

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-2-221-230>



Поступила 18.04.2025

Поступила после рецензирования 12.05.2025

Принята в печать 14.05.2025

© Барковская И. А., Рябова А. Е., Рожкова И. В., 2025

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

Научная статья

Open access

КОМПЛЕКСНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВОГО ПРОФИЛЯ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ КАК ПОДХОД К СОЗДАНИЮ ОБОГАЩЕННЫХ БЕЛКОВЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ

Барковская И. А.*, Рябова А. Е., Рожкова И. В.

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

йододефицит, переработка сыворотки, хелатирование цинка, направленный гидролиз, связывание йода

В условиях сохраняющейся проблемы дефицита эссенциальных микроэлементов, таких как йод (йододефицит фиксируется у 68 % населения планеты), актуальной задачей является разработка эффективных подходов к созданию пищевых ингредиентов и продуктов с биодоступными формами микроэлементов. В связи с этим в работе исследована комплексная модификация белкового профиля молочной сыворотки с целью создания белкового ингредиента, обогащенного йодом и цинком. По результатам ряда проведенных исследований определены оптимальные параметры модификации белкового профиля посредством термоселективного фракционирования в присутствии хелатора (58 °C; pH 3,0; массовая доля хелатора 0,2%; 120 минут). Установлены рациональные условия хелатирования цинка сывороточными белками (40 °C; pH 8,0; 60 минут), обеспечивающие максимальную концентрацию органически связанного микроэлемента: $169,8 \pm 27,3$ мг на 100 г белка. В результате протеазного скрининга выявлено, что трипсин обеспечивает увеличение количества функциональных участков, способных связывать йод, при условии сохранения начальной концентрации цинка, связанного с белками. Приведены оптимальные параметры гидролиза белков трипсином (44 °C; pH 8,0; 180 минут). Установлены эффективные режимы предварительного гидролиза сывороточных белков, обогащенных цинком (фермент-субстратное соотношение 1/100 CPROT г/г; 44 °C; pH 8,0; 165 минут), и йодирования субстрата (20 °C; pH 8,0; 12 ч). Эти режимы обеспечивают концентрацию органически связанного йода $2,5 \pm 0,4$ г на 100 г белка и сохранение начальной концентрации органически связанного цинка. Для каждого этапа иммобилизации микроэлементов определены рациональные параметры баромембранной очистки белковой матрицы от неорганических форм йода и цинка: трехкратная ультрадиализация для этапа хелатирования цинка и нанодиализация для этапа йодирования. Полученные результаты могут быть использованы при разработке новых функциональных пищевых продуктов и технологий глубокой переработки молочной сыворотки.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена в рамках гранта Российского научного фонда № 24-26-00220.

Received 18.04.2025

Accepted in revised 12.05.2025

Accepted for publication 14.05.2025

© Barkovskaya I. A., Ryabova A. E., Rozhkova I. V., 2025

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

Original scientific article

Open access

COMPLEX MODIFICATION OF WHEY PROTEIN PROFILE AS AN APPROACH TO THE CREATION OF ENRICHED PROTEIN INGREDIENTS

Irina A. Barkovskaya*, Anastasia E. Ryabova, Irina V. Rozhkova

All-Russian Dairy Research Institute, Moscow, Russia

KEY WORDS:

iodine deficiency, whey processing, zinc chelation, directed hydrolysis, iodine binding

ABSTRACT

In the context of the persistent problem of deficiency of essential trace elements such as iodine (iodine deficiency is recorded in 68 % of the world's population), an urgent task is the development of effective approaches to the creation of food ingredients and products with bioavailable forms of trace elements. In this regard, the work investigated the complex modification of protein profile of milk whey in order to create a protein ingredient enriched with iodine and zinc. Based on the results of a number of studies, the optimal parameters of protein profile modification by thermoselective fractionation in the presence of chelator (58 °C; pH 3.0; mass fraction of chelator 0.2%; 120 minutes) were determined. The rational conditions of zinc chelation by whey proteins (40 °C; pH 8.0; 60 minutes) were established, providing the maximum concentration of organically bound trace element: 169.8 ± 27.3 mg per 100 g of protein. The protease screening revealed that trypsin provides an increase in the number of functional sites capable of binding iodine, provided that the initial concentration of zinc bound to proteins is maintained. Optimal parameters of protein hydrolysis by trypsin (44 °C; pH 8.0; 180 min) are given. Effective modes of preliminary hydrolysis of zinc-enriched whey proteins (enzyme-substrate ratio 1/100 CPROT g/g; 44 °C; pH 8.0; 165 minutes) and substrate iodization (20 °C; pH 8.0; 12 h) were established, providing the concentration of organically bound iodine 2.5 ± 0.4 g per 100 g of protein and preserving the initial concentration of organically bound zinc. Rational parameters of baromembrane purification of protein matrix from inorganic forms of iodine and zinc were determined for each stage of trace elements immobilization: 3-fold ultrafiltration for the stage of zinc chelation and nanodiafiltration for the stage of iodination. The obtained results can be used in the development of new functional food products and technologies for deep processing of whey.

FUNDING: This work was performed under the Russian Science Foundation grant No. 24-26-00220.

1. Введение

Одной из основных глобальных проблем продовольственного сектора является недостаточная обеспеченность населения продуктами питания и потребление низкокачественной пищи, вызывающее неинфекционные алиментарные заболевания [1,2]. Из-за потребления

продуктов массового спроса с низкой пищевой ценностью у более 2 млрд человек сформировался «скрытый голод», характеризующийся дефицитом макро- и микроэлементов [3,4]. В этом контексте одной из основных проблем, с которой сталкивается современное общество, является дефицит белка и эссенциальных микроэлементов, таких

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Барковская, И. А., Рябова, А. Е., Рожкова, И. В. (2025). Комплексная модификация белкового профиля молочной сыворотки как подход к созданию обогащенных белковых ингредиентов. *Пищевые системы*, 8(2), 221–230. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-2-221-230>

FOR CITATION: Barkovskaya, I. A., Ryabova, A. E., Rozhkova, I. V. (2025). Complex modification of whey protein profile as an approach to the creation of enriched protein ingredients. *Food Systems*, 8(2), 221–230. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-2-221-230>

как йод [5,6]. Оценка распространенности дефицита 15 основных микроэлементов для 34 возрастных групп из 185 стран, основанная на возрастных и гендерных потребностях в питательных веществах, выявила недостаточное потребление йода у 5 млрд человек (68 % населения мира) [7]. Кроме того, проблема усугубляется ростом населения: согласно прогнозам ООН, к 2050 году мировое население достигнет отметки в 9,7 млрд человек, что приведет к усилению конкуренции за пищевые ресурсы и к усложнению задачи по удовлетворению потребностей в макро- и микроэлементах [8,9]. Авторы [10] освещают последствия перенаселения планеты, указывая на повышение спроса на пищевые продукты вдвое. В этой связи актуализируется вопрос разработки эффективных стратегий обеспечения людей полноценным питанием и глубокой переработки пищевого сырья.

В поисках решений данной проблемы ученые рассматривают возможность разработки алиментарных средств доставки микроэлементов, таких как йод, для профилактики и нивелирования широкой распространенности дефицитов [11]. Одной из известных стратегий является биофортификация — способ борьбы с микронутриентной недостаточностью, подразумевающий повышение массовой доли витаминов и минералов в основном спектре сельскохозяйственных культур путем применения удобрений при выращивании или селекции и/или генной инженерии [12,13]. Dipti Rai с соавторами [12] и Grzegorz Izydorczyk с соавторами [14] отмечают, что обогащение сельскохозяйственных культур универсальнее и эффективнее обогащения пищевых продуктов. Этот подход охватывает основные культуры, потребляемые большинством населения, и не требует изменения рациона.

Существует также «конкурирующая» стратегия биофортификации — диверсификация питания, подразумевающая биоразнообразие рациона. Однако, как сообщают ученые [5], оба подхода подвергаются критике:

- биофортификация не учитывает потребление широкого спектра микроэлементов, и рандомизированные клинические исследования являются спорными, поскольку предоставляют недостаточно достоверных данных о воздействии биофортификации на разные группы населения (женщины, дети, пожилые люди). Кроме того, при обогащении агрокультур йодом выявлены следующие недостатки: высокая сорбция йода почвой из-за взаимодействия с гуминовыми кислотами, метилирование йода, ведущее к высвобождению (CH_3I) в атмосферу, и неустойчивость некоторых растений к высоким концентрациям йода. Эти факторы снижают эффективность биофортификации и иногда уменьшают урожайность [14].

- исследования диверсификации питания (особенно в странах с низким и средним уровнем дохода) дали спорные результаты, отражая неоднозначные данные о снижении риска неинфекционных алиментарных заболеваний и связи разнообразия питания с массой тела у подростков и взрослых.

Помимо обогащения растительного сырья на стадии выращивания, специалистами агросектора проведен ряд исследований, посвященных повышению массовой доли йода и других микроэлементов в сырье животного происхождения. Так, авторы исследования [15] представили принципы коррекции рациона питания молочного стада посредством введения селена (органического — 0,23 мг и неорганического — 0,34 мг на кг сухого вещества) и йода (неорганического — 5,68 мг на кг сухого вещества). В результате проведенной оценки массовая доля йода в молоке опытных животных увеличилась с 19,69 до 110,06 мкг на 100 г молока. При этом после переработки молока-сырья на сыр, йогурт и сухое молоко в продукты перешло $269,70 \pm 20,66$ мкг, $176,30 \pm 3,18$ и $1568,65 \pm 100,42$ мкг на 100 г продукта соответственно.

