

Об усвояемости белка, сшитого трансглутаминазой

Д-р техн. наук, заслуженный работник пищевой индустрии **З.С. ЗОБКОВА**,
канд. техн. наук **Т.П. ФУРЦОВА**,
канд. техн. наук **Д.В. ЗЕНИНА**,
А.Д. ГАВРИЛИНА,
И.Р. ШЕЛАГИНОВА
ВНИИ молочной промышленности

Предыдущая публикация (журнал «Молочная промышленность» № 4, 2020 г.) была посвящена отдельным аспектам применения трансглутаминазы в пищевой промышленности мира. В настоящей статье рассмотрено ее влияние на аллергенность и усвояемость белков.

Общеизвестно, что технологическая обработка может изменить аллергенную активность пищи вследствие изменения эпитопов аллергенных белков [1, 2]. В процессе обработки белки могут образовывать олигомеры, денатурировать, деградировать, агрегировать, сшиваться, фрагментироваться и повторно соединяться [Maleki, 2004; Mills etc., 2008, 2009]. Эти изменения ответственны за увеличение или уменьшение устойчивости пищи к перевариванию, что также может повлиять на аллергенный потенциал пищевых белков, которые после преодоления кишечного барьера, сохраняя достаточную структурную целостность, взаимодействуют с кишечной ассоциированной лимфоидной тканью [Astwood etc., 1996]. По этой причине важно оценить устойчивость к пищеварению обработанных белков как части пищевой матрицы, в которой они обычно употребляются.

В настоящее время зарубежной пищевой промышленностью используется ферментативное сшивание белков микробной трансглутаминазой (мТГ) с целью стабилизации структуры пищи. Этот метод стал привлекательным по разным причинам и не исключено, что и на российском рынке могут появляться молочные продукты, произведенные с использованием этой технологии.

Что касается аллергенности самого фермента, то различными исследованиями установлено, что мТГ не пред-

ставляет опасности. В частности, Paderesen M.H. et al. (2004) проведена оценка рисков по исследовательскому протоколу в соответствии с Руководящими указаниями «Дерева решений ФАО/ВОЗ». Поиск в базе данных показал, что фермент не имеет гомологии с известными аллергенами. Однако существует совпадение на пяти смежных уровнях аминокислот с основным аллергеном рыбы парвальбумином rGad c1. Потенциал перекрестной реактивности между мТГ и rGad c1 исследован с использованием сывороток от 25 пациентов с подтвержденной аллергией на треску и экстракт сырой трески. Связывания между IgE пациентов и мТГ не наблюдалось. На основании полученных результатов сделан вывод, что проблем с безопасностью в отношении аллергенного потенциала мТГ не обнаруживается.

За последние годы выявлено несколько высокомолекулярных аллергенов. Аллергическая астма признана основной причиной профессиональных заболеваний дыхательных путей. В числе веществ, способных вызывать аллергические реакции, присутствуют и промышленно используемые ферменты. Среди аллергических реакций, вызванных термостабильной эндо-альфа-амилазой (Termamyl®), высокощелочной протеазой (Savinase®) и др., есть сообщение о случае профессиональной астмы, инициированной трансглутаминазой у работника компании, которая выпускает ингредиенты для пищевой промышленности [De Palma etc., 2014].

Во всем мире изучаются постпрандиальные эффекты ферментативно сшитых белков животного происхождения. Микробные ТГ, как и тканевые, дезаминируют/трансаминируют глютен и, сшивая белки, могут изменять их антигенные свойства из-за повышения устойчивости белка к собственным протеиназам организма и, как следствие, неполному расщеплению чужеродного белка. При повышенной кишечной роницаемости это может приводить к увеличению антигенной нагрузки на иммунную систему организма [Lerner, Torsten, 2015; Monogioudi etc., 2011]. Помимо

этого опасения по поводу широкого применения мТГ связаны с вопросом биодоступности лизина обработанных продуктов, так как в результате воздействия мТГ образуются изопептидные связи между глутамином и лизином (G-L). Это может привести к снижению усвояемости незаменимых аминокислот.

