

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-224-232>

Поступила 22.03.2023

Поступила после рецензирования 14.06.2023

Принята в печать 19.06.2023

© Семенова Е. С., Симоненко Е. С., Симоненко С. В., Зорин С. Н., Петров Н. А., Мазо В. К., 2023

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПРОЦЕССА ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ МОЛОКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

Семенова Е. С.¹, Симоненко Е. С.^{1*}, Симоненко С. В.¹, Зорин С. Н.², Петров Н. А.², Мазо В. К.²¹ Научно-исследовательский институт детского питания — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи, Истра, Московская область, Россия² Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

сывороточные белки, гидролизат, ферментный препарат, молекулярно-массовое распределение

АННОТАЦИЯ

В связи с высокой распространенностью аллергических заболеваний у детей, особенно при переводе на искусственное вскармливание в раннем возрасте, актуальным направлением является разработка молочных и других продуктов питания с пониженной аллергенностью. При этом в России отсутствуют достаточные объемы производства сырья и ингредиентов для создания отечественной специализированной пищевой продукции, включая продукцию, предназначенную для детей. Использование сывороточных белков молока в производстве продуктов детского питания имеет преимущество, поскольку белки молочной сыворотки обладают достаточно высокой переваримостью и биодоступностью: после приема пищевых продуктов на основе сывороточных белков концентрация аминокислот и пептидов в крови резко возрастает уже в течение первого часа. Однако, следует учитывать, что аллергия к белкам коровьего молока является наиболее распространенным проявлением пищевой аллергии, особенно часто выявляемым в раннем постнатальном возрасте. Технологические подходы к снижению потенциальной аллергенности белкового компонента должны занять ведущее место в системе контроля и обеспечения безопасности детской молочной пищевой продукции. Наиболее эффективным и широко применяемым технологическим подходом к снижению потенциальной аллергенности пищевого белка для использования его в составе специализированных пищевых продуктов для питания лиц, страдающих пищевой аллергией или входящих в группу риска, является элиминация его антигенных структур. Она проводится путем ферментативного гидролиза, в сочетании с мембранной обработкой получаемого гидролизата. Для получения пептидного модуля с заданными физико-химическими параметрами требуется соответствующий выбор исходного белка, использование различных ферментов и варьирование такими технологическими параметрами, как уровень pH, температура, продолжительность экспозиции, фермент-субстратное соотношение и другие.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена на базе НИИ детского питания — филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» в рамках обеспечения условий выполнения работ гранта в форме субсидии на обеспечение проведения российскими научными организациями и (или) образовательными организациями высшего образования совместно с иностранными организациями научных исследований в рамках обеспечения реализации программы двух- и многостороннего научно-технологического взаимодействия, по соглашению между ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» и Минобрнауки России от 02 октября 2022 года № 075–15–2022–1211 по теме: «Разработка технологии получения специализированных молочных продуктов с пониженной аллергенностью для детского питания на основе гидролизатов молочных белков».

Received 22.03.2023

Accepted in revised 14.06.2023

Accepted for publication 19.06.2023

© Semenova E. S., Simonenko E. S., Simonenko S. V., Zorin S. N., Petrov N. A., Mazo V. K., 2023

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

STUDY OF PARAMETERS OF MILK PROTEINS HYDROLYSIS WITH THE HELP OF RUSSIAN-PRODUCED ENZYME PREPARATIONS

Elena S. Semenova¹, Elena S. Simonenko¹, Sergei V. Simonenko¹,
Sergei N. Zorin², Nikita A. Petrov², Vladimir K. Mazo²¹ Scientific Research Institute of Baby Food — a branch Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Istra, Moscow region, Russia² Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

KEY WORDS:

 whey proteins, hydrolyzate, enzyme preparation, molecular weight distribution

ABSTRACT

Due to the high prevalence of allergic diseases among the children, especially when transiting a child to bottle feeding at an early age, the development of dairy and other food products with reduced allergenicity is of high relevance and true importance nowadays. Meanwhile Russia still lacks sufficient production of raw materials and ingredients to create home-produced specialized food, including designated babies' and children's food. The use

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Семенова, Е. С., Симоненко, Е. С., Симоненко, С. В., Зорин, С. Н., Петров, Н. А., Мазо, В. К. (2023). Исследование параметров процесса гидролиза белков молока с использованием ферментных препаратов отечественного производства. *Пищевые системы*, 6(2), 224–232. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-224-232>

FOR CITATION: Semenova, E. S., Simonenko, E. S., Simonenko, S. V., Zorin, S. N., Petrov, N. A., Mazo, V. K. (2023). Study of parameters of milk proteins hydrolysis with the help of Russian-produced enzyme preparations. *Food Systems*, 6(2), 224–232. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-224-232>

of whey milk proteins for the production of baby food has its advantage, as whey proteins feature pretty high digestibility and bioavailability: after eating the food based on whey proteins, the concentration of amino acids and peptides in the blood increases dramatically already within the first hour. However, it should be kept in mind that allergy to cow's milk proteins is the most common symptom of food allergy, which is particularly often diagnosed in early postnatal age. Technological approaches to reduction of the potential allergenicity of the protein component shall take a leading place in the system of food control and food safety of children's dairy products. The most efficient and widely used technological approach to reduce the potential allergenicity of food protein is the elimination of its antigenic structures, which approach makes it possible to include this protein into the composition of specialized food, which is intended for the people who suffer from food allergies or for the people exposed to the allergy risk. The allergenicity is reduced by means of enzymatic hydrolysis in combination with membrane processing of the obtained hydrolyzate. To obtain a peptide module with pre-determined physical and chemical parameters, an appropriate selection of initial protein, application of various enzymes, and ranging of technological parameters like pH, temperature, exposure time, enzyme-substrate ratio and other parameters is required.

FUNDING: The research was conducted at the Research Institute of Baby Nutrition — a branch of the “Federal Research Center for Nutrition and Biotechnology” within the framework of ensuring the conditions for performing the work of a grant in the form of a subsidy for: ensuring that Russian scientific organizations and (or) educational organizations conduct higher education together with foreign organizations of scientific research as part of providing implementation of the program of bilateral and multilateral scientific and technological cooperation, according to the contract between the Federal State Budgetary Institution “Federal Research Center for Nutrition and Biotechnology” and the Ministry of Education and Science of Russia dated October 02, 2022 No. 075–15–2022–1211 on the topic: “Development of a technology for obtaining specialized dairy products with reduced allergenicity for baby food based on milk protein hydrolysates”.