Наряду с обогащением сырья для производства продуктов животного и растительного происхождения, разработка йодированных пищевых продуктов ежедневного пользования (FMCG) и добавок является широким направлением научных исследований во всем мире [11,16]. Существуют технологии обогащения различными формами йода (органическая и неорганическая) пищевых продуктов: хлебобулочных, молочных, пищевой соли. Проводится обогащение хлебобулочных изделий разными формами йода: йодированной солью, «Йодказеином», «Амитоном». Авторы исследования [17] сообщают о содержании 78–97,5 мкг йода в 200–250 г хлеба, что обеспечивает суточную потребность в микроэлементе на 52–65 %. Накоплен опыт в части обогащения молочных продуктов йодсодержащими добавками. Так, в исследовании [11] приведены результаты производства творога с внесением пищевых добавок «Йодказеин» и «Биойод» в количестве 7 мг и 25 мг на кг молока соответственно. В твороге, обогащенном казеином, содержание йода составляет от $(46,2 \pm 1,1)$ до $(46,4 \pm 0,9)$ мг на 100 г, а при обогащении сыровороточными белками — от $(48,5 \pm 0,9)$ до $(48,2 \pm 1,1)$ мг на 100 г. Это соответствует сохранению йода на уровне 94–97 % [14]. Коллективы авторов разработали технологию обогаще-

ния стерилизованного и пастеризованного молока [18–20], кефира и творога [19] йодказеином с содержанием йода в органической форме в количестве от 5 до 50 мкг на 100 г продукта [21]. Несмотря на широкий спектр разработанных стратегий профилактики и нивелирования дефицита йода, проблема недостаточного потребления микроэлемента все еще сохраняется. Это обусловлено недостатками средств обогащения йодом, такими как низкая стабильность йодированной соли при транспортировке, хранении и термической обработке [22], плохая растворимость некоторых форм йода, а также отсутствие в продуктах и добавках микроэлементов, способствующих метаболизму йода, например цинка [23–25]. Одним из перспективных объектов для таких исследований является молочная сыворотка (как подсырная, так и творожная), поскольку содержит сывороточные белки, обладающие способностью к связыванию йода и цинка благодаря особенностям строения и аминокислотного состава. Кроме того, вопрос переработки вторичного сырья молочной отрасли также является ключевым, требующим расширения возможностей глубокой переработки молочной сыворотки. Таким образом, целью данного исследования являлось изучение механизмов связывания йода и цинка с белками молочной сыворотки. Полученные данные могут способствовать разработке новых пищевых ингредиентов и специализированных продуктов, направленных на профилактику дефицитных состояний и на улучшение нутритивного статуса населения.

2. Объекты и методы

Объектами на разных этапах исследований являлись подсырная сыворотка, полученная при производстве полутвердого сыра «Качотта» на ООО «Итальянские традиции» (Россия); сывороточные белки, обогащенные цинком; гидролизаты сывороточных белков, обогащенные йодом и цинком; информация о субстратной специфичности пепсина (EC3.4.23.1), протеиназ P1 (КФ 3.4.21.96) и K (КФ 3.4.21.64), химотрипсина A (КФ 3.4.21.1), панкреатической эластазы (КФ 3.4.21.36), фицина (КФ 3.4.22.3), стим бромелайна (КФ 3.4.22.32), термолизина (КФ 3.4.24.27), папаина (КФ 3.4.22.2), субтилизина (КФ 3.4.21.62), кокализина (КФ 3.4.24.30), химазы (КФ 3.4.21.39), трипсина (КФ 3.4.21.4); коммерческий ферментный препарат панкреатического трипсина («Новозаймс», Дания). Все реактивы, используемые в исследовании, были не ниже марки «ч. д. а» со степенью чистоты не менее 99 %.

Часть исследований выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (ЦКП ВНИМИ). Эксперименты проводили в стеклянных биореакторах с рубашкой (ООО «Алхитех», Россия) вместимостью 1000 (ЛС-0132) и 5000 мл (ЛС-0118), оснащенных термостатом модели MLW U (MLW, Германия) для поддержания температуры. Центрифугирование белковой смеси проводили на лабораторной центрифуге ОПН-8 (ОАО «ТНК «Дагестан», Россия). Стандартизацию сыворотки по массовой доле белка, очистку обогащенного белкового субстрата от неорганических примесей микроэлементов проводили с использованием метода баромембранной фильтрации на пилотной установке АЛ 362 (ООО «Альгаир», Россия) с блоком мембранных элементов из полиэфирсульфона с отсечкой по молекулярной массе 5,0 и 0,6 кДа (ультра- (UF) и нанофильтрация (NF) соответственно). Уровень pH корректировали внесением концентрированной соляной кислоты (ООО «Сигма Тех», Россия) или 5М раствора гидроксида калия (ООО «Компонент-Реактив», Россия). Значение pH анализировали с помощью лабораторного pH-метра inoLab pH Level 1 (WTW, Германия). Для обогащения сывороточных белков цинком и йодом использовали раствор ZnSO_4 с концентрацией ионов Zn^{2+} 80 г/л (ООО «Альдоса», Россия) в первом случае и раствор I_2 в 50 % растворе KI с концентрацией ионов молекулярного йода 200 г/л (ООО «Альдоса», Россия).

Массовую долю общего азота в надосадочной жидкости определяли методом Кьельдаля по ГОСТ 34454-2018¹ с применением автоматического анализатора Kjelttec2400 (Foss Electric, Дания).

Фракционный состав белков выявляли в электрофорезной камере MiniPROTEAN Tetra (Bio-Rad, США) в 12,5 % полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (SDS-PAGE) по методике [26]. Затем проводили денситометрию интенсивности окрашивания дорожек (кумасси бриллиантовый синий R-250) с количественным анализом в программе ImageJ согласно Методическим рекомендациям по анализу результатов одно- и двумерных электрофореграмм «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН [27]. В качестве эталона молекулярной массы белка (10–200 кДа) использовали стандарты Prestained Protein Marker IV (Servicebio, Китай).

¹ ГОСТ 34454-2018 ««Продукция молочная. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля» М.: Стандартинформ, 2018. — 14 с.

Массовую долю цинка определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой по ГОСТ 34633-2020² на приборе Agilent 5110 ICP-OES (Agilent Technologies, Малайзия).

Биоинформатическое моделирование выполняли с использованием баз данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), BIOPEP-UWM (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>), Uniprot (<https://www.uniprot.org/>), ToxinPred (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/>).

Степень гидролиза (ДН) определяли спектрофотометрически по реакции первичных аминогрупп с 2,4,6-тринитробензосульфоновой кислотой с детектированием продуктов реакции при 340 нм на спектрофотометре-флуориметре Feyond-A400 (Allsheng, Китай) [28,29].

Массовую долю йода рассчитывали спектрометрическим методом по ГОСТ 26185–84³.

Общее содержание свободных аминокислот определяли спектрофотометрически по реакции аминогрупп α-аминокислот с 2,4-динитрофторбензолом с последующей детекцией продуктов реакции при 420 нм [30].

Горечь белковых фрагментов выявляли органолептически в эквиваленте шкалы разведения стандарта кофеина [31].

Пептидный профиль гидролизата сывороточных белков и детектирование пептидов с ковалентно связанным йодом исследовали с использованием ВЭЖХ, соединенной с масс-спектрометром.

Идентификацию пептидов проводили при помощи программного обеспечения MaxQuant v. 2.0.3.0 с поисковым алгоритмом Andromeda (сравнение йодированных аминокислот и аминокислот без йода по молекулярной массе).

Планирование экспериментов, оптимизацию, визуализацию данных, статистический анализ осуществляли с использованием пакета программ Statistica 2010 (Statsoft, США) и Microsoft Excel (Microsoft, США) интерактивной среды разработки RStudio (Posit Software, США). Все измерения и исследования проводили в 3–5 повторностях с последующим определением стандартного отклонения. Для удобства визуального сравнения и интерпретации данных стандартное отклонение представлено на графиках в виде относительных величин, выраженных в процентах от среднего значения. За уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$.

² ГОСТ 34633-2020 «Продукция пищевая. Определение массовой доли хрома, железа, никеля, меди, цинка методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой» М.: Российский институт стандартизации, 2024. — 23 с.

³ ГОСТ 26185-84 «Водоросли морские, травы морские и продукты их переработки. Методы анализа» М.: Стандартинформ, 2018. — 33 с.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Исследование процесса термoseлективного осаждения α-ЛА в присутствии солей-хелаторов

Для повышения концентрации цинка, хелатируемого белками, в работе проводили исследование процесса термoseлективного осаждения α-ЛА из молочной сыворотки. Подобная модификация белковой матрицы обоснована наличием сайтов связывания двухвалентных металлов в α-ЛА и БСА (KFLDDDLTDD и ECCHGDLLECADDRA соответственно) [32,33]. Ранее исследованные режимы термoseлективного осаждения отражают недостаточную эффективность процесса в части термического воздействия (85 °С; 120 минут) на белки, что может негативно сказаться на их дальнейших функциональных свойствах, а также в части количества выделенного белка (снижение концентрации общего азота относительно начальной — 29%) [34]. В связи с этим роль солей-хелаторов (гексаметафосфата натрия — ГМФ) в процессе термoseлективного осаждения α-ЛА из молочной сыворотки с массовой долей общего азота 3,56% изучали для достижения следующих целей: декальцинирование сывороточных белков, замещение иона кальция ионом цинка, снижение температуры денатурации α-ЛА, увеличение выхода α-ЛА и уменьшение соосаждения β-ЛГ. Для оптимизации процесса смоделирован и проведен полнофакторный эксперимент с четырьмя параметрами, варьируемыми на трех уровнях (Таблица 1).

