

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРОЛИЗАТОВ БЕЛКОВ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ В ПРОЦЕССЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

Будкевич Р.О., Мартак А.А., Будкевич Е.В., Еремина А.И.
Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь,
budkev@mail.ru

В работе оценивали антиоксидантную активность гидролизатов белков молочной сыворотки на различных стадиях комплексного действия ферментов с параметрами, приближенными к физиологическим условиям пищеварения. Наибольшая антиоксидантная активность выявлена при гидролизе изолята сывороточного белка Prolacta-95 после последовательного действия: 30 минут пепсина и 30 минут панкреатина. Антиоксидантная активность других образцов была ниже.

Введение. Разработка пищевых продуктов с заданными функциональными свойствами является одной из приоритетных задач пищевой биотехнологии. Актуальная проблема в этой области заключается в производстве антиоксидантов в пищевых матрицах, которые могут быть применены в широком спектре пищевых продуктов. В последние годы отмечается рост использования казеинатов и концентратов сывороточных белков для улучшения как текстуры, так и функциональных свойств молочных продуктов [5, 6, 9]. Было показано, что сывороточные белки являются богатыми источниками биоактивных пептидов с высокой антиоксидантной активностью [4, 7, 8, 10, 11]. Исследование, проведенное Mohan и др. [8], связанное с ферментативным гидролизом сывороточных белков, показало, что даже низкая степень гидролиза вызывает значительные структурные изменения, которые приводят к образованию гидролизатов с повышенной антиоксидантной активностью. Поэтому субстраты на основе сыворотки можно считать перспективным источником антиоксидантов для широкого ассортимента молочных и кондитерских изделий.

Целью исследования было оценить антиоксидантную активность (АОА) с использованием амперометрического метода на различных стадиях гидролиза при действии протеолитических ферментов.

Материалы и методы

Объектами исследований являлись концентрат и изоляты сывороточных белков молока от различных производителей и с различным процентным содержанием белка: концентрат сывороточного белка (КСБ) 80% Lactomin-80 (Германия), изолят сывороточного белка (ИСБ) 90% Lactoprot-90 (Германия) и изолят сывороточного белка 95% Prolacta-95 (Франция). Массовая доля белка в концентратах определена по методу Кьельдаля (таблица 1).

На основании опубликованных данных, в настоящем исследовании был смоделирован процесс пищеварения в желудке, с параметрами, приближенных к физиологическим условиям пищеварения [3]. В качестве

ферментных препаратов были использованы пепсин свиной (100000 ЕД.) производства «ШАКО» (Россия) и панкреатин медицинский «Креон 25000» (амилаза 18000 ЕД, липаза 25000 ЕД, протеазы 1000 ЕД) производства «Эбботт Продактс ГмбХ» (Германия). Для установления оптимальной pH использовались NaOH и HCl.

Уровень антиоксидантной активности гидролизатов сывороточных белков, полученных путём комплексного воздействия протеолитических ферментов, был определён на приборе «Цвет Яуза-01-АА» с амперометрическим детектором. Калибровка прибора проводилась по галловой кислоте. Исследования проведены на базе НИЛ «Нанобиотехнология и биофизика» ЦБИ СКФУ в соответствии с инструкцией к прибору и ГОСТ Р 54037-2010.

На первом этапе эксперимента оценивали АОА восстановленных концентратов и изолятов сывороточных белков (К(И)СБ), затем белки были подвергнуты воздействию пепсина (30 минут), а, далее, панкреатина с отбором проб на 30, 60, 90, 120, 150 и 180 минутах его действия.