Считается, что кисломолочные продукты обладают более низким антигенным потенциалом, чем молоко, а некоторые молочнокислые бактерии в разной степени могут изменять иммунореактивность белков коровьего молока. Определенные штаммы молочнокислых бактерий обладают доказанной способностью модулировать иммунные ответы хозяина, а также стимулируют продуцирование антител и активность макрофагов, ингибируют воспаление кишечника и облегчают симптомы аллергических заболеваний и аутоиммунных нарушений. Благодаря этим и другим известным свойствам кисломолочные продукты применяются в лечебно-профилактическом питании [3–6].

Сшивание белка микробной трансглутаминазой в процессе производства кисломолочных продуктов может привести одновременно к образованию трудно перевариваемых олигомеров и связыванию белков и пептидов с участками эпитопов, что может повысить или понизить их иммунореактивный потенциал.

Изучению влияния ферментативного сшивания на аллергенность молочных белков посвящены работы многих авторов [Wryblewska etc., 2011; Zhu etc., 1999; Monogioudi etc., 2010; Yamauchi etc., 1989; Stanic etc., 2010; Villas-Boas etc., 2012].

Wryblewska B. et al. (2011) установили, что кисломолочный напиток, полученный с использованием *Lb. acidophilus*, обладает уменьшенной иммунореактивностью всех основных аллергенов молока. Применение сшивающего фермента мТГ вызывало дальнейшее снижение антигенного потенциала напитка в целом, особенно α - и κ -казеина, а также β -лактоглобулина. Сделан вывод, что одновременное применение *Lb. acidophilus* и мТГ может использоваться

для получения молочных продуктов с более низким содержанием антигенов, дополняющих рацион людей с пищевой аллергией на молочные белки.

Zhu Y. et al. (1995) также пришли к выводу, что фермент ТГ может уменьшить аллергенность белков. Monogioudi E. (2010) исследовано влияние ферментативного сшивания β -казеина на его усвояемость и аллергенность. В результате сшивания ТГ аллергенность нативного β -казеина снижалась на 6 %. Yamauchi et al. (1989) разработали метод, согласно которому аллергенность α_{s1} -казеина была уменьшена при выдержке его в воде с ТГ при 25 °С в течение 20 ч.

Многими исследователями рассмотрена переваримость изопептидных связей, образованных ТГ, и пищевая доступность связанного лизина в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [Yamauchi et al., 1989; Finot et al., 1978; Juvonen et al., 2012; Yokoyama et al., 2004; Aeschlimann, Paulsson, 1994; Hiller, Lorenzen, 2009 et al.].

Молоко не содержит G-L связей и тканевой ТГ в отличие от мяса, рыбы и других видов пищи. Нагревание индуцирует образование G-L связей вследствие химической дегидратации между γ -карбоксильной группой глутамата и ϵ -аминогруппой лизина [Seguro et al., 1996; Stanic et al., 2010]. Установлено, что сшитые белки и лизин во фрагменте G-L метаболизируются в организме. Безопасность фрагмента G-L подтверждается давно установленным привычным употреблением человеком приготовленных продуктов. После приема сшитых белков желудочно-кишечные ферменты расщепляют их на аминокислоты, но дипептид G-L остается нетронутым. Устойчивый дипептид G-L может абсорбироваться через ворсинчатую оболочку кишечника и транспортироваться в почки. Группа G-L в сшитых белках расщепляется почечным ферментом γ -глутамиламин циклотрансферазой и γ -глутамилтрансферазой кишечника, почек и крови. Поскольку в процессе расщепления участвует также АТФ-зависимый фермент 5-оксипролиназа, употребление большого количества сшитых белков приводит к потребности в большом количестве АТФ, что может увеличить нагрузку на почки.

Tang C.H. et al. (2008), Havenaar R. et al. (2013) исследовали переваривание поперечно сшитого ТГ казеината на модели пищеварения *in vitro*. Кинетика

пищеварения сшитого белка продукта не была изменена по сравнению с нативными продуктами питания.

По данным Villas-Boas et al. (2012), полимеризация трансглутаминазой β -лактоглобулина уменьшала его аллергенность *in vivo* и не снижала *in vitro* гуморальную или *ex vivo* опосредованную иммунореактивность.

