

Рязанцева Ксения Александровна, н.с., к.т.н.

ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (Россия, г.Москва)

ГИДРОЛИЗАТЫ СЫВОРОТОЧНОГО БЕЛКА КАК ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ ДЛЯ ВКЛЮЧЕНИЯ В ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ

*Аннотация. Сывороточные белки являются оптимальным источником биоактивных пептидов, участвующих в регуляции иммунной, сердечно-сосудистой, нервной и желудочно-кишечной систем. На сегодняшний день исследовательские данные для обоснования включения биоактивных пептидов в функциональные продукты питания представлены, главным образом, в исследованиях *in vitro* и реже *in vivo*. В статье описаны некоторые гидролизаты сывороточных белков, используемые в качестве ингредиентов в функциональных продуктах питания. Представлены данные о собственной разработке технологии йогурта с использованием гидролизата сывороточных белков, обладающего АПФ-ингибирующей и антиоксидантной активностями.*

Ключевые слова: молочная сыворотка, биоактивные пептиды, ферментативный гидролиз.

Ryazantseva Ksenia Aleksandrovna, scientist, Ph.D.

All-Russian Dairy Research Institute (Russia, Moscow)

WHEY PROTEIN HYDROLYSATES AS THE SOURCE OF PEPTIDES BIOLOGICAL ACTIVITY FOR THEI INCORPORATION INTO FUNCTIONAL FOOD PRODUCTS

*Abstract. Whey proteins are the optimal source of bioactive peptides participating in the regulation of immune, cardiovascular, nervous, gastrointestinal systems. For today the investigations data for substantiation to implement bioactive peptides into functional food products are presented mainly in the studies *in vitro* and less commonly *in vivo*. Some whey protein hydrolysates used as the ingredients in functional food products are described in the article. The data of our own development of yogurt technology production using whey protein hydrolysates, possessing APF-inhibiting and antioxidant activity are presented in the article.*

Key words: milk whey, bioactive peptides, fermentative hydrolysis.

В связи с ростом потребительского спроса на диетические продукты питания важно разрабатывать новые продукты с повышенной функциональностью [1]. Высокая пищевая ценность белков молочной сыворотки вместе с ее технологическими и биофункциональными свойствами в

виде гидролизированных пептидов превратили сыворотку в высокоценное сырье для пищевой промышленности с особым применением в производстве функциональных пищевых продуктов [2].

Биологически активные пептиды молочной сыворотки в настоящее время являются предметом интенсивных исследований. Они представляют собой последовательность аминокислот, которые зашифрованы в первичной структуре белков молока. Пептиды высвобождаются во время ферментативного расщепления *in vitro* или *in vivo* и путем микробной ферментации. Биологические активности, связанные с такими пептидами, включают иммуномодулирующие, антибактериальные, антигипертензивные, антиоксидантные, опиоидоподобные свойства, которые способствуют снижению риска различных хронических заболеваний [3].

В настоящее время молочные белки считаются основным источником биологически активных пептидов. О появлении этих пептидов уже сообщалось в кисломолочных продуктах, таких как йогурт, простокваша или кефир [4]. Кисломолочные продукты, по сведениям Семенихиной В.Ф., оказывают существенное влияние на состав и функциональное состояние микрофлоры кишечника [5]. Они имеют высокую диетическую ценность, улучшают обмен веществ, способствуют элиминации условно-патогенных микроорганизмов и положительно влияют на рост полезной микрофлоры [6,7].

Несколько исследований подтвердили применимость биоактивных пептидов к функциональным продуктам питания. Chatterjee A. с соавторами показали, что добавление гидролизата белков молочной сыворотки, полученного путем его гидролиза ферментом трипсин, к индийскому подслащенному йогурту значительно увеличивает его ингибирование ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и антиоксидантную активность. При этом показатели ингибирования АПФ возрастали при хранении. Реологические показатели контрольных и экспериментальных образцов существенно не менялись в течение всего срока хранения. Однако на 14 сутки авторами было отмечено повышение горечи и, следовательно, снижение вкусовых показателей по сравнению с контрольным образцом, что может быть связано с протеолитической активностью, вызывающей увеличение тирозина и, таким образом, выражающей горечь [8].

Nafeez Z. с соавторами в своей работе предложили использовать биологически активные пептиды из молочных белков, включая сывороточные белки, для повышения функциональности кисломолочных продуктов и рассмотрели три стратегии производственных процессов: высвобождение пептидов непосредственно в кисломолочных продуктах; внесение пептидов в кисломолочные продукты; производство биологически активных пептидов с использованием технологии рекомбинантных ДНК [9].

Minj S. и Anand S. разработали термостойкий конъюгированный раствор путем инкапсулирования пробиотиков в матрицу сывороточного белка. Образцы концентрата, изолята и гидролизатов сывороточного белка подвергали скринингу на биоактивность (антимикробную, антиоксидантную и

антигипертензивную активность) и гидролизат с наибольшей биоактивностью конъюгировали с мальтодекстрином для получения термостойкого конъюгированного раствора. Такой раствор авторы исследования предлагают применять в функциональных продуктах питания [10].