Таблица 1. Уровни вариации независимых параметров при многофакторных экспериментах по оптимизации условий термоденатурации α-ЛА в присутствии ГМФ

Table 1. Levels of variation of independent parameters in multifactorial experiments on optimization of conditions of α-LA thermodenaturation in the presence of SHMP

Параметр	Пере- менная	Уровень варьирования		
		–1	0	1
Массовая доля ГМФ, %	X_1	0,050	0,175	0,300
Температура, °С	X_2	45	65	85
Активная кислотность, pH	X_3	3	6	9
Продолжительность, мин	X_4	30	75	120

Функция желательности оптимизации сформирована исходя из минимального значения содержания в супернатанте α-ЛА и максимального содержания β-ЛГ. Поверхности отклика влияния варьируемых параметров эксперимента на термоденатурацию сывороточных белков представлена на Рисунке 1. Анализ данных показал

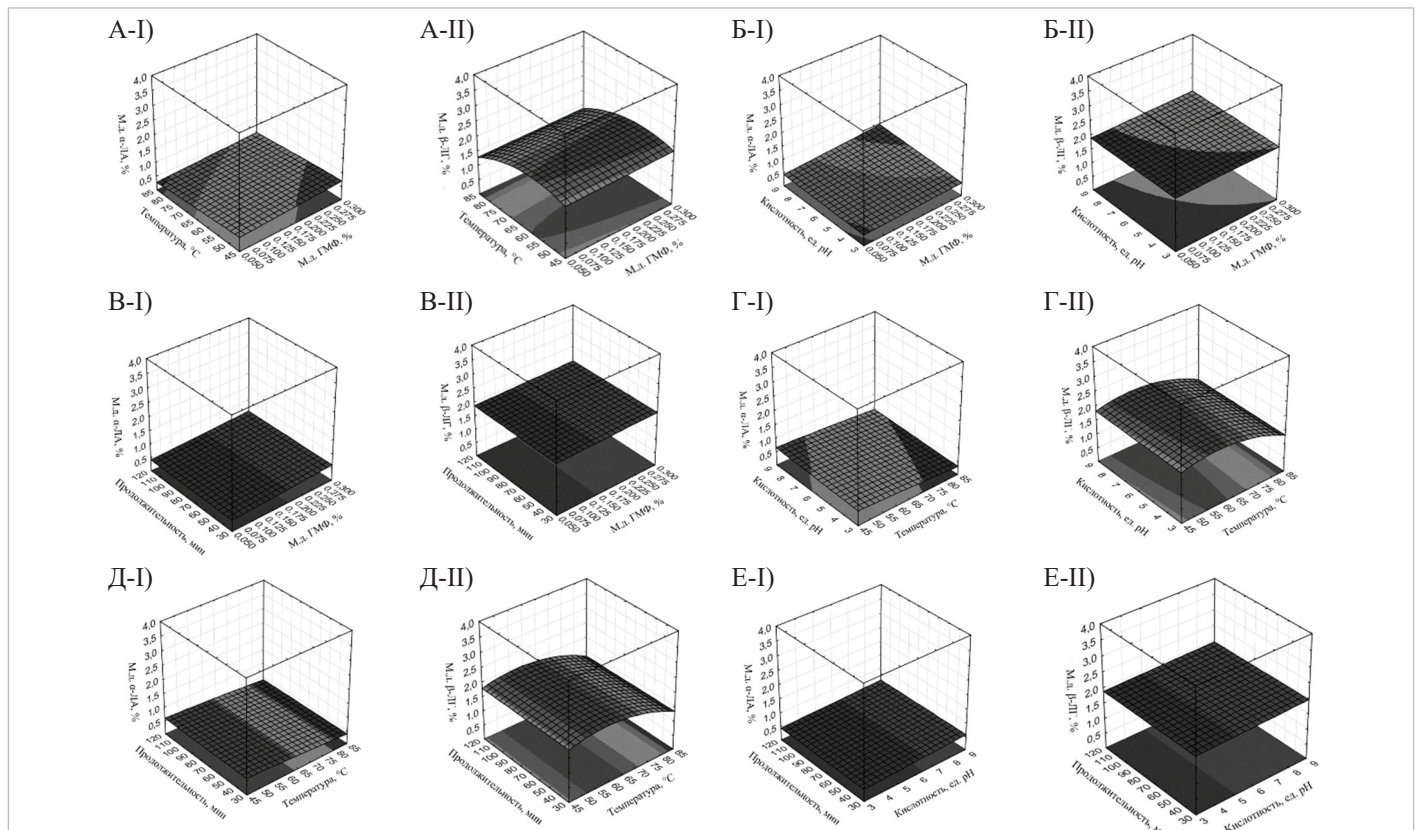


Рисунок 1. Оптимизация условий селективной термоденатурации в присутствии хелатора (I - α-ЛА, II-β-ЛГ)
Figure 1. Optimization of the conditions of selective thermodenaturation in the presence of chelator (I - α-LA, II-β-LG)

статистически значимое ($p < 0,05$) влияние фактора кислотности (X_3), а также совокупное влияние факторов массовой доли ГМФ (X_1) и температуры (X_2), массовой доли ГМФ (X_1) и кислотности (X_3) на максимальное снижение содержания α -ЛА в супернатанте.

Получены уравнения 1–2, описывающие зависимости процесса термоденатурации α -ЛА и β -ЛГ от варьируемых параметров:

$$Y_{\alpha\text{-ЛА}} = -0,246 - 3,297X_1 - 0,004X_2 + 0,475X_3 - 0,032X_3^2 - 0,001X_4 + 0,022X_1X_2 + 0,256X_1X_3 - 0,001X_2X_3 \quad (1)$$

$$Y_{\beta\text{-ЛГ}} = -1,211 + 0,106X_1 - 0,001X_1^2 + 0,056X_1X_3 \quad (2)$$

В результате проведенных исследований установлены оптимальные параметры процесса: температура — 58 °С, pH — 3,0, м. д. ГМФ — 0,2% и продолжительность 120 минут, снижающие содержание общего азота в супернатанте относительно начальной концентрации на 42%, а начальное содержание α -ЛА — примерно на 83%. Функция желательности при заданных условиях составила 67%. При этом соотношение β -ЛГ к α -ЛА в результате процесса изменилось с 2,2 к 1 (для субстрата) до 0,7 к 1 (Рисунок 2). Выявленные параметры осаждения

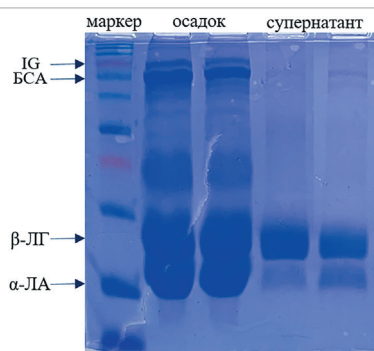


Рисунок 2. Электрофореграмма продуктов термоденатурации сыровоточных белков

Figure 2. Electropherogram of products of whey protein thermodenaturation

коррелируют с литературными данными о температуре денатурации α -ЛА (приблизительно 60 °С). Кроме того, выявленный эффект частичного осаждения β -ЛГ, согласно McGuffey M. K. С соавторами [35], может быть связан с усилением его агрегации в матрице сыровоточных белков под действием изменения конфигурации дисульфидных связей α -ЛА. По результатам проведенных исследований подтверждена гипотеза об увеличении выхода α -ЛА при использовании солей-хелаторов и установлены оптимальные параметры выделения α -ЛА из системы молочной сыворотки с использованием ГМФ, декальцинирующего белка и препятствующего его ренатурации.

Кроме того, полученные в ходе эксперимента данные фракционирования белков позволяют сделать вывод о том, что для модификации белковой матрицы, планируемой к использованию при обогащении эссенциальными микроэлементами, можно применять творожную сыворотку, поскольку низкое значение начальной активной кислотности сырья снижает затраты на его дополнительное подкисление до pH 3,0. Данный факт открывает новые возможности для переработки творожной сыворотки, пользующейся меньшей востребованностью в молочной промышленности, чем подсырная, ввиду особенностей физико-химических показателей.

3.2. Исследование кинетики хелатирования цинка модифицированной матрицей сыровоточных белков

Согласно эмпирическим данным, последовательность обогащения белков по схеме цинк→йод является наиболее оптимальной, поскольку в противном случае наблюдается снижение концентрации цинка, обусловленное величиной энергии активации реакции координации микроэлемента [36]. В связи с этим далее в работе исследованы закономерности связывания цинка на модельных концентрированных системах с массовой долей белка 3% и интактным распределением белков (WPC), а также на системах с превалирующим α -лактальбумином (WPC- α), полученных на предыдущем этапе исследования. Изучаемыми переменными параметрами являлись: pH среды (4,0; 6,0; 8,0 ед. pH), температура (2; 10; 20; 30; 40 °С), концентрация ионов цинка (1,5; 9 и 15 мМ). Результаты исследования кинетики хелатирования цинка белками представлены на Рисунке 3.

