

УДК 637.047

Е. Ю. Агаркова, А. Г. Кручинин

## **Ферментативная конверсия как способ получения биологически активных 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. Рассмотрены основные виды протеолиза белков молока и доказано преимущество ферментативного катализа перед щелочным и кислотным. Представлены данные по использованию гидролизатов молочных белков в различных сферах специализированного и лечебно-профилактического питания в зависимости от степени гидролиза и молекулярной массы пептидов. Проанализирована субстратная специфичность используемых в молочной промышленности ферментных препаратов с точки зрения придания молочному белку определенных функциональных свойств. Описано влияние содержания в гидролизатах свободных аминокислот и необходимость подбора ферментных композиций с учетом данных об аминокислотной последовательности белка и субстратной специфичности фермента. При этом возможно получение белковых гидролизатов с приемлемыми органолептическими характеристиками и прогнозируемыми биологическими эффектами. Проведен анализ работ в области получения функциональных продуктов с использованием протеиносодержащего молочного сырья для получения белковых композиций с последующим созданием на их основе продуктов. Показана возможность использования стратегии направленного ферментативного гидролиза при получении пептидных композиций, обладающих гипотензивными свойствами за счет ингибирования ангиотензин-1-превращающего фермента (АПФ) короткими олигопептидами. Также в молочных белковых гидролизатах содержатся короткие пептиды, обладающие цитопротекторным и иммуномодулирующим действием. Помимо этого в гидролизатах белков молока выявлено наличие антиоксидантной активности по отношению к различным радикалам в системах с окислением липидов.

**Ключевые слова:** функциональные свойства, гидролиз, ферменты, биологические эффекты.

### **Введение**

Современный рынок пищевых продуктов демонстрирует стабильный рост разработки и получения продуктов с использованием пищевых ингредиентов, обладающих различными биологическими эффектами. В качестве таких ингредиентов могут служить белки молока и их отдельные фракции, обладающие антиоксидантными, гипотензивными, иммуномодулирующими, гипохолестеремическими и другими биологическими эффектами.

При современном многообразии технологических подходов к получению функциональных ингредиентов выбор конкретного решения обусловлен поставленной задачей. В обзоре представлены основные подходы и пути регулирования тех или иных биологических эффектов.

### **Результаты и обсуждение**

Белок в пищевом продукте выполняет две основные функции – структурную и пищевую. Его способность проявлять те или иные структурные функции (способность к быстрому растворению, гелеобразованию, пенообразованию) может быть охарактеризована так называемыми функциональными свойствами (ФС), которые определяются на основе поведения белка в системах, моделирующих реальные пищевые продукты или пищевые системы. Основными методами регулирования функциональных свойств белка (ФСБ) можно считать химические, физико-химические, ферментативные и др. [1].

Химическая обработка белков молока связана с воздействием на них различных реагентов, а именно: минеральные кислоты, щелочи и др. Однако такая гидролитическая обработка белка имеет ряд недостатков. Так, при щелочном гидролизе происходит разрушение таких аминокислот, как цистин, лизин, аргинин, серин, цистеин и образуются труднорастворимые комплексы, которые негативно влияют на пищевые свойства гидролизатов [2]. Что касается кислотного гидролиза, он имеет повышенные трудозатраты, так как возникает необходимость введения щелочей для нейтрализации кислотности, в результате чего образуются нежелательные соли, и происходят значительные потери незаменимых аминокислот [3]. Ферментативный же гидролиз, в отличие от вышеперечисленных, способен обеспечить максимально возможное сохранение питательной ценности и в итоге получить продукт с требуемой степенью гидролиза. При этом стоит учитывать, что ферменты обладают высокой избирательной способностью, поэтому необходим их предварительный подбор для осуществления направленного гидролитического воздействия на определенные химические связи в молекулах белка [2; 3].

Исследовательские работы доказывают, что гидролизаты молочных белков находят применение при производстве различных продуктов, в том числе детского и спортивного питания, низкоаллергенных и т. д. [4]. Наиболее интересным и востребованным является использование гидролизатов для создания функциональных продуктов массового потребления. Свойства, определяющие назначение гидролизатов, зависят в первую очередь от степени гидролиза (табл. 1).