В работе Золотарева Н.А. с соавторами изучена возможность добавления к творогу гидролизованных белков молочной сыворотки с целью придания дополнительных функциональных свойств. Концентрат сывороточных белков подвергали гидролизу ферментным препаратом, продуцируемым *Aspergillus niger*. Введение гидролизата сывороточного белка в количестве 30% в рецептуру творога способствовало повышению стабильности молочно-белкового продукта, позволило заменить жировую составляющую (сливки) на источник биологически активных пептидов (соотношение гидролизата и сливок составляло 2:3). Продукт характеризуется улучшенными органолептическими показателями, хорошими свойствами пенообразования, прогнозируемой стабильностью при хранении. Как отмечает автор работы, творожный гидролизат сывороточного белка, обладающий биофункциональными свойствами, позволяет рекомендовать продукт для включения в рационы для профилактического питания [11].

Постоянное развитие в последние два десятилетия технологий производства сывороточных биоактивных пептидсодержащих пищевых продуктов в промышленных масштабах привело к появлению нескольких продуктов на международном рынке [12,13]. В таблице перечислены биоактивные пептиды, которые получены из сывороточных белков и используются в качестве ингредиентов в функциональных продуктах питания [14].

Таблица – Коммерчески продаваемые функциональные пищевые ингредиенты на основе биологически активных пептидов, полученных из белков молочной сыворотки

Название продукта	Производитель	Тип продукта	Биологическое действие
Линия продуктов BioZate®	Davisco, США	Изолят гидролизованного белка молочной сыворотки	Снижение артериального давления
BioPureGMP™	Davisco, США	Изолят сывороточного белка GMP f(106-169)	Профилактика кариеса, свертываемости крови, антибактериальная, противовирусная активности
Hilmar™ 8390	Hilmar Ingredients, США	Гидролизат сывороточного белка	Ингибирование АПФ, ингибирование фермента DPP-IV
NOP-47™ Glanbia	Nutrionals, США	Изолят гидролизованного белка молочной сыворотки	Противовоспалительные свойства

Методы мембранной фильтрации (ультрафильтрация и нанофильтрация) являются единственными методами, которые обогащают гидролизаты молочной сыворотки биологически активными пептидами [13]. Множество исследований указывает на то, что фракции сывороточных белков с молекулярной массой менее 10 кДа проявляют значительную биологическую активность по сравнению с пептидами большей длины [15-18].

На базе ФГАНУ «ВНИМИ» был разработан йогурт, содержащий гидролизат белков молочной сыворотки [19]. Изучение условий процесса ферментативной конверсии сывороточных белков, а также биологических эффектов молочных пептидов *in vitro* и *in vivo* проводилось в ФГБНУ Института биохимии им. А.Н. Баха РАН на базе лаборатории молекулярных основ биотрансформаций [20]. В сывороточном гидролизате, полученном с помощью ферментных препаратов Alcalase 2.4L и Protamex, были идентифицированы АПФ-ингибирующие пептиды, сохраняющиеся в условиях, моделирующих процесс переваривания в желудочно-кишечном тракте. Наиболее выраженным АПФ-ингибирующим действием обладали пептиды LDIQK и ALPMHIR, со значениями концентрации полумаксимального ингибирования IC₅₀, равные 17 и 43 мкМ соответственно. Среди этих пептидов фрагмент LDIQK сохранился после искусственного переваривания. К гидролизату сывороточных белков вносили нормализованное по жиру молоко согласно рецептуре и заквасочные культуры. Заквашенную нормализованную смесь сквашивали до образования сгустка с активной кислотностью (4,9±0,02) ед. рН. Далее проводили ультрафильтрацию сгустка при температуре (40±0,5) °С и давлении на входе (0,51±0,05) МПа. Продолжительность концентрирования составляла 1 час до достижения активной кислотности (4,58±0,02) ед. рН. Полученный в процессе ультрафильтрации концентрат охлаждали до температуры (5±1) °С с последующей выдержкой 14 часов. Полученный йогурт обладал АПФ-ингибирующей и антиоксидантной активностями, что позволяет рекомендовать данный продукт для профилактического питания [19].

Выводы. Молочная сыворотка, вырабатываемая в молочной промышленности, должна в большей степени применяться для создания ценных функциональных продуктов питания. Контролируемый гидролиз сывороточных белков является интересной и важной областью исследований для получения подходящих гидролизатов с прогнозируемыми биологически активными свойствами. Потенциал биологически активных пептидов, как средства для профилактики различных заболеваний, в настоящее время хорошо известен и, следовательно, может быть использован в качестве ингредиентов в функциональных продуктах питания. Тем не менее, несмотря на обширные исследования по выделению, характеристике и биологической

активности пептидов из сывороточных белков, на рынке имеется ограниченное количество коммерческих продуктов, содержащих биопептиды. Большая часть исследований биологической активности и потенциальной пользы для здоровья от пищевых пептидов была проведена в экспериментах in vitro или на животных моделях. Поэтому необходимы дальнейшие исследования, в том числе на людях, для установления безопасности белковых гидролизатов в составе функциональных продуктов питания.