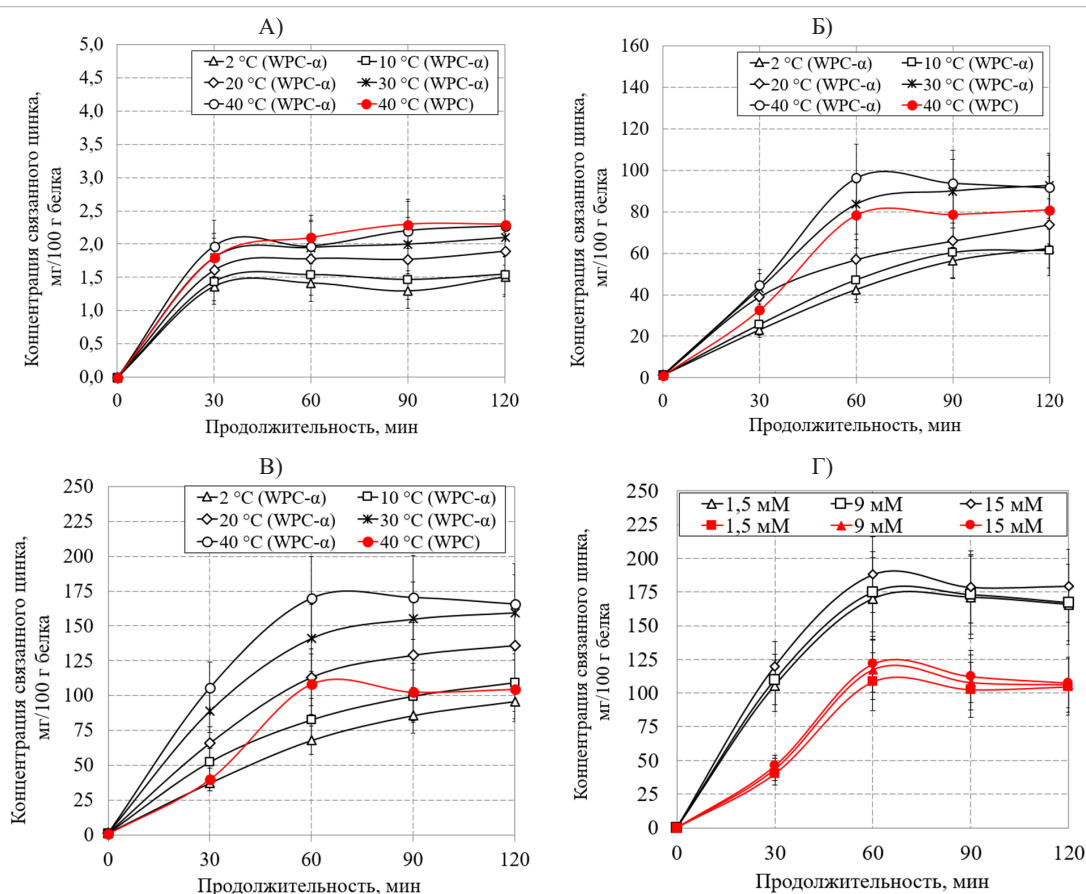


Рисунок 3. Кинетика хелатирования цинка белками молочной сыворотки (WPC- α — термоденатурированный белковый концентрат с преобладанием α -ЛА (черные линии); WPC — контрольный концентрат с нативным распределением белков (красные линии); А — pH 4,0; Б — pH 6,0; В — pH 8,0; Г — зависимость от концентрации ионов цинка)

Figure 3. Kinetics of zinc chelation by whey proteins (WPC- α — thermodenaturated whey concentrate with prevalence of α -LA (black lines); WPC — control concentrate with native distribution of proteins (red lines); А — pH 4.0; Б — pH 6.0; В — pH 8.0; Г — dependence on concentration of zinc ions)

По результатам исследования определен наиболее эффективный режим обогащения, соответствующий температуре 40 °С, pH 8 и продолжительности хелатирования 60 минут, что обеспечивает наибольшую концентрацию органически связанного цинка — 169,8±27,3 мг на 100 г белка. Выявлено, что матрица с повышенным содержанием α-ЛА связала в 1,6 раза больше микроэлемента, чем сыворотка с нативным распределением белков. Данная особенность может быть обусловлена как наличием отдельных сайтов, содержащих аспарагиновую и глутаминовую кислоты, цистеин, метионин и пр., способных координировать ион цинка [37–39], так и наличием специфических сайтов связывания двухвалентных металлов α-ЛА и БСА (KFLDDDLTDD и ECCHGDLLECADDRA соответственно), декальцинированных в процессе термоденатурации белков [32,33]. Установлено отсутствие влияния концентрации вносимых в систему ионов цинка (в исследуемых пределах) на концентрацию хелатированного белка цинка. Содержание органически связанного с белками молочной сыворотки цинка согласуется с результатами эксперимента по хелатированию цинка α-ЛА: 1,58 мг микроэлемента на 1 г белка [40]. Однако авторы приведенного исследования утверждают, что рациональными параметрами для обогащения белков цинком являются температура 20 °С, pH 4,5 и продолжительность хелатирования 2 минуты. Вероятно, разница в эффективности режимов хелатирования цинка в нашем исследовании и исследовании [40] обоснована разными механизмами хелатирования. Предварительное проведение термоденатурации и декальцинирования α-ЛА и БСА в присутствии ГМФ могло повлиять на структуру белковых молекул, а также на формирование межмолекулярных взаимодействий белков в матрице, в связи с чем хелатирование цинка белками молочной сыворотки при pH 4 было наименее эффективным, чем при pH 8 [41–43]. Механизм формирования комплекса цинк-белок в исследовании [40], по-видимому, связан с отсутствием изменения вторичной структуры белка при pH 4,5 и 20 °С и с частичным изменением гидрофобности: высвобождением аминокислотных групп, способных хелатировать цинк [44]. Можно сделать вывод о том, что при определении рациональных условий хелатирования ионов металлов сывороточными белками важно обращать внимание на его начальные структурные характеристики.

3.3. Подбор ферментного препарата, моделирование и оптимизация гидролиза модифицированных белков молочной сыворотки

Ранее проводили исследования, отражающие повышение количества связанного с белковыми фрагментами йода в результате частичного гидролиза полипептидной цепи, что может быть ассоциировано с увеличением количества ионогенных групп и с сорбци-

онной активностью [45]. В связи с этим на следующем этапе исследования проведены протеазный скрининг и биоинформатическое моделирование гидролиза белков молочной сыворотки [46] с учетом потенциальных аминокислотных сайтов связывания йода и хелатирования цинка, интегрированных в дескрипторную модель. Ключевым критерием протеазного скрининга был выбор ферментного препарата (или комплекса ФП), обеспечивающего максимальное высвобождение пептидов, способных связывать йод. При этом требовалось сохранить максимальную концентрацию цинка, хелатированного белками (сайты связывания двухвалентных металлов в α-ЛА (KFLDDDLTDD) и БСА (ECCHGDLLECADDRA)), и минимизировать образование горьких пептидов и аминокислот. По результатам биоинформатического моделирования установлено, что трипсин является единственной протеазой, практически не затрагивающей сайты KFLDDDLTDD и ECCHGDLLECADDRA и отвечающей перечисленным критериям (Таблица 2).

Для оптимизации параметров гидролиза трипсином (*in vitro*) проводили полнофакторный эксперимент с тремя параметрами, варьируемыми на трех уровнях: температура (X₁), активная кислотность, pH (X₂), продолжительность гидролиза (X₃) (Таблица 3). Эксперимент проводили при фермент-субстратном соотношении (E/S) 1/100 CPROT г/г.

Таблица 3. Уровни вариации независимых параметров при многофакторных экспериментах по оптимизации условий гидролиза WPC-α трипсином

Table 3. Levels of variation of independent parameters in multifactorial experiments on optimization of the conditions of WPC-α hydrolysis by trypsin

Параметр	Пере- менная	Уровень варьирования		
		–1	0	1
Активная кислотность, pH	X ₁	7	8	9
Температура, °С	X ₂	30	40	50
Продолжительность, мин	X ₃	30	105	180

Функция желательности соответствовала максимальной степени гидролиза субстрата трипсином, что было ассоциировано с доступностью аминокислотных сайтов для связывания йода. Поверхности отклика влияния варьируемых параметров эксперимента на степень гидролиза белкового субстрата трипсином представлены на Рисунке 4.