Таблица 1. Характеристики пептидных композиций из молочных белков в зависимости от их назначения

Table 1. Characteristics of peptide compositions from milk proteins depending on their function

Тип пептидной композиции	Степень гидролиза, %	Назначение	Молекулярная масса компонентов, Да
Мало гидролизованная	до 5	Технологические добавки – пенообразователи, эмульгаторы	> 8 000
Средне гидролизованная	5–20	Функциональные продукты с пониженной аллергенностью, специализированные пищевые продукты для лечебного и спортивного питания	3 000–10 000, минимальное содержание свободных аминокислот
Глубоко гидролизованная	20–50	Гипоаллергенные пищевые продукты	< 3 000
		Продукты для зондового питания	< 1 000, 15–20 % свободных аминокислот
Очень глубоко гидролизованная	> 80 %	Смеси для парентерального питания	< 500, преобладание свободных аминокислот

Так, в спортивном питании и медицине применяются гидролизаты, содержащие от 15 до 20 % свободных аминокислот, ди-, три- и олигопептиды с молекулярной массой до 3 000 Да [4]. Для парентерального и внутривенного питания используются инфузионные растворы на основе индивидуальных аминокислот [2]. При проведении диетотерапии и в продуктах для детского питания важным моментом является полное устранение аллергенности. Например, для белков коровьего молока гипоаллергенность достигается при снижении молекулярного веса пептидов в гидролизате ниже 2 500–3 000 Да [2]. Также мало гидролизованные пептидные композиции из белков молока зачастую используются в качестве эмульгаторов и пенообразователей [5].

Очевидным преимуществом ферментативного гидролиза является то, что он в основном проводится при нейтральном pH, умеренных температурах (45–60 °C), что позволяет получать белковые гидролизаты с высокой биологической ценностью, поскольку полностью сохраняются термолабильные незаменимые аминокислоты (лизин, лейцин, аспарагиновая кислота, метионин, триптофан, цистеин и тирозин), не наблюдается выраженной рацемизации аминокислот и образования трудноусваиваемых циклических пептидов и дикетопиперазинов [2; 5].

Наряду с вышеперечисленными преимуществами во время ферментативного катализа высвобождаются пептиды и свободные аминокислоты (САК), которые влияют на вкусовые характеристики конечного продукта, а именно появляется горьковатый привкус или послевкусие [6]. Поэтому ферментные препараты должны подбираться таким образом, чтобы минимизировать количество САК при гидролизе. Помимо отрицательного влияния на органолептические свойства белковых гидролизатов, высокое содержание САК приводит к снижению их биологической ценности, так как скорость всасывания свободных аминокислот в тонком кишечнике человека значительно ниже, чем олигопептидов [6–8]. Исходя из этого, были проанализированы данные по субстратной специфичности протеолитических ферментных препаратов, используемых для гидролиза молочных белков [2; 5] (табл. 2).

В целом, стратегии получения белковых гидролизатов с заданными биофункциональными свойствами можно разделить на две основные группы [2; 5]:

- использование ферментных препаратов с достаточно широкой субстратной специфичностью – хаотичное расщепление пептидных связей в молекуле белка, при этом предугадать уровень придания тех или иных свойств не представляется возможным;
- направленный гидролиз белка с использованием данных о структуре исходного белкового сырья и специфичности протеолитических ферментов по отношению к расщепляемой пептидной связи.

Во втором случае появляется возможность прогнозирования последовательностей пептидов, отвечающих за определенные биофункциональные свойства гидролизатов, а также возможность их

регулирования за счет направленного подбора ферментов с определенной субстратной специфичностью, и следовательно, производства на их основе функциональных продуктов [2; 4; 5].