1. Введение

Разработка молочных и других пищевых продуктов с пониженной аллергенностью является актуальным направлением пищевой технологии, и его развитие способствует совершенствованию качества и безопасности продуктов питания. К сожалению, в настоящее время отечественной пищевой промышленностью практически не производятся молочные продукты, предназначенные для питания детей, страдающих аллергией к белкам коровьего молока [1]. В России отсутствуют достаточные объемы производства сырья и ингредиентов для создания отечественной специализированной пищевой продукции, разработанной в том числе для детского питания. Импортозависимость приводит к удорожанию детских специализированных пищевых продуктов, производимых на территории РФ из привозного сырья, в среднем на 30%. Это связано с импортными пошлинами, которые составляют от 10 до 15%. Такое положение в связи с санкционными действиями в отношении России может составлять угрозу продовольственной безопасности населения нашей страны [2].

Вышеизложенное предопределяет необходимость безотлагательного расширения базы отечественного сырья и ингредиентов для производства молочной продукции, широко используемой в питании детского населения.

Общее содержание белков в молоке составляет от 2,9 до 4,0%, где основная часть белков молока представлена казеинами (78–85%), содержание сывороточных белков составляет от 15 до 22%. Использование сывороточных белков молока для производства продуктов детского питания имеет определенное преимущество, поскольку по своему аминокислотному составу (содержанию и соотношению незаменимых аминокислот) они превосходят казеины и многие другие пищевые белки. Белки молочной сыворотки обладают высокой переваримостью и биодоступностью: после приема пищевых продуктов на основе сывороточных белков концентрация аминокислот и пептидов в крови резко возрастает уже в течение первого часа [3]. Следует, однако, учитывать, что аллергия к белкам коровьего молока является наиболее распространенным проявлением пищевой аллергии, особенно часто выявляемым в раннем постнатальном возрасте [4]. В сывороточной фракции белков коровьего молока идентифицировано свыше 30 белковых антигенов, которые являются источником антигенной стимуляции и потенциальной аллергизации детского организма. Очевидна медико-социальная значимость проблемы, связанной с возможностями снижения проявлений этого заболевания

путем включения в составы специализированных пищевых продуктов для питания детей белковых компонентов с пониженной сенсибилизирующей активностью. Технологические подходы к снижению потенциальной аллергенности белкового компонента должны занять ведущее место в системе контроля и обеспечения безопасности детской молочной пищевой продукции.

Способность пищевого белка вызывать сенсибилизацию генетически предрасположенного к аллергическим проявлениям индивида зависит, во-первых, от наличия в его составе структур (эпитопов, аллергенных детерминант), способных вызвать специфическую активацию Th2-хелперов и выработку IgE антител. Во-вторых, пищевой белок может проявить свойства аллергена при нарушенном защитном барьере желудочно-кишечного тракта и при возможности контакта с иммунокомпетентными клетками организма. Риск проявления пищевым белком аллергенных свойств потенциально возрастает при его повышенной устойчивости к протеолизу в желудочно-кишечном тракте [5].

Антигенные структуры белка, распознаваемые иммунокомпетентными клетками и антителами, могут быть нескольких типов: «последовательные» эпитопы — короткие фрагменты пептидной цепи; «петлевые» эпитопы — также короткие фрагменты, но жестко стабилизированные дисульфидными мостиками; и «конформационные» эпитопы, образованные стерически сближенными в нативном белке аминокислотными остатками, принадлежащими к удаленным друг от друга участкам аминокислотной последовательности. Короткие фрагменты пищевых белков не иммуногенны и, соответственно, не аллергенны. В результате ферментативного гидролиза первичная структура белка разрушается, тем не менее протеолиз (даже при использовании сложных полиферментных систем) практически не идет до конца (образования смеси свободных аминокислот). В результате этого в ферментативных гидролизатах, не подвергнутых дальнейшему фракционированию, остаются некоторые нерасщепленные антигенные структуры. Наиболее распространенным и эффективным подходом к снижению потенциальной аллергенности пищевого белка является элиминация его антигенных структур путем ферментативного гидролиза с последующей мембранной обработкой полученного гидролизата. Данный способ позволяет использовать гидролизат в составе специализированных пищевых продуктов для людей, страдающих пищевой аллергией или находящихся в группе

риска. В результате удастся получать пептидные смеси, в которых содержание антигенных структур снижено на несколько порядков величины по сравнению с исходным белком и с его ферментативным гидролизатом [6–8]. Для получения пептидного модуля с заданными физико-химическими параметрами требуется выбор исходного белка, применение ферментов и изменение технологических параметров: уровня pH, температуры, времени экспозиции, фермент-субстратного соотношения и так далее. [9,10]. В качестве исходных субстратов для проведения протеолиза могут использоваться как инстантные индивидуальные белки, так и их смеси в виде концентратов или изолятов [11,12]. Целевое назначение использования ферментализата белка для пищевых целей определяет диапазон ферментов, которые могут применяться для производства гидролизатов пищевого белка.

На рынке присутствуют пищевые ферментные препараты из животных, растительных, микробных (бактериальных и грибковых) источников [13,14]. Ферменты животного происхождения, такие как трипсин, химо трипсин, пепсин и эластаза поджелудочной железы могут быть эффективно использованы для получения пищевых белковых ферментализатов. Специфичность этих ферментов тщательно изучена: выявлена определенная корреляция между высвобождением пептидов из белков молока при их переваривании в организме человека и имитацией *in vitro* переваривания в желудочно-кишечном тракте [15]. Достижение приемлемого органолептического вкуса гидролизата является немаловажной технологической задачей, поскольку известно, что по мере деструкции пептидных связей в продуктах гидролиза появляется горький вкус. Это может быть обусловлено наличием гидрофобных пептидов, молекулярные массы которых находятся в диапазоне 0,36–2,10 кДа и содержат концевые аминокислоты изолейцина, тирозина, фенилаланина и триптофана [16,17,18]. Для уменьшения горького вкуса предложен ряд методических подходов, к числу которых относят хроматографическую очистку на гидрофобных сорбентах (например, на активированном угле). Кроме этого, удалить горечь из пептидных смесей можно более глубоким гидролизом горьких пептидов [19–20], что, однако, может привести к снижению биологической ценности таких гидролизатов ввиду потери незаменимых аминокислот.

Для устранения горького вкуса гидролизатов белков перспективно использование нанофильтрации, позволяющей удалить из продукта соли, свободные аминокислоты и значительное количество коротких пептидов, придающих гидролизатам горечь [21].

Цель работы: получение ферментативных гидролизатов сывороточных белков коровьего молока и их ультрафильтратов с высоким содержанием низкомолекулярных пептидных фракций.