Таблица 2. Моделирование гидролиза сывороточных белков трипсином

Table 2. Modeling of hydrolysis of whey proteins by trypsin

Наименование фермента	Теоретическая степень гидролиза, %	Количество пептидов, потенциально хелатирующих ионы цинка, ед.	Количество пептидов, потенциально связывающих ионы йода, ед.	Количество свободных аминокислот, ед.	Количество фрагментов, обуславливающих горечь, ед.
α-лактальбумин					
Трипсин (КФ 3.4.21.4)	10,3	6	12	2	2
EQLTK - CEVFR - ELK - DLK - GYGGVSLPEWVCTTFHTSGYDTQAIQNNNSTEYGLFQINNK - IWCK - DDQNPHSSNICNISCDK - FLDDDLTDDIMCVK - K - ILDK - VGINYWLANK - ALCSEK - LDQWLCEK - L					
β-лактоглобулин					
Трипсин (КФ 3.4.21.4)	10,9	11	15	2	2
LIVTQTMK - GLDIQK - VAGTWYSLAMAASDISLLDAQSAPLR - VYVEELK - PTEGDLLEILLQK - WENGECAGK - K - IAEK - TK - IPAVFK - IDALNENK - VLVLDTDYK - K - YLLFCMENSAEPEQSLACQCLVR - TPEVDDEALEK - FDK - ALK - ALPMHIR - LSFNPTQLEEQCHI					
BCA					
Трипсин (КФ 3.4.21.4)	13,7	46	68	7	4
R - GVFR - R - DTHK - SEIAHR - FK - DLGEEHFK - GLVLIAFSQYLQOCPFDEHVK - LVNELTEFAK - TCVADESHAGCEK - SLHTLFGDELCK - VASLR - ETYGMADCCCEK - QEPER - NECFLSHK - DDSFDLPK - LK - PDPNTLCDEFK - ADEK - K - FWGK - YLYEIAK - R - HPYFYAPELLYYANK - YNGVFOECCQAEDK - GACLLPK - IETMR - EK - VLASSAR - QR - LR - CASIQK - FGER - ALK - AWSVAR - LSQK - FPK - AEFVEVTK - LVTDLTK - VHK - ECCHGDLLECADDR - ADLAK - YICDNQDTISSK - LK - ECCDK - PLLEK - SHCIAEVEK - DAIPENLPPLTADFAEDK - DVCK - NYQEAQ - DAFLGSFLYEYSR - R - HPEYAVSVLLR - LAK - EYEATLEECCA - DDPHACYSTVFDK - LK - HLVDPEQNLIK - QNCQDFEK - LGEYGFQNALIVR - YTR - K - VPQVSTPTLVEVSR - SLGK - VGTR - CCTK - PESER - MPCTEDYLSLILNR - LCVLHEK - TPVSEK - VTK - CCTESLVNR - R - PCFSALTPDETYVPK - AFDEK - LFTFHADICTLPDEK - QIK - K - QTALVELLK - HK - PK - ATEEQLK - TVMENFVAFVDK - CCAADDK - EACFAVEGPK - LVVSTQTLA					
КРАСНЫЕ – АК, одновременно координирующие Zn и связывающие I (E; R; D; F)					
ГОЛУБЫЕ – АК, координирующие Zn (C; H; M)					
ЗЕЛЕНый – АК, связывающие I (G; Y; P; W; A)					
KFLDDDLTDD – сайт связывания двухвалентных металлов α-ЛА; ECCHGDLLECADDRA – сайт связывания двухвалентных металлов БСА					

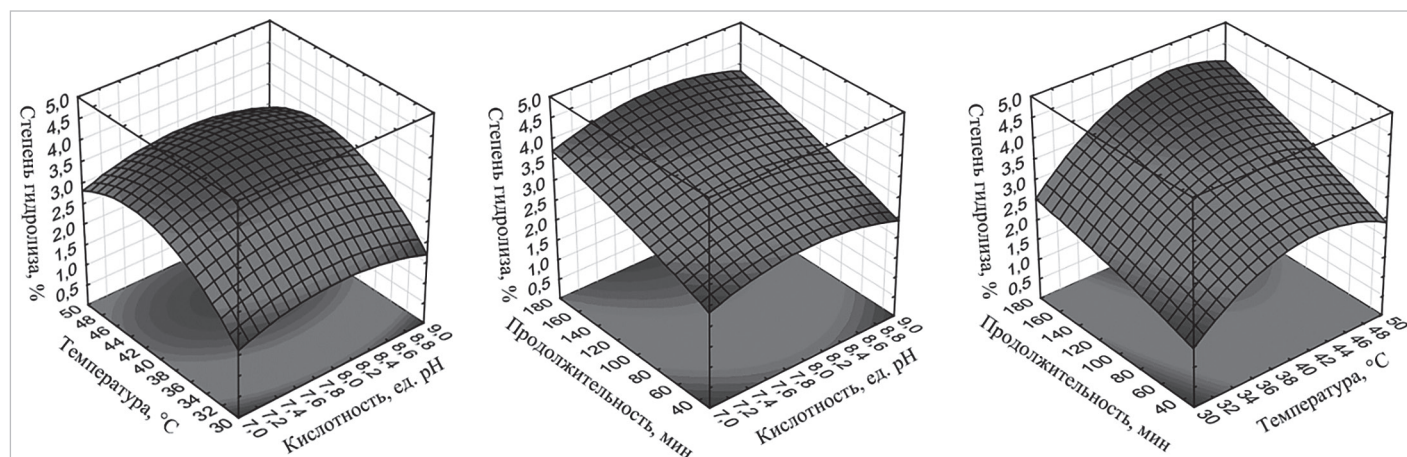


Рисунок 4. Оптимизация условий процесса гидролиза WPC-α трипсином
Figure 4. Optimization of the conditions of the process of WPC-α hydrolysis by trypsin

Установлено статистически значимое ($p < 0,05$) влияние линейных факторов температуры (X_2) и продолжительности гидролиза (X_3), а также их совокупного воздействия на увеличение ДН. Кроме того, показано значимое влияние квадратичных факторов кислотности (X_1) и температуры (X_2), что говорит о существовании локальных оптимумов данных параметров процесса. Квадратичное влияние температуры на степень гидролиза и снижение изучаемого параметра при отклонении от оптимума также отмечены в других исследовательских работах [47].

По результатам проведенной оптимизации получено уравнение 3, включающее факторы, оказывающие значимое влияние на степень гидролиза WPC-α трипсином.

$$Y_{\text{ДН}} = -40,816 + 6,846X_1 - 0,428X_1^2 + 0,749X_2 - 0,009X_2^2 + 0,003X_3 + 0,002X_2X_3 \quad (3)$$

По результатам оптимизации параметров процесса гидролиза WPC-α трипсином определены оптимальные режимы, соответствующие pH 8,0, температуре 44 °C, продолжительности гидролиза 180 минут, что обеспечивает степень гидролиза субстрата 4,35% и уровень желательности 95,4% (при исследуемом Е/С).

3.4. Исследование кинетики связывания йода модифицированной матрицей сывороточных белков

Дальнейший этап исследования заключался в определении зависимости степени связывания йода с WPC и гидролизатами WPC-α (HWPC-α) от температурного (2; 10; 20; 30; 40 °C) и кислотного (6,0; 7,0; 8,0 ед. pH) факторов, продолжительности процесса (6; 12; 18; 24 ч) и концентрации ионов молекулярного йода (0,8; 1,6; 2,4 М). По результатам исследований, проведенных с нативными белками, установле-

но, что при значениях pH 6,0 и pH 7,0 йод не связывался с белками, что, согласно литературным данным, может быть обусловлено спецификой формирования ковалентной связи йода с ароматическими аминокислотами в щелочной среде ввиду наличия в молекуле гидроксильной группы, которая является сильным орто-пара-ориентантом, способствующим протеканию процесса электрофильного замещения [16]. Результаты исследования кинетики связывания йода с белками молочной сыворотки представлены на Рисунке 5.

Установлено, что при 20 °C, pH 8,0 и продолжительности йодирования 24 часа нативные сывороточные белки связывали наибольшее количество микроэлемента, равное $1,3 \pm 0,3$ г йода на 100 г белка. Анализ данных показал, что оптимальные параметры йодирования — температура 20 °C, pH 8,0 и продолжительность 12 часов, при которых концентрация органического йода в гидролизате составила $2,5 \pm 0,5$ г на 100 г белка. Для нативных белков концентрация йода за 12 часов составила $0,7 \pm 0,1$ г на 100 г белка. Таким образом, подтверждено, что ферментативный гидролиз повышает степень связывания белка с йодом, которое, вероятно, обусловлено увеличением количества доступных функциональных групп, способных связать микроэлемент [45]. Кроме того, полученный результат согласуется с содержанием органически связанного йода в ранее разработанной пищевой добавке «Биоид», получаемой при ферментативном йодировании сывороточных белков [48].

На второй стадии исследования кинетики связывания йода с модифицированной матрицей сывороточных белков проведены исследования, направленные на оценку изменения участков связывания цинка и сайтов связывания йода в зависимости от продолжительности гидролиза субстрата (15; 30; 45; 60; 90; 120; 150 и 180 минут) и фермент-

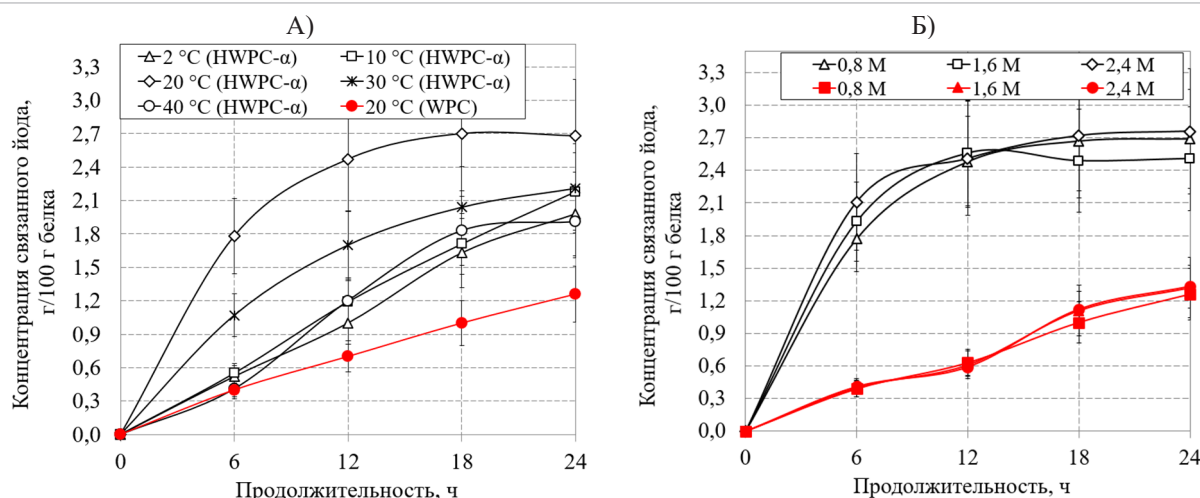


Рисунок 5. Кинетика связывания йода с гидролизатами белков молочной сыворотки (HWPC-α — гидролизат белкового гидро модуля с повышенным содержанием α-ЛА) и концентратом белков молочной сыворотки (WPC — контрольный концентрат с интактным распределением белковых фракций); А — зависимость от температуры и продолжительности процесса, Б — зависимость от концентрации йода и продолжительности процесса)

Figure 5. Kinetics of the iodine binding with whey protein hydrolyzates (HWPC-α — hydrolyzate of protein hydromodule with increased content of α-LA) and whey protein concentrate (WPC — control concentrate with intact distribution of protein fractions); A — dependence on process temperature and duration, Б — dependence on iodine concentration and process duration)

субстратного соотношения (1/75; 1/100; 1/500 CPROT г/г). В качестве контролируемых параметров также исследовали следующие показатели: степень гидролиза, концентрацию свободных аминокислот и интенсивность горечи. Результаты представлены на Рисунках 6 и 7.