Таблица 2. Специфичность протеолитических ферментов и ферментных препаратов по отношению к расщепляемой пептидной связи  
Table 2. Specificity of proteolytic ferments and enzymatic preparations relating to split peptide link

Ферментный препарат	Происхождение	Специфичность
Протеиназа К	–	P1: A,E,F,I,L,T,V,W или Y
Трипсин	Поджелудочная железа свиньи или крупного рогатого скота	C-терм. F,Y,W,M,L
Химотрипсин	Поджелудочная железа свиньи или крупного рогатого скота	P1: Phe, Tyr, Trp
Alcalase субтилизин	<i>Bacillus licheniformis</i>	P1: крупные незаряженные аминокислоты – Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp
Глутамил-эндопептидаза		P1 – Glu, Asp
Neutrase	<i>Bacillus amyloliquefacience</i>	P'1 – Phe, Leu, Val
Термолизин	<i>Bacillus thermoproteolyticus</i>	P1': Ile, Phe, Leu, Val, Ala, Met
Protamex субтилизин	<i>Bacillus subtilis</i>	P1: незаряженные аминокислоты:
Нейтральная протеаза		P1: Phe, Leu, Val
Пепсин (рН 1,3)	Слизистая желудка свиньи или крупного рогатого скота	P1': F,L,W,Y P1: нет R P2: нет P P3: нет H,K,R P2': нет P
Пепсин (рН 2)	Слизистая желудка свиньи или крупного рогатого скота	P1': F,L P1: нет R P2: нет P P3: нет H,K,R P2': нет P

Государственная политика в области здорового питания в качестве основных задач ставит перед исследователями "развитие производств пищевых продуктов, обогащенных незаменимыми компонентами" и "продуктов функционального назначения, диетических (лечебных и профилактических) пищевых продуктов".

Условно, все функциональные продукты можно разделить на три группы: первая группа – "привносят хорошее", например, улучшают работу желудочно-кишечного тракта (пре- и пробиотики), вторая группа – способствуют коррекции различных патологий (способствуют снижению уровня артериального давления или холестерина), третья группа – не содержат определенных соединений, например без лактозы, без глютена и т. д. Основная масса ранее разработанных функциональных продуктов была обогащена витаминами и/или минеральными веществами. В дальнейшем стали разрабатываться продукты, обогащенные другими микронутриентами, такими как жирные кислоты, омега-3, растворимые пищевые волокна. В последнее время ведущие мировые компании приступили к активной разработке продуктов, оказывающих различные положительные эффекты на физиологическое состояние организма – "здоровье в одном продукте" [4; 5].

Анализ работ в области создания функциональных продуктов свидетельствует об активном развитии направления переработки протеиносодержащего молочного сырья для получения белковых композиций с последующим созданием на их основе продуктов. Многими исследователями доказано, что гидролизаты молочных белков способны снижать кровяное давление путем ингибирования ангиотензин-I-превращающего фермента (АПФ) короткими олигопептидами. При ингибировании АПФ снижается продукция ангиотензина II, обладающего мощным сосудосуживающим действием, увеличивается концентрация брадикинина и оксида азота (II), которые обладают сосудорасширяющим действием. Источниками АПФ-ингибирующих пептидов могут служить как пищевые продукты, непосредственно содержащие гидролизаты молочных белков (детские молочные смеси), так и ферментированные кисломолочные продукты (творог, кефир, йогурт и др.) и сыры [9–11]. Основные АПФ-ингибирующие пептиды, идентифицированные зарубежными и российскими специалистами как в гидролизатах молочных белков, так и ферментированных молочных продуктах, представлены в табл. 3.