2. Объекты и методы

Объектом исследования в качестве белкового субстрата служил концентрат сывороточных белков коровьего молока (содержание белка 80,2%). В работе были использованы 2 образца ферментов: трипсин (ферментный препарат, получаемый из поджелудочной железы свиней, с активностью 2,31 пе/г (определена по Кунитцу М.)) [22] и протозим (ферментный препарат, получаемый путем направленной ферментации селекционного штамма *Bacillus licheniformis* с последующей очисткой и концентрированием, с активностью 50000 ед/г, по методу ФОЛП). За единицу протеолитической активности ФОЛП принято такое количество фермента, которое катализирует гидролиз 1 г казеина при температуре

40 °С, уровне pH 10,5 и времени гидролиза 1 ч в соответствии с ГОСТ 20264.2–88¹.

2.1. Условия гидролиза

Ферментативный гидролиз проводился в водяной термостатируемой бане с постоянным перемешиванием и поддержанием pH 1,0 М раствором NaOH. По окончании гидролиза полученный продукт инактивировался (75 °С) в течение 15 минут, охлаждался до комнатной температуры и центрифугировался на центрифуге Beckman J-6B (Beckman Coulter, США) при 3500 об/мин в течение 30 минут со сбором супернатанта. Супернатант в дальнейшем подвергался ультрафильтрации в тангенциальном потоке (установка для микро- и ультрафильтрации на базе фильтродержателя АСФ-018, («Владисарт», Россия)) через мембрану с размером пор 10 кД (на основе полиэфирсульфона) со сбором низкомолекулярной фракции.

Подбор оптимальных условий гидролиза включал определение влияния на процесс ферментализации времени реакции, значения pH, соотношения фермент/субстрат (по сухим веществам), температуры.

2.2. Подготовка проб гидролизата КСБ для хроматографии

Образец гидролизата белка объемом 5,0 мл помещают в полиэтиленовую пробирку объемом 2,0 мл, после чего проводится центрифугирование на центрифуге IKA G-L (IKA, Германия) в течение 15 минут при 15 000 об/мин. Аликвоту прозрачной части фильтруют через фильтрующую шприцевую насадку с размером пор 0,22 мкм в стеклянный флакон.

2.3. Методика анализа молекулярно-массового распределения

Молекулярно-массовое распределение получаемых гидролизатов оценивали методом эксклюзионной жидкостной хроматографии высокого давления на колонке «Супероза 12» (1,0*30 см) (Amersham, Швеция), предварительно откалиброванной по стандартным глобулярным водорастворимым белкам известной молекулярной массы.

При проведении исследований был использован хроматограф жидкостной изократический высокого давления со спектрофотометрическим проточным детектором УФ 132 (НПО «ХИМАВТОМАТИКА», Россия) с длиной волны 280 нм. Скорость элюирования составляла 0,40 мл/мин, объем образца, инжестируемого в колонку, — 100 мкл. В качестве элюента использовался 0,2 М раствор NaCl с добавлением азидата натрия. Хроматограммы делались в трех репликах и интегрировались весовым методом в диапазонах молекулярных масс, рассчитанных по калибровочной кривой колонки.

Определялся хроматографический профиль анализируемого ферментализата и выявлялось процентное содержание белково-пептидного материала в заданных диапазонах молекулярных масс относительно всей белковой пептидной смеси.

2.4. Статистический анализ

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ SPSS Statistics 20. Вычисляли среднее значение (М) и стандартную ошибку среднего (m). Данные представлены как $M \pm m$. Статистические различия между группами оценивали с использованием критериев Стьюдента и Манна-Уитни. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (р) принимали равным 0,05.

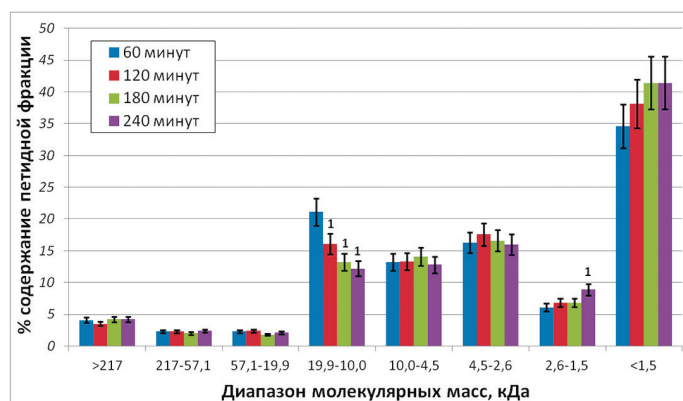
¹ ГОСТ 20264.2–88. Препараты ферментные. Методы определения протеолитической активности. Москва: Государственный комитет СССР по стандартам, 1988. — 16 с.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Получение и характеристика ферментативных гидролизатов КСБ

На Рисунках 1–8 приведены гистограммы, характеризующие профили молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе ферментативных гидролизатов КСБ, полученных при различных условиях протеолиза КСБ трипсином и протозимом. В Таблицах 1–4 приведены количественные значения процентного соотношения пептидных фракций в составах полученных гидролизатов.

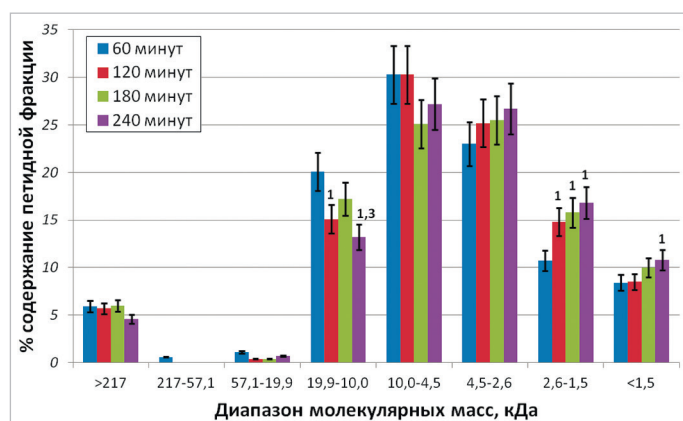
Продолжительность протеолиза белков сыворотки коровьего молока варьировала от 60 минут до 240 минут (Рисунки 1 и 2). Результаты, представленные в Таблице 1, свидетельствуют, что максимальное суммарное содержание «низкомолекулярных» пептидных фракций (менее 10 кДа) в составе гидролизатов было достигнуто при продолжительности протеолиза КСБ трипсином и протозимом в течение 2–3 часов. Дальнейшее увеличение продолжительности протеолиза не приводило к повышению суммарного содержания «низкомолекулярных» пептидных фракций в составе гидролизатов КСБ.



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с Т=60 мин, ($p \leq 0.05$).