Установлено, что рациональным следует считать E/S1/100 CPROT г/г, так как при гидролизе WPC- α , обогащенного цинком, концентрация микроэлемента статистически значимо не изменялась ($161,7 \pm 26,7$ мг/100 г белка) на протяжении 165 минут гидролиза (DH = $4,4 \pm 0,3$ %), а концентрация связанного йода при такой степени гидролиза белка достигала максимума ($2,5 \pm 0,4$ г/100 г белка). Гидролизаты сывороточных белков характеризовались отсутствием горечи и концентрацией САК $1,8 \pm 0,2$ мг экв. глутаминовой кислоты/мл.

3.5. Подбор рациональных режимов очистки матриц микроэлемент-белок от неорганических примесей

Для очистки белкового субстрата с органически связанными формами микроэлементов от неорганического йода и цинка исследована эффективность баромембранных процессов на каждой стадии

иммобилизации микроэлементов, с использованием мембранных элементов из полиэфирсульфона. Эксперименты проводили с применением мембран с порогом задержки 5,0 и 0,6 кДа (ультра- и нанофильтрация соответственно). Диафильтрацию (DF) проводили путем разбавления гидролизатов сопоставимым объемом обратн-осмотической воды с последующим концентрированием при температуре (10 ± 2) °С. Определение эффективности очистки детектировали по массопереносу белковых веществ, цинка и йода в ретентате и пермеате. Результаты сравнения очистки гидролизатов методом ультра- и нанофильтрации представлены на Рисунке 8.

Установлены эффективные параметры очистки, соответствующие трехкратной диафильтрации с применением ультрафильтрационной мембраны (с порогом задержки 5 кДа) для WPC- α , обогащенного цинком, и диафильтрации с применением нанофильтрационной мембраны (с порогом задержки 0,6 кДа) для HWPC- α , обогащенного йодом и цинком. Конечная концентрация органически связанных микроэлементов составила $168,0 \pm 26,3$ мг/100 г белка и $2,5 \pm 0,3$ г/100 г для цинка и йода соответственно. Несмотря на то, что ранее для

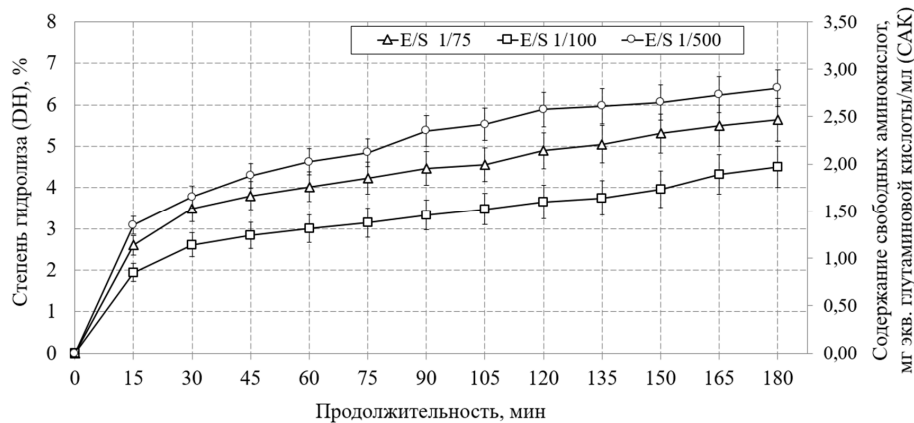


Рисунок 6. Динамика изменения степени гидролиза и накопления свободных аминокислот в зависимости от фермент-субстратного соотношения в процессе гидролиза WPC- α трипсином

Figure 6. Dynamics of the change in the degree of hydrolysis and accumulation of free amino acids depending on the enzyme-substrate ratio in the process of WPC- α hydrolysis by trypsin

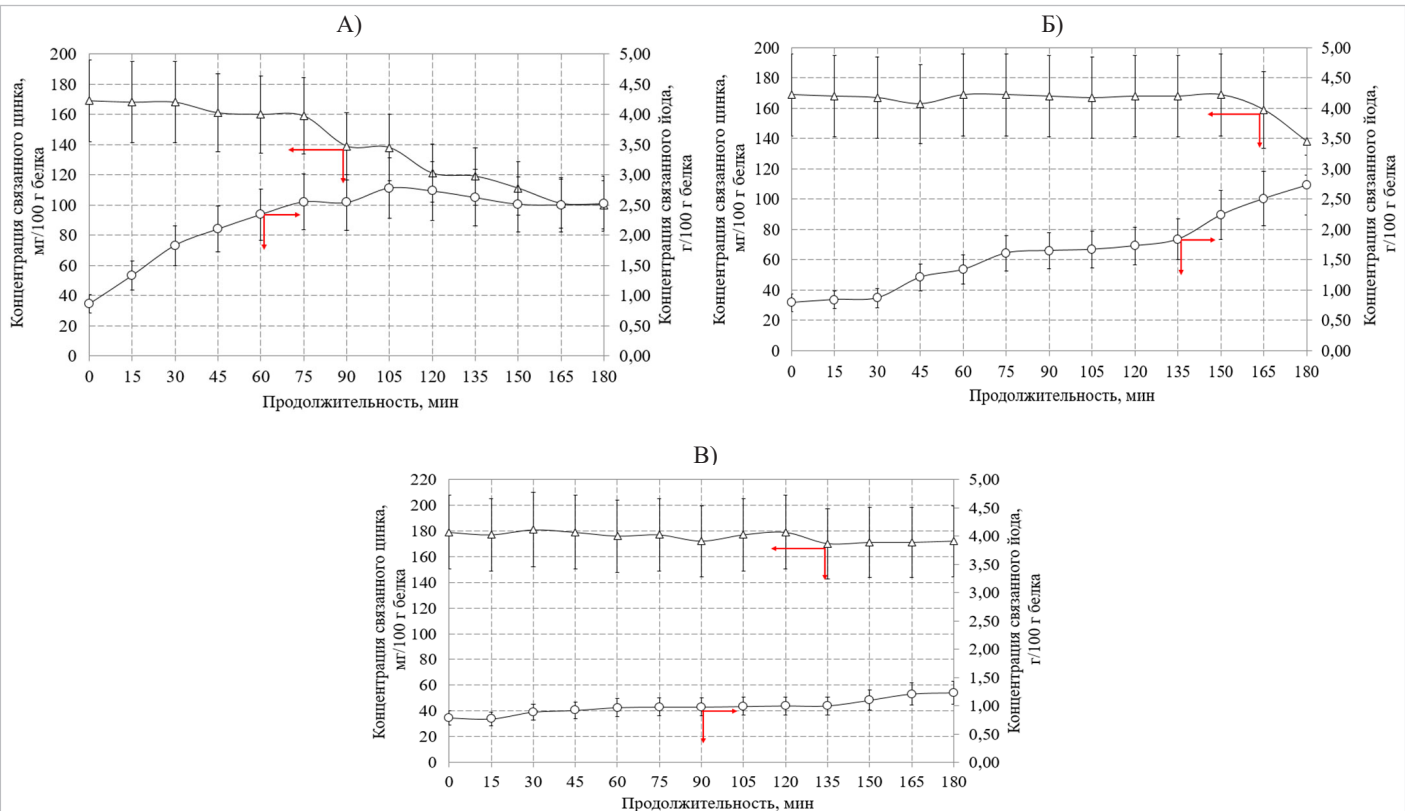
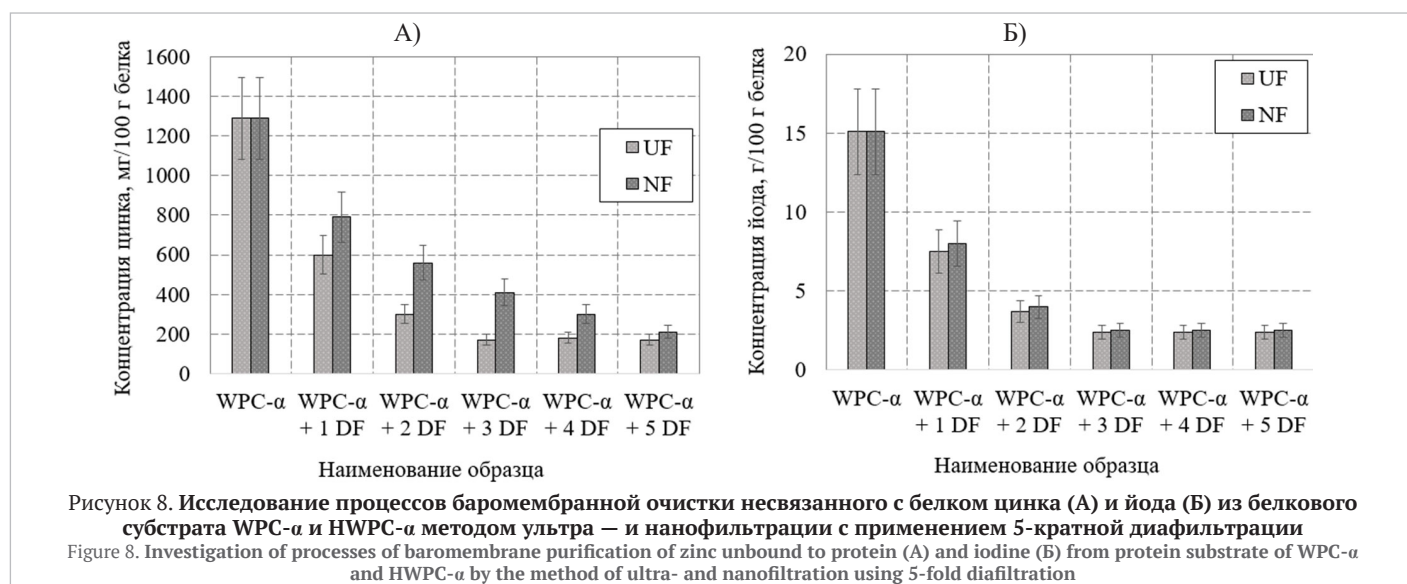