Таблица 3. Пептиды, ингибирующие АПФ, идентифицированные в гидролизатах молочных белков и ферментированных молочных продуктах  
Table 3. ACEF-inhibiting peptides identified in milk protein hydrolysates and fermented milk products

Белок-предшественник	Источник	Последовательности пептидов	
Овечий $\beta$ -казеин	Сыр Manchego	VRGPFPP	
Овечий $\beta$ -казеин	Сыр	YQEPVLGP	
Бычий $\beta$ -казеин	Сыр Чеддэр	YQEPVLGPPVRGPFPIIV	
Бычий $\beta$ -лактоглобулин	Гипоаллергенные молочные смеси на основе гидролизатов сывороточных белков и казеина	LKP, ALPNV, PGPIHN, YVEEL, VAGTWY, LDAQSAPLR	
Бычий $\beta$ -казеин		YP	
Бычий $\kappa$ -казеин		YP, EIPT	
Бычий $\alpha$ s1-казеин		YP	
Бычий $\alpha$ s2-казеин		IPY	
Бычий $\beta$ -казеин	Кисломолочный напиток с закваской <i>Lactobacillus helveticus</i> , 44 образца твердых, полутвердых и мягких сортов сыра	IPP, VPP	
Бычий $\beta$ -лактоглобулин	Гидролизат $\beta$ -лактоглобулина	IDALNENK, ALPMHIR, GLDIQK, TKIPAVFK, VAGTWYSLAMAASDISLLDAQSAPLR	
Бычий $\beta$ -лактоглобулин	Антигипертензивный йогурт	LF, YL, LLF, LVR, ALPMH	
Бычий $\beta$ -казеин		FP, YP, LY, VRGPFPIIV, VPP, IPP, LPLP, IHPF, RDMPIQAF, AQTQSL, VLPQ, LNVPGEIVE, LHLPLP, EMPFPK, RGFPIIV, YQEPVL, DKHPF, KVLVPVQ, VLPVPQK, RELEEL, VPPFLQP, NVPGEIVE, NIPPLTQTPV, VYFPFGPIPN, TPVVVPPFLQP, LTQTPVVVPPF, LVYFPFGPIPNSLPQ, YQEPVLGPPVRGPFPIIV, NIPPLTQTPVVVPPFLQP	
Бычий $\kappa$ -казеин		YP, PPK, VTSTAV	
Бычий $\alpha$ s1-казеин		YP, YL, FF, LW, LPQ, PLW, FVAP, TTMLPW, AYFYPE, RPKHPIK, KTTMLPW, RPKHPIKHQGLPQ	
Бычий $\alpha$ s2-казеин		YL, TKV, KFALPQ, ALNEINQFY	
Бычий $\alpha$ -лактальбумин		LF, IW, WL, EW, YGL, WLAHK	
Бычий казеин		<i>in silico</i>	KVLILA
Овечий $\alpha$ s2-казеин		Овечий сыр типа Идиазабал	PRKEKLCTTS, NAGPFTPTVNREQLSTS
Овечий $\beta$ -казеин	YQEPVLGPPVRG		
Овечий $\beta$ -лактоглобулин	KALPMHIRLAF		
Овечий сывороточный альбумин	QNALIVRYTR, EGPKLVAS, KVGTKCCAKP, REKVLASS, PKIDAMREKVLA		
Бычий $\alpha$ -лактальбумин	Гидролизаты $\alpha$ -лактальбумин	YG, LF, YGL, YGFL, WLAHK, VGYNYWLAHK	
Бычий $\alpha$ s2-казеин	Пробиотический йогурт	TYLEE	
Бычий $\kappa$ -казеин		IPP, ARHPH	
Бычий $\beta$ -казеин		IPP, YQEPVL, RINKK, SLPQN, VPP	
Бычий $\beta$ -казеин	Молоко, ферментированное <i>Enterococcus faecalis</i>	VLGPPVRGPFPP, VVVPPF, LHLPLP, LTQTPVVVPPF, VRGPFPII, LHLPLPL, LVYFPFGPIPNSLPQNIPP, VLGPPVRGPFPIIV	
Бычий $\beta$ -казеин	<i>in silico</i>	FP	
Бычий $\beta$ -лактоглобулин		IPA	
$\beta$ -микроглобулин		GKP	
Бычий $\beta$ -лактоглобулин	Гидролизат $\beta$ -лактоглобулин трипсином	PEVDDEA	