Рисунок 1. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием трипсина, от времени протеолиза

Figure 1. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of trypsin, on duration of proteolysis



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с Т=60 мин, 3 — различия достоверны по сравнению с Т=180 мин, ($p \leq 0.05$).

Рисунок 2. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием протозима, от времени протеолиза

Figure 2. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of protozyme, on duration of proteolysis

Таблица 1. Влияние продолжительности протеолиза на суммарное содержание низкомолекулярных пептидных фракций в гидролизатах

Table 1. Effect of duration of proteolysis on the total content of low molecular weight peptide fractions in hydrolysates

Продолжитель- ность протео- лиза, мин	Суммарное содержание фракций менее 10 кДа (%)	
	Трипсиновый гидролизат	Протозимный гидролизат
60	70,2 ± 7,0	72,4 ± 7,2
120	75,8 ± 7,6	78,8 ± 7,9
180	78,9 ± 7,9	76,4 ± 7,6
240	79,1 ± 7,9	81,5 ± 8,2

Примечание: достоверных различий не выявлено.

Увеличение соотношения протеолитический фермент/белковый субстрат может обеспечивать более интенсивное протекание ферментативной реакции (особенно на начальной стадии протеолиза). Однако при масштабировании процесса для промышленного производства гидролизатов такое увеличение расхода фермента достаточно затратно. В нашем исследовании были использованы различные фермент-субстратные соотношения трипсин/КСБ (Рисунок 3) и протозим/КСБ (Рисунок 4). Суммарное содержание низкомолекулярных

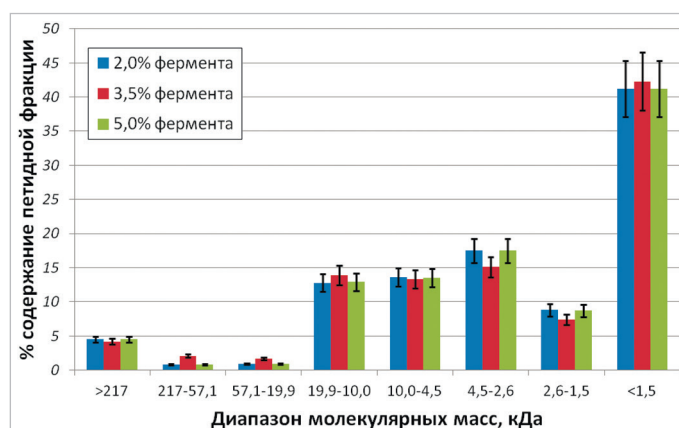
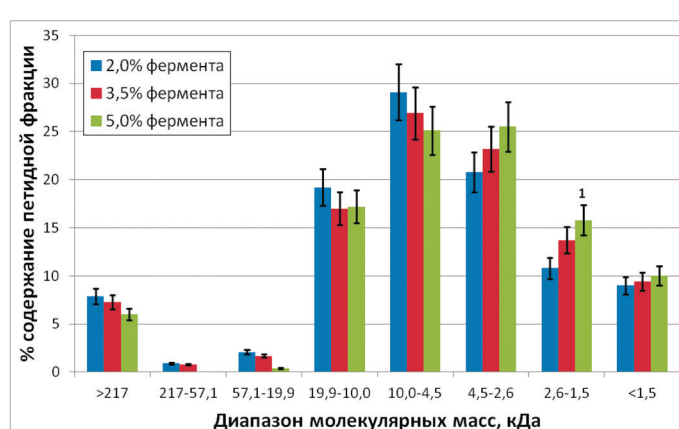


Рисунок 3. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием трипсина, от концентрации фермента

Figure 3. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of trypsin, on the enzyme concentration



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с 2,0% фермента, ($p \leq 0.05$).

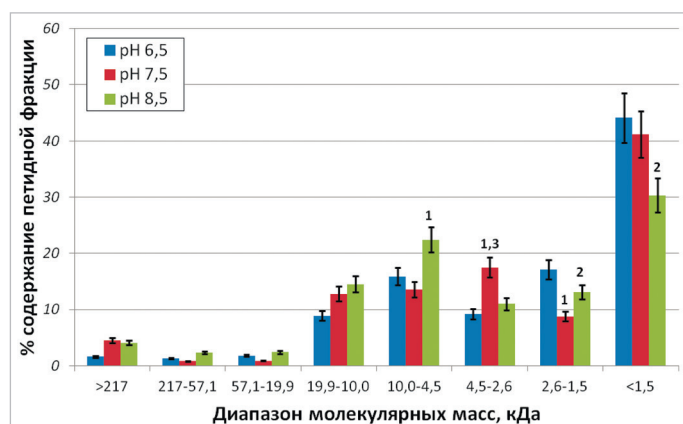
Рисунок 4. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием протозима, от концентрации фермента

Figure 4. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of protozyme, on the enzyme concentration

пептидных фракций в растворимых образцах трипсиновых гидролизатов практически не зависело от использованных соотношений фермент/субстрат (Таблица 2). Однако при использовании 2% и 3,5% растворов протозима эффективность протеолиза была крайне низка, что приводило к образованию значительного количества нерастворимого осадка и к низкому выходу целевого продукта.

Интервалы значений pH реакционной среды варьировали при гидролизе трипсином от 6,5 до 8,5 (Рисунок 5) и при гидролизе протозимом от 7,2 до 8,6 (Рисунок 6). Полученные результаты (Таблица 3) свидетельствовали о том, что при протеолизе КСБ трипсином и протозимом оптимальные значения pH реакционной среды составляли соответственно 7,4–7,6 и 8,4–8,6.

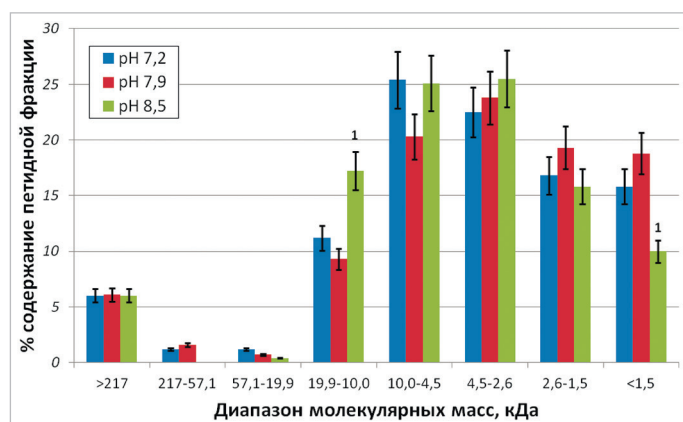
В интервале использованных температурных режимов (от 37 °С до 58 °С при протеолизе трипсином (Рисунок 7) и от 50 °С до 70 °С при протеолизе протозимом (Рисунок 8)) оптимальные значения температур растворов составили соответственно 50 °С и 60 °С (Таблица 4).