Roos N. et al. (2003) сравнили переваримость и усвояемость казеината, сшитого ТГ, и нативного *in vitro* и *in vivo*. Протеолиз *in vitro* проводился с пепсином и панкреатином. Увеличение растворимого аминного азота как маркера степени расщепления достигало одного и того же уровня в обоих субстратах, что указывало на одинаковую степень протеолиза. Усвояемость этих казеинатов изучена на миниатюрных свиньях. Животным через канюлю на подвздошной кишке давали полусинтетический тестовый корм, содержащий 30 г нативного или сшитого казеината, которые были помечены стабильным изотопом ^{15}N . Переваримость белка определяли по извлеченным ^{15}N . Кинетика пищеварения была сходной. После тонкого кишечника извлечено $7,7 \pm 0,6$ и $8,1 \pm 0,6$ % азота нативного и сшитого казеината. Это соответствует 92,3 % переваримости нативного и 91,9 % сшитого белка. Результаты этого исследования показали, что сшивание казеината ТГ не изменяет нормальный физиологический процесс пищеварения и усвояемость белка.

В то же время известны работы, свидетельствующие об обратном [Monogioudi et al., 2010; Monogioudi, 2011; Rui et al. 2016].

Результаты исследований Rui X. et al. (2016) показали, что мТГ-индуцированный гель соевого белка независимо от концентрации имел значительно более низкую переваримость белка *in vitro* по сравнению с гелями, образованными под действием других коагулянтов.

Monogioudi E. (2010, 2011) показано, что ферментативно сшитый β -казеин более стабилен в кислых условиях желудка и более стоек к пепсину по сравнению с немодифицированным β -казеином.

Таким образом, однозначных данных о переваримости сшитых мТГ белков нет. Некоторые исследования продолжительности расщепления пепсином сшитого казеина показали, что изопептидные связи способствуют повышению устойчивости к протеолизу. Однако при моделировании двухфазного пищева-

рения показано, что даже наиболее сшитые белки в конечном итоге перевариваются после обработки их панкреатином.

С учетом вышесказанного на базе экспериментальной клиники-лаборатории биологически активных веществ животного происхождения ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова проведено сравнительное изучение биологической ценности и усвояемости белка творога, подвергнувшегося ферментной модификации, в биологическом эксперименте с крысами Вистар. По завершении опыта проанализированные гематологические и биохимические показатели крови экспериментальных животных не выходили за пределы физиологической нормы.

Для выявления нежелательных эффектов, связанных с потреблением продукта с частично сшитым белком, по окончании обменного периода опыта проанализированы показатели крови, характеризующие состояние лейкоцитов. Полученные результаты показали, что у животных опытной группы концентрация лейкоцитов была снижена на 20,4 % по сравнению с показателями контрольных животных преимущественно за счет снижения содержания лимфоцитов (свыше 25 %). Данная тенденция может указывать на возможность образования при расщеплении сшитых белков какой-то доли негидролизированных коротких пептидов, опосредованно влияющих на активацию иммунных реакций.

Полученные значения таких показателей, как потребление и экскреция азота, коэффициент эффективности белка (КЭБ опытного продукта – 0,94, контрольного – 0,83), коэффициент биологической ценности (БЦ опытного продукта – 98,99 %, контрольного – 98,31 %), истинная усвояемость азота ($D_{\text{ист}}$ опытного продукта – 99,6 %, контрольного – 98,2 %), азотистый баланс (А опытного продукта – 0,78, контрольного – 0,77) 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.

Таким образом, усвояемость белка, судя по приведенным выше результатам, не снижается. 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 [Juvonen etc., 2012; Hultsch etc., 2005].

Полученные данные показывают, что перекрестная сшивка белка, повышающая степень использования пищевого сырья при производстве творога и способствующая обогащению продукта лизином, по крайней мере, не оказывает при этом отрицательного влияния на его усвояемость и биологическую ценность. Это согласуется с данными de Souza C.F.V. et al. (2009), которые в экспериментах 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.

Заключение. Литературные данные свидетельствуют о том, что сшивание белков трансклутаминой может снижать их аллергенный потенциал. В некоторых случаях высокая степень сшивания белков может снижать также их

переваримость и усвояемость. Введение в рацион растущим крысам Вистар творога, изготовленного с использованием мТГ (в количестве 10 % белка от общей калорийности рациона), не оказывало отрицательного влияния на ростовые показатели животных и усвоение ими белка. В то же время отмечено перераспределение иммунных клеток крови крыс, что указывает на необходимость проведения дальнейших исследований.