Рисунок 7. Зависимость изменения концентрации связанного цинка и йода от фермент-субстратного соотношения и продолжительности гидролиза WPC- α трипсином (А – E/S1/75; Б – E/S1/100; В – E/S1/500)

Figure 7. Dependence of the change in the concentration of bound zinc and iodine on the enzyme-substrate ratio and duration of WPC- α hydrolysis by trypsin (А – E/S1/75; Б – E/S1/100; В – E/S1/500)



очистки гидролизата сывороточных белков с ковалентно связанным йодом от неорганических примесей микроэлементов применяли ультрафильтрацию [49], в настоящем исследовании при ультрафильтрации наблюдался переход через мембрану части гидролизованных белковых веществ, соответственно, происходила потеря связанного йода. Подобный эффект может быть обусловлен высвобождением пептидов с молекулярной массой менее 5 кДа при заданных условиях гидролиза, которые, по данным [50], могут составлять около 15% от общего количества пептидов с разной молекулярной массой.

4. Выводы

По результатам проведения комплекса исследований установлены оптимальные условия термoselectивного осаждения α -ЛА (58 °C; pH 3,0; 0,2% ГМФ; 120 мин), обеспечивающие получение матрицы с измененным соотношением β -ЛГ к α -ЛА с 2,2 к 1 (для субстрата) до 0,7 к 1. Полученные данные об условиях фракционирования позволяют использовать в качестве сырья для получения белкового концентрата творожную сыворотку. Определены рациональные параметры хелатирования цинка модифицированными сывороточными белками: температура 40 °C, pH 8,0, продолжительность 60 минут, при этом содержание органически связанного цинка достигает 169,8 $\pm$ 27,3 мг в 100 г белка. В результате протеазного скрининга в ка-

честве фермента, обеспечивающего сохранность ключевых участков связывания цинка и увеличения потенциальных сайтов связывания йода, выбран трипсин. Подбор оптимальных параметров гидролиза WPC- α трипсином позволил выявить наилучшие параметры процесса: температура 44 °C, pH 8,0 и продолжительность 180 минут, что обеспечило степень гидролиза 4,35%. Также установлены эффективные режимы протеолиза сывороточных белков, обогащенных цинком (фермент-субстратное соотношение 1/100 CPROT г/г; 44 °C; pH 8,0; 165 минут), и йодирования гидролизата (20 °C; pH 8,0; 12 ч), обеспечивающие концентрацию органически связанного йода 2,5 $\pm$ 0,4 г на 100 г белка и сохранение начальной концентрации органически связанного цинка. Для каждого этапа обогащения белковой матрицы микроэлементами определены рациональные параметры баромембранной очистки белковой матрицы от неорганических форм йода и цинка: трехкратная ультрадиафильтрация для этапа хелатирования цинка и нанодиафильтрация для этапа связывания йода. Полученные результаты могут быть использованы при разработке новых функциональных пищевых продуктов и технологий глубокой переработки молочной сыворотки. Полученные данные подтверждают перспективность технологии последовательного хелатирования цинка и йодирования белков молочной сыворотки для создания пищевых ингредиентов профилактического назначения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК/ REFERENCES

- Niggli, U., Sonneveld, M., Kummer, S. (2023). Pathways to advance agroecology for a successful transformation to sustainable food systems. Chapter in a book: Science and Innovations for Food Systems Transformation. Springer Cham, 2023. https://doi.org/10.1007/978-3-031-15703-5_18
- Яшин, А. Н., Петров, А. Н. (2023). Актуальность разработки обогащенных микроэлементами продуктов питания для диетотерапии при сердечно-сосудистых заболеваниях. *Пищевые системы*, 6(3), 272–278. [Yashin, A. N., Petrov, A. N. (2023). The relevance of the development of food products enriched with trace elements for diet therapy in cardiovascular disease. *Food Systems*, 6(3), 272–278. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-3-272-278>
- Kumar, A., Kerketta, A., Dewali, S., Sharma, N., Panda, A. K., Bisht, S. S. (2023). Tackling hidden hunger: Understanding micronutrient deficiency and effective mitigation strategies. Chapter in a book: Emerging Solutions in Sustainable Food and Nutrition Security. Springer Cham, 2023. https://doi.org/10.1007/978-3-031-40908-0_12
- Yilmaz, H., Yilmaz, A. (2025). Hidden hunger in the age of abundance: The nutritional pitfalls of modern staple crops. *Food Science and Nutrition*, 13(2), Article e4610. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4610>
- Malézieux, E., Verger, E. O., Avallone, S., Alpha, A., Ngigi, P. B., Lourme-Ruiz, A. et al. (2024). Biofortification versus diversification to fight micronutrient deficiencies: An interdisciplinary review. *Food Security*, 16, 261–275. <https://doi.org/10.1007/s12571-023-01422-z>
- Thiviya, P., Gamage, A., Kapilan, R., Merah, O., Madhujith, T. (2022). Single cell protein production using different fruit waste: A review. *Separations*, 9(7), Article 178. <https://doi.org/10.3390/separations9070178>
- Passarelli, S., Free, Ch. M., Shepon, A., Beal, T., Batis, C., Golden, Ch. D. (2024). Global estimation of dietary micronutrient inadequacies: A modelling analysis. *The Lancet Global Health*, 12(10), E1590–E1599. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(24\)00276-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(24)00276-6)
- Roth, J. A., Galyon, J. (2024). Food security: The ultimate one-health challenge. *One Health*, 19, Article 100864. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2024.100864>
- Colgrave, M. L., Dominik, S., Tobin, B. A., Stockmann, R., Simon, C., Howitt, C. A. et al. (2021). Perspectives on future protein production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(50), 15076–15083. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c05899>
- Hendriks, S., Jean-François, S. Cole, M., Kambugu, F., Zilberman, D. et al. (2023). Ensuring access to safe and nutritious food for all through the transformation of food systems. Chapter in a book: Science and Innovations for Food Systems Transformation. Springer Cham, 2023. https://doi.org/10.1007/978-3-031-15703-5_4
- Ladnova, O. L., Bolshakova, L. S., Kuzina, A. V., Izvekova, E. V., Merkulova, E. G., Ashikhina, L. A. (February 26–29, 2020). *Development of technology of cottage cheese enriched with iodine and succinic acid*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 640(3), Article 032016. Voronezh, Russian Federation, 2020. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/3/032016>
- Rai, D., Chaudhary, Ch., Khatak, A., Banyal, S. (2024). A sustainable approach to combat micronutrient deficiencies and ensure global food security through biofortification. *European Journal of Nutrition and Food Safety*, 16(4), 15–30. <https://doi.org/10.9734/ejnsf/2024/v16i41404>
- Li, J., Martin, C., Fernie, A. (2024). Biofortification's contribution to mitigating micronutrient deficiencies. *Nature Food*, 5(1), 19–27. <https://doi.org/10.1038/s43016-023-00905-8>
- Izydorczyk, G., Ligas, B., Mikula, K., Witek-Krowiak, A., Moustakas, K., Chojnacka K. (2021). Biofortification of edible plants with selenium and iodine—A systematic literature review. *Science of The Total Environment*, 754, Article 141983. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141983>
- Azorín, I., Madrid, J., Martínez-Miró, S., López, M., López, M. B., López, M. J. et al. (2024). Combined supplementation of two selenium forms (organic and inorganic) and iodine in dairy cows' diet to obtain enriched milk, cheese, and yogurt. *Animals*, 14(9), Article 1373. <https://doi.org/10.3390/ani14091373>
- Барковская, И. А., Кручинин, А. Г., Рожкова, И. В. (2024). Дефицит йода в России: современное состояние проблемы, мировая практика и новые подходы к терапии. *Пищевые системы*, 7(2), 238–245. [Barkovskaya, I. A., Kruchinin, A. G., Rozhkova, I. V. (2024). Iodine deficiency in Russia: Current state of the problem, global practice and new approaches to therapy. *Food Systems*, 7(2), 238–245. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-238-245>