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с pH 6,5, 2 — различия достоверны по сравнению с pH 7,5, 3 — различия достоверны по сравнению с pH 8,5, ($p \leq 0.05$)

Рисунок 5. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием трипсина, от pH реакционной среды

Figure 5. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of trypsin, on the pH of the reaction medium



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с pH 7,2, ($p \leq 0.05$).

Рисунок 6. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием протозима, от pH реакционной среды

Figure 6. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of protozyme, on the pH of the reaction medium

Таблица 2. Влияние соотношения фермент/субстрат на суммарное содержание низкомолекулярных пептидных фракций в гидролизатах

Table 2. Effect of the enzyme-to-substrate ratio on the total content of low molecular weight peptide fractions in the hydrolysates

Фермент/ КСБКМ (весовое соотношение)	Суммарное содержание фракций менее 10 кДа (%)	
	Трипсиновый гидролизат	Протозимный гидролизат
2,0	81,1 ± 8,1	69,7 ± 7,0
3,5	78,1 ± 7,8	73,2 ± 7,3
5,0	80,9 ± 8,1	76,4 ± 7,6

Примечание: достоверных различия не выявлено.

Таблица 3. Влияние pH реакционной смеси на суммарное содержание низкомолекулярных пептидных фракций в гидролизатах

Table 3. Effect of the pH of the reaction mixture on the total content of low molecular weight peptide fractions in hydrolysates

Суммарное содержание фракций менее 10 кДа			
pH	Трипсиновый гидролизат	pH	Протозимный гидролизат
6,5	86,3 ± 8,6	7,2	80,5 ± 8,1
7,5	81,1 ± 8,1	7,9	82,2 ± 8,2
8,5	76,8 ± 7,7	8,5	76,4 ± 7,6

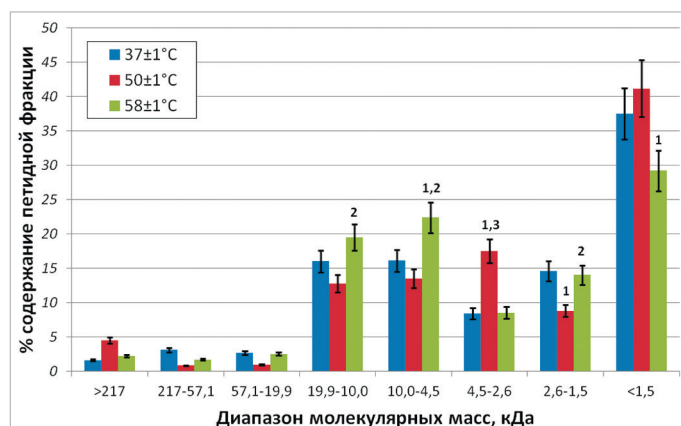
Примечание: достоверных различия не выявлено.

Таблица 4. Влияние температуры реакционной смеси на суммарное содержание низкомолекулярных пептидных фракций в гидролизатах

Table 4. Effect of temperature of the reaction mixture on the total content of low molecular weight peptide fractions in the hydrolysates

Суммарное содержание фракций менее 10 кДа			
t °C	Трипсиновый гидролизат	t °C	Протозимный гидролизат
37	76,6 ± 7,7	50	64,2 ± 6,4
50	81,0 ± 8,1	60	76,4 ± 7,6
58	74,1 ± 7,4	70	64,6 ± 6,5

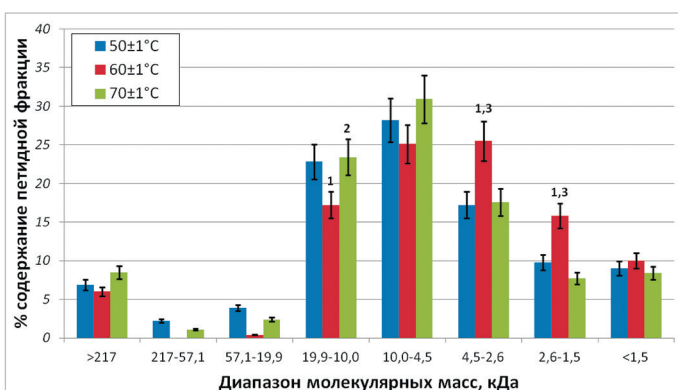
Примечание: достоверных различия не выявлено.



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с $t = 37^\circ\text{C}$, 2 — различия достоверны по сравнению с $t = 50^\circ\text{C}$, 3 — различия достоверны по сравнению с $t = 58^\circ\text{C}$, ($p \leq 0.05$).

Рисунок 7. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием трипсина, от температурного режима

Figure 7. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of trypsin, on the temperature mode



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с $t = 50^\circ\text{C}$, 2 — различия достоверны по сравнению с $t = 60^\circ\text{C}$, 3 — различия достоверны по сравнению с $t = 70^\circ\text{C}$, ($p \leq 0.05$).

Рисунок 8. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием протозима, от температурного режима

Figure 8. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of protozyme, on the temperature mode

3.2. Сравнительная характеристика молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизатов КСБ и их ультрафильтратов

Показатель, количественно характеризующий суммарное содержание «низкомолекулярных» пептидных фракций в составе гидролизатов КСБ (менее 10 кДа), предложен и использован в нашем исследовании как условный «критерий для оценки потенциальной иммуногенности и аллергизирующей активности» пептидных модулей, получаемых при протеолизе КСБ и/или их последующей ультрафильтрации. Короткоцепочечные пептиды и свободные аминокислоты не способны взаимодействовать с антиген-презентирующими Т-клетками и индуцировать реакцию дегрануляции клеток мишеней [23]. Чтобы привести к сближению в мембране клетки мишени не менее чем двух молекул IgE, аллерген должен быть поливалентным, то есть содержать несколько антигенных детерминант (эпитопов). Соответственно, короткоцепочечные фрагменты пищевых белков не иммуногенны и потенциально не способны sensibilizировать организм [5]. Чем выше содержание низкомолекулярных пептидов (менее 10 кДа) и свободных аминокислот в полученных гидролизатах КСБ, тем значительно снижена их иммуногенность и потенциальная аллергенность.