Одними из первых АПФ-ингибирующих пептидов, содержащихся в кисломолочных напитках, идентифицированы трипептиды VPP и IPP. Их гипотензивный эффект был доказан в экспериментах *in vitro*, *in vivo* на крысах со спонтанной гипертензией линии SHR (spontaneously hypertensive rats), а также клинических испытаниях на пациентах с умеренной артериальной гипертензией [9; 12]. При этом доказано, что данные трипептиды устойчивы к перевариванию в желудочно-кишечном тракте. При дальнейших исследованиях АПФ-ингибирующие пептиды VPP и IPP были идентифицированы в составе функционального антигипертензивного йогурта, пробиотического йогурта и различных мягких, твердых и полутвердых сырах. Основываясь на данных табл. 3, стоит отметить, что источниками АПФ-ингибирующих пептидов в молочных продуктах могут выступать как казеины, так и сывороточные белки, а длина соответствующих биологически активных пептидов, как правило, не превышает десяти аминокислотных остатков. При этом белками-предшественниками для большинства идентифицированных АПФ-ингибирующих пептидов, входящих в состав молочных продуктов, являются  $\beta$ -казеины и  $\beta$ -лактоглобулин. Величина гипотензивного эффекта молочных продуктов, как считают, зависит от технологических условий их получения, определяющих в свою очередь качественный и количественный состав пептидных профилей продуктов [10–12].

Помимо АПФ-ингибирующих пептидов в молочных белковых гидролизатах были обнаружены короткие пептиды, обладающие цитопротекторным и иммуномодулирующим действием [13]. Среди пищевых источников иммуномодулирующих пептидов основной объем исследований посвящен гидролизатам белков молока, а также пептидам, выделенным из ферментированных молочных продуктов (сыры, кисломолочные продукты) и молозива [2].

Для большого числа пептидов, входящих в состав гидролизатов молочных белков и ферментированных молочных продуктов, выявлено наличие антиоксидантной активности по отношению к различным радикалам и в системах с окислением липидов (табл. 4). Основными механизмами антиоксидантного действия пептидов и аминокислот является прямое гашение свободных радикалов, связывание ионов металлов переменных валентностей, рециклинг восстановленных форм металлов переменных валентностей. Прямое гашение основано на восстановлении свободных радикалов антиоксидантами, приводящее к образованию продуктов, которые не могут поддерживать развитие радикально-цепных реакций. Связывание ионов металлов переменных валентностей, в основном ионов меди и железа, в устойчивые комплексы позволяет предотвратить их участие в реакциях перекисного окисления липидов в пищевых матрицах и биологических системах. С другой стороны, пептидные антиоксиданты могут также проявлять про-оксидантный эффект, который чаще всего обусловлен восстановлением ионов металлов переменных валентностей с последующим их участием в реакциях перекисного окисления [14].

Таблица 4. Антиоксидантные пептиды, идентифицированные в гидролизатах молочных белков и ферментированных молочных продуктах  
Table 4. Antioxidant peptides identified in milk protein hydrolysates and fermented milk products

Источник	Последовательности пептидов
Гидролизат коровьего казеина	YVL, YFYPEL, IQY, FALPQYLK, PYVRYL
Гидролизат овечьего казеина	YIPIQ, YAKPVA, SRYPSY, HPHPLSF, YQQRPAVL, PTVHSTPTTE, WQVLPNAVPAK, INNQFLPYPY
Гидролизат белков сыворотки молока	MHIRL, WYSLAMAASDI, YVEEL
Синтетические аналоги антиоксидантных пептидов, идентифицированных в гидролизате $\beta$ -лактоглобулина	WY, WYS, WYSL, WYSLA, WYSLAM, SALAM, WYSLAMA
Ферментированное молоко	HLPLPL, AKYIPIQYVLSRYPSY, IPIQYVL
Антигипертензивный йогурт	ARHHPHLSFM, VLPVPQK, HLPLPL
Гипоаллергенные молочные смеси на основе гидролизатов сывороточных белков и казеина	YVEEL
Сыр Рокфор	KEMPFKYPVE, YQEPVLGPVRGPFPI

Длина большинства антиоксидантных пептидов, идентифицированных в молочных продуктах, находится в пределах от 2 до 15 аминокислотных остатков, что соответствует диапазону молекулярных масс от 0,24 до 1,80 кДа (табл. 4). При этом ключевыми белками-предшественниками антиоксидантных пептидов, обнаруженных в молочных продуктах, являются  $\kappa$ - и  $\beta$ -казеины и  $\beta$ -лактоглобулин [15; 16].