Таблица 1. – Основные характеристики К(И)СБ

К(И)СБ	Белок, %	Жиры, %	Углеводы, %	Содержание сухих веществ (СВ), %
КСБ 80	80,61±0,06	4,0	7,1	95,0
ИСБ 90	91,70±0,42	1,0	3,0	95,0
ИСБ 95	97,00±0,42	0,4	3,0	95,0

Результаты и их обсуждение

Концентрат и изоляты сывороточных белков восстанавливались в дистиллированной воде до массовой доли сухих веществ 30%. Восстановленные белки проявляли низкий уровень АОА в диапазоне 0,29 - 0,51 мг/дм³. Результаты полученных данных АОА представлены на рисунке 1.

Действие пепсина не повлияло на уровень АОА, что может быть связано с участием фермента в разрушении центральных пептидных связей, образованных с участием аминокислот - тирозина и фенилаланина, с разрушением белков до полипептидов. Ранее в наших исследованиях уже было показано, что ряд образцов сывороточных белков проявляют низкую АОА, а действие пепсина не позволял получить гидролизаты с повышенной АОА в условиях приближенных к пищеварению [1].

Продолжение гидролиза с использованием панкреатина во всех исследованных образцах К(И)СБ привело к росту АОА образцов гидролизата. Образец КСБ Lactomin-80 проявлял наименьший уровень АОА, с максимумом через 60 минут действия панкреатина. Гидролизат ИСБ Lactoprot-90 характеризовался ростом всех значений АОА в сравнении с КСБ-80, достигая наибольшего уровня на 120 минуте действия панкреатина. Наилучшие результаты АОА отмечены при гидролизе ИСБ Prolacta-95. Максимальные значения АОА достигнуты через 30 минут действия фермента. Сопоставление полученных данных с ранее опубликованными

показателями уровня белка [2] указывают на соответствие действия пепсина резкому падению уровня белка, что не изменяло уровень АОА. Начало реакции с панкреатином соответствует росту АОА при понижении уровня белка до 11,5 мг/мл, что может служить косвенным показателем оптимального уровня повышения АОА.

Таким образом, действие пепсина не влияет на АОА, но подготавливает белки для дальнейшего гидролиза. Наибольшая антиоксидантная активность выявлена при гидролизе изолята сывороточного белка Prolacta-95 после последовательного действия: 30 минут пепсина и 30 минут панкреатина. Антиоксидантная активность других образцов была ниже.