Как уже было отмечено в разделе «Введение», в ферментативных гидролизатах, не подвергнутых дальнейшему фракционированию, неизбежно остаются высокомолекулярные пептидные фрагменты. В соответствии с результатами первого этапа исследований были получены опытные партии двух ферментативных гидролизатов. Протеолиз КСБ трипсином вели в течение 3 часов при температуре 50°C , pH 7,4–7,6, при соотношении трипсин/КСБ, равном 1:50. Продолжительность протеолиза КСБ протозимом составила также 3 часа, температура — 60°C , pH — 8,4–8,6, соотношение протозим/КСБ равно 1:20

Опытные партии двух гидролизатов КСБ были подвергнуты ультрафильтрации. Содержание высокомолекулярных пептидных фракций (выше 10 кДа) в составе трипсинового гидролизата КСБ (%) и его ультрафильтрата составило соответственно 10,1% и 2,0%. Аналогичные показатели для гидролизата, полученного при использовании протозима и его ультрафильтрата, составили соответственно 16,2%

и 4,6%. Таким образом, содержание высокомолекулярных пептидных фракций при ультрафильтрации снизилось в 3,5–5,0 раз.

3.3 Направления будущих исследований

Клиническим исследованиям эффективности специализированной пищевой продукции для профилактики и/или диетической коррекции пищевой аллергии должна предшествовать доклиническая экспериментальная оценка потенциальной аллергенности пептидных модулей, вводимых в состав этой продукции [24,25]. Результаты нашей работы представляют один из этапов такого доклинического исследования, а именно количественную оценку молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составах модулей, полученных в результате ферментативного гидролиза КСБ и последующей ультрафильтрации. Полученные результаты могут быть использованы при масштабировании процесса получения пептидных модулей для включения в качестве ингредиентов в составы специализированных продуктов. Тем не менее авторы работы отмечают, что для корректной доклинической оценки безопасности и потенциальной эффективности разрабатываемого специализированного пищевого продукта (с учетом его целевого назначения) определения молекулярно-массового распределения пептидных фракций в его составе недостаточно [26]. Короткоцепочечные пептиды, связываясь с высокомолекулярными ингредиентами в составе пищевых продуктов, а также с другими пищевыми и эндогенными веществами в желудочно-кишечном тракте, или, образуя комплексы с сывороточными белками крови, могут проявлять иммуногенные свойства, потенциально способные вызвать аллергические реакции [27]. Необходимым дополнительным и высокоинформативным показателем снижения потенциальной аллергенности гидролизата является степень сохранности антигенных свойств исходного белка (остаточная антигенность), определяемая иммунохимическими методами. Широко используемые в научных исследованиях и в практической работе методы непрямого твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА) в различных модификациях позволяют надежно определять остаточные количества антигенов белков в составе их ферментативных гидролизатов. Из анализа научных статей о проблемах пищевой аллергии следует рекомендация использования низкоантигенных пищевых продуктов в качестве дополнительного источника питания для детей, имеющих легкую форму аллергии, а также для тех, кто входит в группу риска и испытывает недостаток материнского молока [24,28,29]. Таким образом, ближайшим продолжением проведенных исследований должны стать иммунохимические определения антигенности получаемых гидролизатов и пептидных модулей.

4. Выводы

Количественно охарактеризовано молекулярно-массовое распределение пептидных фракций гидролизатов КСБ, полученных при варьировании условий их протеолиза ферментными препаратами: трипсином и протозимом. Экспериментально обоснованы режимы протеолиза КСБ этими ферментными препаратами отечественного производства для получения гидролизатов с заданным молекулярно-массовым распределением пептидных фракций в их составах. В лабораторных условиях ультрафильтрацией ферментативных гидролизатов получены пептидные модули с повышенным содержанием низкомолекулярных пептидных фракций (менее 10 кДа).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Харитонов, В. Д., Будрик, В. Г., Агаркова, Е. Ю., Ботина, С. Г., Березкина, К. А., Кручинин, А. Г., Пономарев, А. Н. и др. (2012). К вопросу о перспективных направлениях борьбы с аллергией. *Техника и технология пищевых производств*, 4(27), 3–6.
- Симоненко, С. В., Новокшанова, А. Л., Георгиева, О. В., Зорин, С. Н., Симоненко, Е. С. (2022). Современные тенденции отечественной индустрии детского питания в производстве заменителей женского молока. *Молочнохозяйственный вестник*, 2(46), 191–204. https://doi.org/10.52231/2225-4269_2021_3_191
- Гаврилова, Н. Б., Петрова, Е. И. (2013). Технология продукта для спортивного питания. *Молочная промышленность*, 9, 82–83.
- Caffarelli, C., Baldi, F., Bendandi, B., Calzone, L., Marani, M., Pasquinelli, P. (2010). Cow's milk protein allergy in children: a practical Guide. *Italian Journal of Pediatrics*, 36, Article 5. <https://doi.org/10.1186/1824-7288-36-5>
- Ногаллер, А. М., Гущин, И. С., Мазо, В. К., Гмошинский, И. В. (2008). Пищевая аллергия и непереносимость пищевых продуктов. М.: Медицина, 2008.
- Патент № 2428047. Способ получения гидролизата сывороточных белков с высокой степенью гидролиза и гидролизат сывороточных белков с высокой степенью гидролиза. Круглик В. И., Зорин С. Н., Гмошинский И. В., Никитина Н. Е., Волкова И. Н., Ревякина Н. В. и др. Опубл. 10.09.2011. Бюлл. № 25.