С увеличением длины пептида возрастает вероятность образования элементов вторичной структуры, что приводит к возникновению стерических препятствий для взаимодействия гидрофобных аминокислот, например триптофана, со свободными радикалами. При уменьшении длины пептидов снижается интенсивность влияния аминокислотных остатков друг на друга. Помимо этого, пептиды молочных белков обладают более высокой антиоксидантной емкостью по сравнению с эквивалентной смесью свободных аминокислот [14].

Наличие остатков редокс-активных аминокислот (C, H, Y, W и M) является важным структурным дескриптором антиоксидантных пептидов, а наличие остатков гидрофобных аминокислот повышает

антиоксидантные свойства пептидов в системах, содержащих липидную фазу. Аминокислоты с ионогенными группами в боковых радикалах ответственны за связывание ионов металлов переменных валентностей, а наличие у гидролизатов молочных белков антиоксидантных свойств позволяет использовать их не только в качестве функциональных ингредиентов, но и технологических добавок для снижения интенсивности процессов перекисного окисления липидов и увеличения сроков хранения пищевых продуктов [14].

### Заключение

Результаты проведенного информационного анализа свидетельствуют о перспективности использования направленного ферментативного гидролиза молочного сырья с целью получения пептидных композиций с заданными биологическими свойствами. Для белковых гидролизатов, полученных из молочного сырья, в том числе и молочной сыворотки, описаны различные типы биологических активностей, среди которых гипотензивное и антиоксидантное действие в литературе упоминается наиболее часто. Добиться максимального выхода биологически активных пептидов, а также регулирования их биологических свойств возможно путем направленной биокаталитической конверсии с использованием данных о структуре исходного белкового субстрата и подбора ферментов с определенной специфичностью по отношению к расщепляемой пептидной связи. Таким образом, весьма перспективно использовать гидролизаты молочных белков при разработке новых функциональных продуктов.

### Библиографический список

1. Горбатова К. К. Биохимия молока и молочных продуктов. 3-е изд., перераб. и доп. М. : Гиорд, 2001. 320 с.
2. Агаркова Е. Ю. Разработка технологии функциональных эмульсионных аэрированных продуктов на основе трансформации полипептидных комплексов : автореф. дис. ... канд. техн. наук : 05.18.04. М., 2014. 26 с.
3. Антонов В. К. Химия протеолиза. М. : Наука, 1983. 367 с.
4. Королева О. В., Агаркова Е. Ю., Ботина С. Г., Николаев И. В., Пономарева Н. В. Функциональные свойства кисломолочных продуктов с гидролизатами сывороточных белков // Молочная промышленность. 2013. № 11. С. 7–10.
5. Харитонов В. Д. [и др.]. Инновационные технологии обогащения молочной продукции (теория и практика) : монография / под общ. ред. О. Б. Федотовой. М. : Франтера. 2016. 373 с.
6. Kim H.-O., Li-Chang E. C. Y. Quantitative structure – activity relationship study of bitter peptides // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006. V. 54, Iss. 26. P. 10102–10111.
7. Maehashi K., Huang L. Bitter peptides and bitter taste receptors // Cellular and Molecular Life Sciences. 2009. V. 66, Iss. 10. P. 1661–1671.
8. Li Y.-W., Li B. Characterization of structure – antioxidant activity relationship of peptides in free radical systems using QSAR models: Key sequence positions and their amino acid properties // Journal of Theoretical Biology. 2013. V. 318. P. 29–43.
9. Català-Clariana S., Benavente F., Giménez E., Barbosa J., Sanz-Nebot V. Identification of bioactive peptides in hypoallergenic infant milk formulas by capillary electrophoresis – mass spectrometry // Analytica Chimica Acta. 2010. V. 683, Iss. 1. P. 119–125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.10.002>.
10. Pritchard S. R., Phillips M., Kailasapathy K. Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese // Food Research International. 2010. V. 43, Iss. 5. P. 1545–1548. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.03.007>.
11. Meira S. M. M., Daroit D. J., Helfer V. E., Correa A. P. F., Segalin J. [et al.]. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay // Food Research International. 2012. V. 48, Iss. 1. P. 321–329. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.009>.
12. Gomez-Ruiz J. A., Ramos M., Recio I. Angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides in Manchego cheeses manufactured with different starter cultures // International Dairy Journal. 2002. V. 12, Iss. 8. P. 697–706. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00059-6](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00059-6).
13. Huang S.-M., Chen K.-N., Chen Y.-P., Hong W.-S., Chen M.-J. Immunomodulatory properties of the milk whey products obtained by enzymatic and microbial hydrolysis // International Journal of Food Science & Technology. 2010. V. 45, Iss. 5. P. 1061–1067. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02239.x>.
14. Sarmadi B. H., Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: A review // Peptides. 2010. V. 31, Iss. 10. P. 1949–1956. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.020>.
15. Hernandez-Ledesma B., Amigo L., Recio I., Bartolome B. ACE-inhibitory and radical-scavenging activity of peptides derived from  $\beta$ -lactoglobulin f(19–25). Interactions with ascorbic acid // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007. V. 55, Iss. 9. P. 3392–3397.
16. Hernandez-Ledesma B., Davalos A., Bartolome B., Amigo L. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005. V. 53, Iss. 3. P. 588–593.