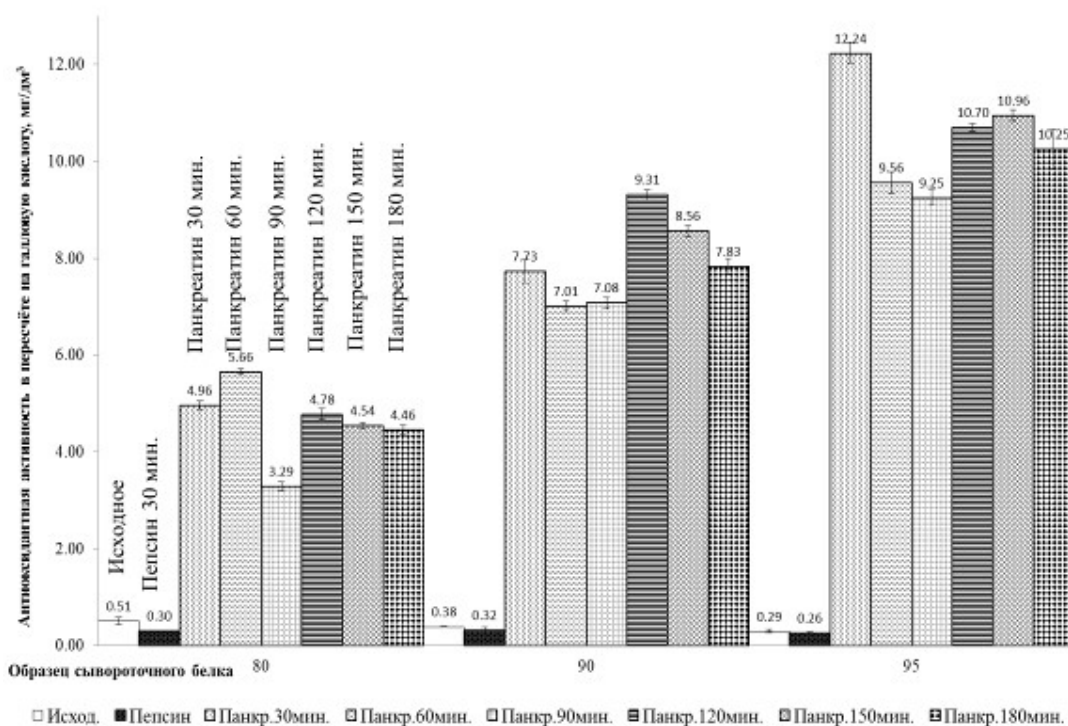


Рисунок 1 – Антиоксидантная активность на этапах гидролиза белков молочной сыворотки при комплексном воздействии протеолитических ферментов

Список литературы:

1. Будкевич Р.О. Антиоксидантная активность гидролизатов сывороточных белков молока, полученных с применением фермента пепсина / Р.О. Будкевич, А.В. Чаликова, С.А. Емельянов, Г.В. Слюсарев // Вестник АПК Ставрополя. – 2015. № 3 (19). – С. 18-21.
2. Мартак А.А. Применение комплексного воздействия протеолитических ферментов для гидролиза белков молочной сыворотки / А.А. Мартак, Р.О. Будкевич, Е.В. Будкевич, А.И. Еремина // Биоразнообразие, биоресурсы, вопросы химии, биотехнологии и здоровье населения Северо-Кавказского региона: Материалы V (62-й) ежегодной

научно-практической конференции «Университетская наука – региону» Северо-Кавказского федерального университета. – Ставрополь: Изд-во СКФУ, 2017. – С.53 – 56.

3. Рытченкова, О.В. Оптимизация процесса получения ферментативных гидролизатов белков молочной сыворотки с применением протеолитических ферментов / О.В. Рытченкова, А.А. Красноштанова // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 8. – С. 663 – 666.
4. Colbert L B and Decker E A (1991) Antioxidant activity of an ultrafiltration permeate from acid whey. *Journal of Food Science* 56 1248–1250.
5. Delikanli B and Ozcan T (2014) Effects of various whey proteins on the physicochemical and textural properties of set type nonfat yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 67 495–503.
6. Gauthier S F and Pouliot Y (2003) Functional and biological properties of peptides obtained by enzymatic hydrolysis of whey proteins. *Journal of Dairy Science* 86 E78–E87.
7. Hernandez-Ledesma B, Davalos A, Bartolome B and Amigo L (2005) Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC–MS / MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 588–593.
8. Mohan A, Udechukwu M C, Rajendran S R C K and Udenigwe C C (2015) Modification of peptide functionality during enzymatic hydrolysis of whey proteins. *RSC Advances* 5 97400–97407.
9. Philippopoulos C D and Papadakis M T (2001) Current trends in whey processing and utilization in Greece. *International Journal of Dairy Technology* 54 14–19.
10. Sugiarto M, Ye A and Singh H (2009) Characterisation of binding of iron to sodium caseinate and whey protein isolate. *Food Chemistry* 114 1007–1013.
11. Tong L M, Sasaki S, McClements D J and Decker E A (2000) Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 1473–1478.

ПРОИЗВОДНЫЕ ХИТИНА И ХИТОЗАНА В БИОТЕХНОЛОГИИ

Варламов В.П.

ФГУ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Институт биоинженерии,
г. Москва varlamov@biengi.ac.ru

В статье представлен обзор перспективных направлений использования хитина и хитозана в различных отраслях биотехнологии.

В настоящее время практическое использование природных полисахаридов, а также их разнообразных модификаций неуклонно растёт. Исследования роли углеводсодержащих биополимеров являются одной из