- Патент 2529707. Способ производства гидролизата сывороточных белков с высокой степенью гидролиза и низкой остаточной антигенностью. Свириденко Ю. Я., Абрамов Д. В., Мяконосов Д. С., Тутельян В. А., Мазо В. К., Зорин С. Н. Опубл. 10.07.2014. Бюл. № 19.
- Остроумов, Л. А., Бабиц, О. О., Милентьева, И. С. (2013). Оценка состава и физико-химических свойств ферментативных гидролизатов казеина. *Вестник ВСГУТУ*, 1(40), 82–85.
- van der Ven, C., Gruppen, H., de Bont, D. B. A., Voragen, A. G. J. (2002). Optimisation of the angiotensin converting enzyme inhibition by whey protein hydrolysates using response surface methodology. *International Dairy Journal*, 12(10), 813–820. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(02\)00077-8](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(02)00077-8)
- del Mar Contreras, M., Hernández-Ledesma, B., Amigo, L., Martín-Álvarez, P. J., & Recio, I. (2011). Production of antioxidant hydrolyzates from a whey protein concentrate with thermolysin: Optimization by response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1), 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.017>
- Agarwal, S., Beausire, R. L. W., Patel, S., Patel, H. (2015). Innovative uses of milk protein concentrates in product development. *Journal of Food Science*, 80(S1), A23–A29. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12807>
- Uluko, H., Liu, L., Lv, J.-P., Zhang, S.-W. (2016). Functional characteristics of milk protein concentrates and their modification. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(7), 1193–1208. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.758625>
- Tavano, O. L., Berenguer-Murcia, A., Secundo, F., Fernandez-Lafuente, R. (2018). Biotechnological applications of proteases in food technology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 412–436. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12326>
- Tavano, O. L. (2013). Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 90, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.01.011>
- Sanchón, J., Fernández-Tomé, S., Miralles, B., Hernández-Ledesma, B., Tomé, D., Gaudichon, C. et al. (2018). Protein degradation and peptide release from milk proteins in human jejunum. Comparison with in vitro gastrointestinal simulation. *Food Chemistry*, 239, 486–494. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.134>
- Maehashi, K., Huang, L. (2009). Bitter peptides and bitter taste receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(10), 1661–1671. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-8755-9>
- Upadhyaya, J., Pydi, S. P., Singh, N., Aluko, R. E., Chelikani, P. (2010). Bitter taste receptor T₂R₁ is activated by dipeptides and tripeptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 398(2), 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.06.097>
- Duffuller, P., Bhullar, K. S., de Campos Zani, S. C., Wu, J. (2022). Bioactive peptides: From basic research to clinical trials and commercialization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(12), 3585–3595. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06289>
- dos Santos Aguilar, J. G., Sato, H. H. (2018). Microbial proteases: Production and application in obtaining protein hydrolysates. *Food Research International*, 103, 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.044>
- Meinlschmidt, P., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. (2016). Soy protein hydrolysates fermentation: Effect of debittering and degradation of major soy allergens. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.026>
- Зорин, С. Н. (2019). Ферментативные гидролизаты пищевых белков для специализированных пищевых продуктов диетического (лечебного и профилактического) питания. *Вопросы питания*, 88(3), 23–31. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10026>
- Kunitz, M. (1947). Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties. *Journal of General Physiology*, 30(4), 291–310. <https://doi.org/10.1085/jgp.30.4.291>
- Kiewiet, M. B. G., Gros, M., van Neerven, R. J. J., Faas, M. M., de Vos, P. (2015). Immunomodulating properties of protein hydrolysates for application in cow's milk allergy. *Pediatric Allergy and Immunology*, 26(3), 206–217. <https://doi.org/10.1111/pai.12354>
- Vandenplas, Y., Bhatia, J., Shamir, R., Agostoni, C., Turck, D., Staiano, A. et al. (2014). Hydrolyzed formulas for allergy prevention. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 58(5), 549–552. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000318>
- Громов, Д. А., Борисова, А. В., Бахарев, В. В. (2021). Пищевые аллергены и способы получения гипоаллергенных пищевых продуктов. *Техника и технология пищевых производств*, 51(2), 232–247. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-232-247>
- Зорин, С. Н., Петров, Н. А., Борисов, А. Ю. (2019). Ферментализаты белка молочной сыворотки: получение, физико-химическая и иммунохимическая характеристика. *Пищевая промышленность*, 4, 41–43. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10020>
- Chipinda, I., Hettick, J. M., Siegel, P. D. (2011). Haptenation: Chemical reactivity and protein binding. *Journal of Allergy*, 2011, Article 839682. <https://doi.org/10.1155/2011/839682>
- Боровик, Т. Э., Макарова, С. Г., Дарчия, С. Н., Гамалеева, А. В. (2010). Роль смесей — гидролизатов белка в профилактике и диетотерапии пищевой аллергии у детей раннего возраста. *Вопросы современной педиатрии*, 9(1), 150–156.
- Prikhodko, D. V., Krasnoshtanova, A. A. (2023). Using casein and gluten protein fractions to obtain functional ingredients. *Foods and Raw Materials*, 11(2), 223–231 <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-569>