## References

1. Gorbatova K. K. Biohimiya moloka i molochnyh produktov [Biochemistry of milk and dairy products]. 3-e izd., pererab. i dop. M. : Giord, 2001. 320 p.
2. Agarkova E. Yu. Razrabotka tehnologii funktsionalnyh emulsiionnyh aerirovannyh produktov na osnove transformatsii polipeptidnyh kompleksov [Development of technology for functional emulsion aerated products based on the transformation of polypeptide complexes] : avtoref. dis. ... kand. tehn. nauk : 05.18.04. M., 2014. 26 p.
3. Antonov V. K. Himiya proteoliza [Chemistry of proteolysis]. M. : Nauka, 1983. 367 p.
4. Koroleva O. V., Agarkova E. Yu., Botina S. G., Nikolaev I. V., Ponomareva N. V. Funktsionalnye svoystva kislomolochnyh produktov s gidrolizatami syvorotochnykh belkov [Functional properties of fermented milk products with hydrolysates of whey proteins] // Molochnaya promyshlennost. 2013. N 11. P. 7–10.
5. Haritonov V. D. [i dr.]. Innovatsionnye tehnologii obogascheniya molochnoy produktsii (teoriya i praktika) [Innovative technologies for enriching dairy products (theory and practice)] : monografiya / pod obsch. red. O. B. Fedotovoy. M. : Frantera. 2016. 373 p.
6. Kim H.-O., Li-Chang E. C. Y. Quantitative structure – activity relationship study of bitter peptides // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006. V. 54, Iss. 26. P. 10102–10111.
7. Maehashi K., Huang L. Bitter peptides and bitter taste receptors // Cellular and Molecular Life Sciences. 2009. V. 66, Iss. 10. P. 1661–1671.
8. Li Y.-W., Li B. Characterization of structure – antioxidant activity relationship of peptides in free radical systems using QSAR models: Key sequence positions and their amino acid properties // Journal of Theoretical Biology. 2013. V. 318. P. 29–43.
9. Català-Clariana S., Benavente F., Giménez E., Barbosa J., Sanz-Nebot V. Identification of bioactive peptides in hypoallergenic infant milk formulas by capillary electrophoresis – mass spectrometry // Analytica Chimica Acta. 2010. V. 683, Iss. 1. P. 119–125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.10.002>.
10. Pritchard S. R., Phillips M., Kailasapathy K. Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese // Food Research International. 2010. V. 43, Iss. 5. P. 1545–1548. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.03.007>.
11. Meira S. M. M., Daroit D. J., Helfer V. E., Correa A. P. F., Segalin J. [et al.]. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay // Food Research International. 2012. V. 48, Iss. 1. P. 321–329. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.009>.
12. Gomez-Ruiz J. A., Ramos M., Recio I. Angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides in Manchego cheeses manufactured with different starter cultures // International Dairy Journal. 2002. V. 12, Iss. 8. P. 697–706. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00059-6](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00059-6).
13. Huang S.-M., Chen K.-N., Chen Y.-P., Hong W.-S., Chen M.-J. Immunomodulatory properties of the milk whey products obtained by enzymatic and microbial hydrolysis // International Journal of Food Science & Technology. 2010. V. 45, Iss. 5. P. 1061–1067. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02239.x>.
14. Sarmadi B. H., Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: A review // Peptides. 2010. V. 31, Iss. 10. P. 1949–1956. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.020>.
15. Hernandez-Ledesma B., Amigo L., Recio I., Bartolome B. ACE-inhibitory and radical-scavenging activity of peptides derived from  $\beta$ -lactoglobulin f(19–25). Interactions with ascorbic acid // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007. V. 55, Iss. 9. P. 3392–3397.
16. Hernandez-Ledesma B., Davalos A., Bartolome B., Amigo L. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005. V. 53, Iss. 3. P. 588–593.