М

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Харитонов, В.Д. К вопросу о перспективных направлениях борьбы с аллергией / В.Д. Харитонов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2012. № 9. С. 1–4.
2. Кручинин, А.Г. Использование протеолиза белков молока при разработке молочных продуктов со сниженной аллергенностью / А.Г. Кручинин, К.А. Рязанцева, Е.Ю. Агаркова // материалы Международной научно-практической конференции, посвященной памяти

Василия Матвеевича Горбатова «Развитие биотехнологических и постгеномных технологий для оценки качества сельскохозяйственного сырья и создания продуктов здорового питания». – М.: Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова. 2015. №1. С. 289–291.

3. Харитонов, В.Д. Продукты лечебного и профилактического назначения / В.Д. Харитонов, О.Б. Федотова // Молочная промышленность. 2003. № 12. С. 71.

4. Донская, Г.А. Функциональные молочные продукты / Г.А. Донская // Молочная промышленность. 2007. № 3. С. 52–53.

5. Ботина, С.Г. Синтез витаминов стартовыми культурами молочнокислых бактерий *Streptococcus thermophilus* / С.Г. Ботина, И.В. Рожкова, В.Ф. Семенихина // Хранение и переработка сельхозсырья. 2010. № 3. С. 54–56.

6. Королева, О.В. Функциональные свойства кислomолочных продуктов с гидролизатами сывороточных белков / О.В. Королева [и др.] // Молочная промышленность. 2013. № 7. С. 66–68.

реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама

Промышленные Холодильные Системы

143986, Московская обл., г. Железнодорожный,
Саввинское шоссе, д. 10, 5 этаж
www.phs-holod.ru, e-mail: info@phs-holod.ru
Тел./факс: +7(495) 221-22-79; 786-87-99; 522-10-00

г. Сургут (филиал) Тел./факс: (3462) 60-03-06; 74-78-69
г. Саратов (филиал) Тел./факс: (8452) 25-00-30; 72-40-29

ФРЕОНОВЫЕ ХОЛОДИЛЬНЫЕ АГРЕГАТЫ "ПХС"

Компрессорно-ресиверные и многокомпрессорные Серии АС, АП, АВ, МС, МП, МВ

- ✓ Использование комплектующих ведущих производителей, в т. ч. компрессоров различного типа:
 - поршневой (Copeland, Bock)
 - спиральный (Copeland)
 - винтовой (Bitzer)
- ✓ Средне-, низко- и высокотемпературный режим работы
- ✓ Работа на R404A, R507, R407C, R134a, R410A
- ✓ Широкий диапазон холодопроизводительности

Компрессорно-конденсаторные уличного исполнения Серии АСН(П), АНН(П), АВН, АСК, АВК

- ✓ Средне-, низко- и высокотемпературный режим работы
- ✓ Работа на R404A, R507, R407C, R134a, в т. ч. на R410A (серия АВК)
- ✓ Холодопроизводительность:
 - от 1,5 до 223 кВт (с полугерметичными компрессорами Bock)
 - от 1,5 до 300 кВт (со спиральными компрессорами Copeland)

Низкотемпературные каскадные (серия АК)

- ✓ Холодопроизводительность от 2 до 60 кВт
- ✓ Поддержание температуры в камере до -70°C
- ✓ Хладагенты:
 - верхняя ступень на R404A/R507
 - нижняя на R23

Тепловые насосы (серия ТН)

- ✓ Тепловой коэффициент преобразования (COP): 2,5–3,2
- ✓ Теплопроизводительность от 20 до 400 кВт (здания площадью до 10 000 м²)
- ✓ Использование в качестве охлаждаемой среды:
 - грунта (жидкость/жидкость). COP: 3,0...3,2
 - воздуха (жидкость/воздух). COP: 2,2...2,8
 - теплой сбросной воды с температурой +20...+30°C. COP: 6,5...7,5

Встроенная система регулирования производительности:

- цифровое регулирование Digital Scroll
- частотный преобразователь EFC

СДЕЛАНО В РОССИИ

реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама *** реклама

42 | МОЛОЧНАЯ ПРОМЫШЛЕННОСТЬ

№ 6, 2020