REFERENCES

1. Kharitonov, V. D., Budrik, V. G., Agarkova, E. J., Botina, S. G., Berezkina, K. A., Kruchinin, A. G., Ponomarev, A. N. et al. (2012). Perspective directions of struggle with allergy. *Food Processing: Techniques and Technology*, 4(27), 3–6. (In Russian)
2. Simonenko, S. V., Novokshanova, A. L., Georgieva, O. V., Zorin, S. N., Simonenko, E. S. (2022). Modern trends in domestic baby nutrition industry of female milk substitute manufacture. *Molochnokhozayistvenny Vestnik*, 2(46), 191–204. https://doi.org/10.52231/2225-4269_2021_3_191 (In Russian)
3. Gavrilova, N. B., Petrova, E. I. (2013). Technology of the product for sports nutrition. *Dairy Industry*, 9, 82–83. (In Russian)
4. Caffarelli, C., Baldi, F., Bendandi, B., Calzone, L., Marani, M., Pasquinelli, P. (2010). Cow's milk protein allergy in children: a practical Guide *Italian Journal of Pediatrics*, 36, Article 5. <https://doi.org/10.1186/1824-7288-36-5>
5. Nogaller, A. M., Guschin, I. S., Mazo, V. K., Gmshinskiy, I. V. (2008). Food allergies and food intolerance. Moscow: Medicine, 2008. (In Russian)
6. Kruglik V. I., Zorin S. N., Gmshinskiy, I. V., Nikitina, N. E., Volkova I. N., Revjakina N. V. et al. Method of producing whey protein hydrolysate with high degree of hydrolysis and whey protein hydrolysate with high degree of hydrolysis. Patent RF, no 2428047, 2011. (In Russian)
7. Sviridenko Yu. Ya., Abramov, D. V., Myagkonosov D. S., Tutelyan, V. A., Mazo, V. K., Zorin S. N. Method of producing whey protein hydrolysate with high degree of hydrolysis and low residual antigenicity. Patent RF, no 2529707, 2014. (In Russian)
8. Ostroumov, L. A., Babich, O. O., Milentyeva, I. S. (2013). Evaluation of composition and physicochemical properties of the enzyme casein hydrolysates. *The Bulletin of ESSTUM*, 1(40), 82–85. (In Russian)
9. van der Ven, C., Gruppen, H., de Bont, D. B. A., Voragen, A. G. J. (2002). Optimisation of the angiotensin converting enzyme inhibition by whey protein hydrolysates using response surface methodology. *International Dairy Journal*, 12(10), 813–820. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00077-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00077-8)
10. del Mar Contreras, M., Hernández-Ledesma, B., Amigo, L., Martín-Alvarez, P. J., Recio, I. (2011). Production of antioxidant hydrolyzates from a whey protein concentrate with thermolysin: Optimization by response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1), 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.017>
11. Agarwal, S., Beausire, R. L. W., Patel, S., Patel, H. (2015). Innovative uses of milk protein concentrates in product development. *Journal of Food Science*, 80(S1), A23–A29. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12807>
12. Uluko, H., Liu, L., Lv, J.-P., Zhang, S.-W. (2016). Functional characteristics of milk protein concentrates and their modification. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(7), 1193–1208. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.758625>
13. Tavano, O. L., Berenguer-Murcia, A., Secundo, F., Fernandez-Lafuente, R. (2018). Biotechnological applications of proteases in food technology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 412–436. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12326>
14. Tavano, O. L. (2013). Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 90, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.01.011>
15. Sanchón, J., Fernández-Tomé, S., Miralles, B., Hernández-Ledesma, B., Tomé, D., Gaudichon, C. et al. (2018). Protein degradation and peptide release from milk proteins in human jejunum. Comparison with in vitro gastrointestinal simulation. *Food Chemistry*, 239, 486–494. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.134>
16. Maehashi, K., Huang, L. (2009). Bitter peptides and bitter taste receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(10), 1661–1671. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-8755-9>
17. Upadhyaya, J., Pydi, S. P., Singh, N., Aluko, R. E., Chelikani, P. (2010). Bitter taste receptor T₂R₁ is activated by dipeptides and tripeptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 398(2), 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.06.097>
18. Duffler, P., Bhullar, K. S., de Campos Zani, S. C., Wu, J. (2022). Bioactive peptides: From basic research to clinical trials and commercialization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(12), 3585–3595. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06289>
19. dos Santos Aguilar, J. G., Sato, H. H. (2018). Microbial proteases: Production and application in obtaining protein hydrolysates. *Food Research International*, 103, 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.044>
20. Meinschmidt, P., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. (2016). Soy protein hydrolysates fermentation: Effect of debittering and degradation of major soy allergens. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.026>
21. Zorin, S.N. (2019). Enzymatic hydrolysates of food proteins for specialized foods for therapeutic and prophylactic nutrition. *Problems of Nutrition*, 88(3), 23–31. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10026> (In Russian)
22. unitz, M. (1947). Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties. *Journal of General Physiology*, 30(4), 291–310. <https://doi.org/10.1085/jgp.30.4.291>
23. Kiewiet, M. B. G., Gros, M., van Neerven, R. J. J., Faas, M. M., de Vos, P. (2015). Immunomodulating properties of protein hydrolysates for application in cow's milk allergy. *Pediatric Allergy and Immunology*, 26(3), 206–217. <https://doi.org/10.1111/pai.12354>
24. Vandenplas, Y., Bhatia, J., Shamir, R., Agostoni, C., Turck, D., Staiano, A. et al. (2014). Hydrolyzed formulas for allergy prevention. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 58(5), 549–552. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000318>
25. Gromov, D. A., Borisova, A. V., Bakharev, V. V. (2021). Food allergens and methods for producing hypoallergenic foods. *Food Processing: Techniques and Technology*, 51(2), 232–247. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-232-247> (In Russian)
26. Zorin, S. N., Petrov, N. A., Borisov, A. Yu. (2019). Enzymatic hydrolysates of whey protein: preparation, physico-chemical and immune chemical characterization. *Food Industry*, 4, 41–43. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10020> (In Russian)
27. Chipinda, I., Hettick, J. M., Siegel, P. D. (2011). Haptenation: Chemical reactivity and protein binding. *Journal of Allergy*, 2011, Article 839682. <https://doi.org/10.1155/2011/839682>
28. Borovik T., Makarova S., Darchiya S., Gamaleyeva A. (2010). The role of compounds based on hydrolyzed protein in prophylaxis and diet treatment of alimentary allergy in infants. *Current Pediatrics*, 9(1), 150–156. (In Russian)
29. Prikhodko, D. V., Krasnoshtanova, A. A. (2023). Using casein and gluten protein fractions to obtain functional ingredients. *Foods and Raw Materials*, 11(2), 223–231 <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-569>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Семенова Елена Сергеевна — младший научный сотрудник, лаборатория опытно-экспериментальных технологических исследований, Научно-исследовательский институт детского питания — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 143500, Московская область, Истра, ул. Московская, 48 Тел.: +7–498–313–03–96 E-mail: lab6@niidp.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3848-7478	Elena S. Semenova, Junior Researcher, Laboratory of Experimental Technological Research, Scientific Research Institute of Baby Food — a branch Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 48, Moskovskaya str., Moscow region, 143500, Istra, Russia Tel.: +7–498–313–03–96 E-mail: lab6@niidp.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3848-7478
Симоненко Елена Сергеевна — кандидат технических наук, младший научный сотрудник, лаборатория технологий продуктов питания детей и дошкольного и школьного возраста Научно-исследовательский институт детского питания — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 143500, Московская область, Истра, ул. Московская, 48 Тел.: +7–498–313–03–96 E-mail: nir@niidp.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-2878-8069 * автор для контактов	Elena S. Simoneko, Candidate of Technical Sciences, Junior Researcher, Laboratory of Food Technologies for Children and Preschool and School Age, Scientific Research Institute of Baby Food — a branch Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 48, Moskovskaya str., Moscow region, 143500, Istra, Russia Tel.: +7–498–313–03–96 E-mail: nir@niidp.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-2878-8069 * corresponding author
Симоненко Сергей Владимирович — доктор технических наук, директор, Научно-исследовательский институт детского питания — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 143500, Московская область, Истра, ул. Московская, 48 Тел.: +7–498–313–03–96 E-mail: dir@niidp.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6999-5048	Sergey V. Simoneko, Doctor of Technical Sciences, Director, Scientific Research Institute of Baby Food — a branch Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 48, Moskovskaya str., Moscow region, 143500, Istra, Russia Tel.: +7–498–313–03–96 E-mail: dir@niidp.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6999-5048
Зорин Сергей Николаевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Тел.: +7–495–698–53–71 E-mail: zorin@ion.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2689-6098	Sergey N. Zorin, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Food Biotechnologies and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustyinsky proezd, 109240, Moscow, Russia Tel.: +7–495–698–53–71 E-mail: zorin@ion.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2689-6098
Петров Никита Александрович — инженер, лаборатория пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Тел.: +7–903–794–87–14 E-mail: petrov-nikita-y@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9755-6002	Nikita A. Petrov, Engineer, Laboratory of Food Biotechnologies and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustyinsky proezd, 109240, Moscow, Russia Tel.: +7–903–794–87–14 E-mail: petrov-nikita-y@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9755-6002
Мазо Владимир Кимович — доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, лаборатория пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Тел.: +7–495–698–53–71 E-mail: mazo@ion.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3237-7967	Vladimir K. Mazo, Doctor of Biological Sciences, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Food Biotechnologies and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustyinsky proezd, 109240, Moscow, Russia Tel.: +7–495–698–53–71 E-mail: mazo@ion.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3237-7967
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.