## Сведения об авторах

**Агаркова Евгения Юрьевна** – ул. Люсиновская, 35/7, г. Москва, Россия, 115093; Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, канд. техн. наук; e-mail: euagarkova@mail.ru

**Agarkova E. Yu.** – 35/7, Lusinovskaya Str., Moscow, Russia, 115093; All-Russian Research Institute of Dairy Industry, Cand. of Tech. Sci.; e-mail: euagarkova@mail.ru

**Кручинин Александр Геннадьевич** – ул. Люсиновская, 35/7, г. Москва, Россия, 115093; Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, канд. техн. наук, науч. сотрудник; e-mail: kruchinin-vnimi@yandex.ru

**Kruchinin A. G.** – 35/7, Lusinovskaya Str., Moscow, Russia, 115093; All-Russian Research Institute of Dairy Industry, Cand. of Tech. Sci., Research Scientist; e-mail: kruchinin-vnimi@yandex.ru

E. Yu. Agarkova, A. G. Kruchinin

### **Enzymatic conversion as a method of producing biologically active peptides**

The growth of food products output volume including dairy products enriched by food ingredients with different biological effects is caused by deterioration of socioeconomic conditions, unstable ecological situation and unbalanced nutrition. The basic types of milk proteins proteolysis and the benefit of enzymatic catalysis over alkaline and acid have been considered. The data relating to usage of milk proteins hydrolysates in different fields of specialized and medioprophyllactic nutrition depending on degree of hydrolysis and molecular weight of peptides have been presented. The substrate specificity of enzymatic preparations used in dairy industry in respect to impart the specified functional properties to milk protein has been analyzed. The impact of free amino-acids content in hydrolysates and the necessity to select enzymatic composition subject to the data relating to amino-acid sequence of protein and ferment substrate specificity has been described. Herewith protein hydrolysate obtaining with acceptable organoleptic properties and predicted biological effects is possible. The investigation analysis in the field of the functional products manufacture using protein containing milk raw material for production of protein compositions with the following creation of products on their basis has been carried out. The possibility to use the strategies of the directed enzymatic hydrolysis on obtaining of peptide compositions possessing hypotensive properties due to inhibition of angiotensin-1-converting ferment (ACF) by short oligopeptides has been demonstrated. Moreover, milk protein hydrolysates contain short peptides possessing cytoprotective and immunomodulatory action. Besides, milk protein hydrolysates exhibited the presence of antioxidant activity regarding different radicals in the systems with lipids oxidation.

**Key words:** functional properties, hydrolysis, enzymes, biological effects.