Список литературы

1. Minj S, Anand S. Developing a dairy-based health formulation by combining the bioactive properties of whey protein hydrolysates and probiotic organisms // Journal of Dairy Science. 2019. Vol. 102. P. 82.
2. Yadav J.S.S., Yan S., Pilli S., Kumar L., Tyagi R.D., Surampalli R.Y. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides // Biotechnology Advances. 2015. Vol. 33(6). P. 756-774.
3. Mann B., Athira S., Sharma R., Kumar R., Sarkar P. Bioactive Peptides from Whey Proteins // Whey Proteins. 2019. Vol. 519-547.
4. Hafeez Z., Cakir-Kiefer C., Roux E., Perrin C., Miclo L., Dary-Mourot A. Strategies of producing bioactive peptides from milk proteins to functionalize fermented milk products // Food Research International. 2014. Vol. 63. P. 71-80.
5. Семенихина В.Ф., Рожкова И.В., Раскошная Т.А., Абрамова А.А. Разработка заквасок для кисломолочных продуктов // Молочная промышленность. 2013. № 11. С. 30-31.
6. Донская Г.А., Дрожжин В.М., Морозова В.В., Брызгалина В.В. Напитки кисломолочные, обогащенные сывороточными белками // Молочная промышленность. 2017. № 6. С. 68-70.
7. Зобкова З.С., Фурсова Т.П., Зенина Д.В., Гаврилина А.Д., Шелагинова И.Р. Кисломолочные продукты как составляющая функционального питания// Молочная промышленность. 2019. № 2. С. 44-46.
8. Chatterjee A., Kanawjia S.K., Khetra Y. Properties of sweetened Indian yogurt (mishti dohi) as affected by added tryptic whey protein hydrolysate // Journal of Food Science and Technology. 2015. Vol. 53(1). P. 824-831.
9. Hafeez Z., Cakir-Kiefer C., Roux E., Perrin C., Miclo L., Dary-Mourot A. Strategies of producing bioactive peptides from milk proteins to functionalize fermented milk products // Food Research International. 2014. Vol. 63. P. 71-80.
10. Minj S., Anand S. Developing a dairy-based health formulation by combining the bioactive properties of whey protein hydrolysates and probiotic organisms // Journal of Dairy Science. 2019. Vol. 102. P. 82.

11. Золотарёв Н.А., Федотова О.Б., Агаркова Е.Ю. Аэрированный творожный эмульсионный продукт с гидролизатом сывороточных белков // Молочная промышленность. 2018. № 8. С. 52-54.
12. Hettiarachchy N.S., Sato K., Marshall M.R., Kannan A. Bioactive Food Proteins and Peptides: Applications in Human Health // CRC Press. 2011. P. 164.
13. Korhonen H. Milk-derived bioactive peptides: From science to applications // J. Funct. Foods. 2009. Vol. 1(2). P. 177-187.
14. Dullius A., Goettert M.I., de Souza C.F.V. Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods – Biotechnological facilitation of industrial scale-up // Journal of Functional Foods. 2018. Vol. 42. P. 58-74.
15. Theolier J., Hammami R., Labelle P., Fliss I., Jean J. Isolation and identification of antimicrobial peptides derived by peptic cleavage of whey protein isolate // Journal of Functional Foods. 2013. Vol. 5. P. 706-714.
16. Pihlanto-Leppälä A., Marnila P., Hubert L., Rokka T., Korhonen H.J.T., Karp M. The effect of α -lactalbumin and β -lactoglobulin hydrolysates on the metabolic activity of Escherichia coli JM103 // Journal of Applied Microbiology. 1999. Vol. 87. P. 540-545.
17. Power O., Fernández A., Norris R., Riera F.A., Fitz R.J. Selective enrichment of bioactive properties during ultrafiltration of a tryptic digest of β -lactoglobulin // Journal of Functional Foods. 2014. Vol. 9. P. 38-47.
18. Nasri M. Protein Hydrolysates and Biopeptides: Production, Biological Activities, and Applications in Foods and Health Benefits. A Review // Advances in Food and Nutrition Research. 2017. P. 109-159.
19. Рязанцева К.А., Кручинин А.Г., Агаркова Е.Ю., Харитонов В.Д. Применение баромембранных процессов в технологии йогурта функциональной направленности // Хранение и переработка сельхозсырья. 2015. № 5. С. 36-41.
20. Торкова А.А., Рязанцева К.А., Агаркова Е.Ю., Кручинин А.Г., Центалович М.Ю., Фёдорова Т.В. Рациональный дизайн ферментных композиций для получения функциональных гидролизатов сывороточных белков коровьего молока // Прикладная биохимия и микробиология. 2017. Т. 53. № 6. С. 580-591.