фрагменты, содержащие по меньшей мере один остаток тирозина или триптофана, расположенный на одном из концов последовательности INYW и LDQW. Они обладали способностью поглощать радикалы в 5 и 10 раз соответственно выше, чем галловая кислота и Тролокс, испытанные в тех же экспериментальных условиях [11].

Power O. с соавторами исследовали гидролизат молочной сыворотки, полученный с использованием фермента трипсин. Интересно, что из этого гидролизата был идентифицирован фрагмент β -лактоглобулина VAGTWY, являющийся многофункциональным биоактивным пептидом, поскольку он проявляет как значительную антиоксидантную, так и гипотензивную и анти-микробную активности [12].

Американскими учеными также был исследован биокатализ сывороточных белков различными протеазами, а именно трипсином, пепсином, алкалазой, проматексом, флаурзимом или протеазой N. Гидролизат, вырабатываемый алкалазой 2.4L, показал наивысшую антиоксидантную активность, были выделены семь различных пеп-

тидов, демонстрирующих сильную антиоксидантную активность. Антиоксидантный пептид WYSL проявлял наивысшую активность по удалению радикалов DPPH и активность по поглощению супероксидных радикалов со значениями концентраций полумаксимального ингибирования 273,63 и 558,42 мкМ соответственно [13].

Проанализировав данные, изложенные в публикации, можно заключить, что с точки зрения конверсии сывороточных белков с получением продукта с минимально возможным содержанием свободных аминокислот наиболее перспективно использовать ферментные препараты алкалаза и термолизин.

Данные ученых, изложенные в статье, еще раз доказывают целесообразность использования в качестве основного источника сырья для получения функциональных пептидных композиций именно молочной сыворотки, ключевыми белковыми компонентами которой служат β -лактоглобулин и α -лактоальбумин, которые, в свою очередь, являются важным источником биологически активных пептидов, в том числе и с антиоксидантной активностью. В то же время биотехнологическая конверсия белков молочной сыворотки с целью получения пептидов, обладающих доказанными антиоксидантными свойствами, является весьма перспективным процессом с точки зрения обогащения продуктов натуральными антиоксидантами. Это особенно актуально при рассмотрении потенциальных рисков для здоровья, связанных с синтетическими антиоксидантами.

Так как многие сывороточные пептиды обладают, помимо антиоксидантной активности, целым рядом биофункциональных свойств (гипотензивными, иммуномодулирующими, антимикробными), в целом они могут рассматриваться в качестве перспективных пищевых ингредиентов при создании продуктов функциональной направленности.

Список литературы

1. Smithers, G.W. Whey and whey proteins – From «gutter-to-gold» / G.W.Smithers // International Dairy Journal. 2008. Vol. 18. P. 695–704.
2. De Boer, R. From milk by-products to milk ingredients: Upgrading the cycle / R.DeBoer // Chichester, UK: John Wiley & Sons. 2014. – 288 pp.
3. Korhonen, H. Bioactive peptides: Production and functionality / H.Korhonen, A.Pihlanto // International Dairy Journal. 2006. Vol. 16. P. 945–960.
4. Corrick, A.P.F. Antioxidant, antihypertensive and antimicrobial properties of ovine milk caseinate hydrolyzed with a microbial protease / A.P.F.Corrick [et al.] // Journal of the Science of Food and Agriculture. 2011. Vol. 91. P. 2247–2254.
5. Hernández-Ledesma, B. Dairy protein hydrolysates: Peptides for health benefits / B.Hernández-Ledesma [et al.] // International Dairy Journal. 2004. Vol. 38. P. 82–100.
6. Niki, E. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects / E.Niki [et al.] // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2005. Vol. 338. P. 668–676.
7. Peng, X. Reducing and radical-scavenging activities of whey protein hydrolysates prepared with alcalase / X.Peng [et al.] // International Dairy Journal. 2010. Vol. 20. P. 360–365.
8. Zhou, D. In vitro antioxidant activity of enzymatic hydrolysates prepared from abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) viscera / D. Zhou [et al.] // Food and Bioprocess Technology. 2012. Vol. 90. P. 148–154.
9. Hernández-Ledesma, B. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of peptides by ESI/MS/MS / B.Hernández-Ledesma [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005. Vol. 53. P. 588–593.
10. Contreras, M.M. Production of antioxidant hydrolysates from a whey protein concentrate with thermolysin: Optimization by response surface methodology / M.M.Contreras [et al.] // LWT Food Science and Technology. 2011. Vol. 44. P. 9–15.
11. Sadat, L. Isolation and identification of antioxidant peptides from bovine α -lactalbumin / L.Sadat [et al.] // International Dairy Journal. 2003. Vol. 23. P. 214–221.
12. Power, O. Selective enrichment of bioactive properties during ultrafiltration of a tryptic digest of β -lactoglobulin / O.Power [et al.] // Journal of Functional Foods. 2014. Vol. 9. P. 38–47.
13. Zhang, Q.X. Isolation and identification of antioxidant peptides from whey protein enzymatic hydrolysate by consecutive chromatography and ESI/MS / Q.X.Zhang [et al.] // Journal of Dairy Research. 2013. Vol. 80. P. 267–272.