17. Vinogradov, D. V., Lupova, E. I., Pityurina, I. S. (March 29–30, 2021). *The use of iodine-containing additives in bakery production technology*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 954(1), Article 012046. Omsk City, Western Siberia, Russian Federation, 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/954/1/012046>
18. Бирюкова, З. А., Пантелеева, О. Г., Юрова, Е. А., Гончарова, А. Я. (2014). Сохранность йода в молоке при стерилизации и хранении. *Молочная промышленность*, 10, 54–56. [Biryukova, Z. A., Panteleeva, O. G., Yurova, E. A., Goncharova, A. Ya. (2014). Preservation of iodine in fortified milk at sterilization and storage. *Milk Industry*, 10, 54–56. (In Russian)]
19. Зобкова, З. С. (2020). Внедрение и коммерциализация результатов научно-исследовательских работ в цельномолочной отрасли. *Актуальные вопросы молочной промышленности, межотраслевые технологии и системы управления качеством*, 1(1), 199–204. [Zobkova, Z. S. (2020). Implementation and commercialization of the investigations results in whole milk branch. *Topical Issues of the Dairy Industry, Cross-Sectoral Technologies and Quality Management Systems*, 1(1), 199–204. (In Russian)] <https://doi.org/10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-199-204>
20. Танина, В. И., Ионова, И. И., Фильчакова, С. А., Лукин, Д. С. (2012). Питьевое молоко с йодсодержащими добавками. *Переработка молока*, 5(151), 16–17. [Tanina, V. I., Ionova, I. I., Filchakova, S. A., Lukin, D. S. (2012). Drinking milk with iodine-containing additives. *Milk Processing*, 5(151), 16–17. (In Russian)]
21. Барковская, И. А. (2024). Перспективы обогащения молочных консервов йодированными сывороточными белками. *Молочная промышленность*, 2, 35–39. [Barkovskaya, I. A. (2024). Prospects for fortifying preserved dairy products with iodized whey proteins. *Milk Industry*, 2, 35–39. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2024-2-6>
22. Wachowska, M., Adamczak, M. (2023). Importance of iodine fortification in food production: Human health and technology. *Journal of Elementology*, 28(1), 199–222. <https://doi.org/10.5601/jelem.2022.27.4.2342>
23. Arias-Borrego, A., Velasco, I., Gómez-Ariza, J. L., García-Barrera, T. (2022). Iodine deficiency disturbs the metabolic profile and elemental composition of human breast milk. *Food Chemistry*, 371, Article 131329. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131329>
24. Bonofiglio, D., Catalano, S. (2020). Effects of iodine intake and nutraceuticals in thyrology: Update and prospects. *Nutrients*, 12(5), Article 1491. <https://doi.org/10.3390/nu12051491>
25. Gharibzadeh, S. M. T., Jafari, S. M. (2017). The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science and Technology*, 62, 119–132. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.017>
26. Мухидинов, З. К., Касымова, Г. Ф., Джураева, Ф. Н., Бобокалонов, Д. Т., Халикова, М. Д., Тешаев, Х. И. (2008). Белки молочной сыворотки: анализ компонентного состава в полиакриламидном геле, выделение основных сывороточных белков. *Известия Академии наук Республики Таджикистан. Отделение физико-математических, химических, геологических и технических наук*, 1, 52–57. [Muhidinov, Z. K., Kasimova, G. F., Juraeva, F. N., Bobokalonov, D. T., Khalikova, M. D., Teshae, Kh. I. (2008). Whey protein: Composition analysis on the PAAG, separation by ion exchange chromatography. *News of the Academy of sciences of the Republic of Tajikistan. Department of Physical, Mathematical, Chemical, Geological and Technical Sciences*, 1, 52–57. (In Russian)]
27. Полищук, Е. К., Арюзина, М. А., Спирина, М. Е., Котенкова, Е. А. (2023). Влияние pH на извлечение белков из поджелудочной железы *Sus scrofa*. *Пищевые системы*, 6(4), 539–546. [Polishchuk, E. K., Aryuzina, M. A., Spirina, M. E., Kotenkova, E. A. (2023). Influence of pH on protein extraction from *Sus scrofa* pancreas. *Food Systems*, 6(4), 539–546. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-539-546>
28. Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(6), 1256–1262. <https://doi.org/10.1021/jf60226a042>
29. Spellman, D., McEvoy, E., O'cuinn, G., FitzGerald, R. J. (2003). Proteinase and exopeptidase hydrolysis of whey protein: Comparison of the TNBS, OPA and pH stat methods for quantification of degree of hydrolysis. *International Dairy Journal*, 13(6), 447–453. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00053-0)
30. Chen, L., Chen, Q., Zhang, Z., Wan, X. (2009). A novel colorimetric determination of free amino acids content in tea infusions with 2,4-dinitrofluorobenzene. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(2), 137–141. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.08.007>
31. Spellman, D., O'cuinn, G., FitzGerald, R. J. (2009). Bitterness in *Bacillus* proteinase hydrolysates of whey proteins. *Food Chemistry*, 114(2), 440–446. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.067>
32. Permyakov, E. A. (2020). α -Lactalbumin, amazing calcium-binding protein. *Biomolecules*, 10(9), Article 1210. <https://doi.org/10.3390/biom10091210>
33. UniProt. (n. d.). P02769 ALBU_BOVIN. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P02769/entry> Accessed March 08, 2025
34. Барковская, И. А., Кручинин, А. Г. (2024). Исследование процесса селективной термоденатурации белков молочной сыворотки. *Пищевая промышленность*, 11, 34–37. [Barkovskaya, I. A., Kruchinin, A. G. (2024). Study of the process of selective thermodenaturation of whey proteins. *Food Industry*, 11, 34–37. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.11.11.006>
35. McGuffey, M. K., Otter, D. E., van Zanten, J. H., Foegeding, E. A. (2007). Solubility and aggregation of commercial α -lactalbumin at neutral pH. *International Dairy Journal*, 17(10), 1168–1178. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.04.003>
36. Сордонова, Е. В., Жамсаранова, С. Д., Лыгденов, Д. В. (2018). Разработка и характеристика органических производных йода и цинка. *Вестник ВСГУ-ТУ*, 2(69), 73–79. [Sordonova, E. V., Zhamsaranova, S. D., Lygdenov, D. V. (2018). Development and characterization of organic iodine and zinc derivatives. *ESSUTM Bulletin*, 2(69), 73–79. (In Russian)]
37. Кутяков, В. А., Салмина, А. Б. (2014). Металлотионеины как сенсоры и регуляторы обмена металлов в клетках. *Бюллетень сибирской медицины*, 13(3), 91–99. [Kutyakov, V. A., Salmina, A. B. (2014). Metallothioneins as sensors and controls exchange of metals in the cells. *Bulletin of Siberian Medicine*, 13(3), 91–99. (In Russian)]
38. Popov, I. A., Indeikina, M. I., Kononikhin, A. S., Starodubtseva, N. L., Nikolaev, E. N., Kozin, S. A. et al. (2013). ESI-MS identification of the minimal zinc-binding center in natural isoforms of β -amyloid domain 1–16. *Molecular Biology*, 47(3), 440–445. <https://doi.org/10.1134/S002689331302012X>
39. Pinto, L. D., Puppini, P. A. L., Behring, V. M., Alves, O. C., Rey, N. A., Felcman, J. (2012). Solution and solid state study of copper (II) ternary complexes containing amino acids of interest for brain biochemistry-2: Homocysteine with aspartate, glutamate or methionine. *Inorganica Chimica Acta*, 386, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.01.025>
40. Gołębiowski, A., Pomastowski, P., Rafińska, K., Zuvela, P., Wong, M. W., Pryshchepa, O. et al. (2022). Functionalization of alpha-lactalbumin by zinc ions. *ACS Omega*, 7(43), 38459–38474. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c03674>
41. Dissanayake, M., Ramchandran, L., Piyadasa, C., Vasiljevic, T. (2013). Influence of heat and pH on structure and conformation of whey proteins. *International Dairy Journal*, 28(2), 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.08.014>
42. Калугина, Д. Н., Юрова, Е. А. (2021). Характеристики белкового состава в формировании сроков годности молока ультрапастеризованного. *Вестник КрасГАУ*, 10, 165–172. [Kalugina, D. N., Yurova, E. A. (2021). The protein composition characteristics in the formation of ultra pasteurized milk shelf life. *Bulletin of KSAU*, 10, 165–172. (In Russian)] <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2021-10-165-172>
43. Алкадур, М. И., Пряничникова, Н. С., Юрова, Е. А., Петров, А. Н. (2024). Влияние термизации и пастеризации на качество сухого молока. *Техника и технология пищевых производств*, 54(2), 275–284. [Alkadour, M. I., Pryanichnikova, N. S., Yurova, E. A., Petrov, A. N. (2024). Effect of thermal treatment and pasteurization on milk powder quality. *Food Processing: Techniques and Technology*, 54(2), 275–284] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2506>
44. Lam, R. S. H., Nickerson, M. T. (2015). The effect of pH and temperature pretreatments on the physicochemical and emulsifying properties of whey protein isolate. *LWT — Food Science and Technology*, 60(1), 427–434. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.031>
45. Ибрагимова, З. Р., Цопанова, Е. И., Симеониди, Д. Д. (2015). Получение и аспекты рационального применения йодированных белков в технологии функциональных продуктов питания. *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов*, 5(34), 73–77. [Ibragimova, Z. R., Tsorpanova, E. I., Simeonidi, D. D. (2015). Preparation and aspects of the rational use of iodized proteins in technology of functional foods. *Technology and Merchandising of the Innovative Foodstuff*, 5(34), 73–77. (In Russian)]
46. Kruchinin, A. G., Bolshakova, E. I. (2022). Hybrid strategy of bioinformatics modeling (in silico): Biologically active peptides of milk protein. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(1), 46–57. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-46-57>
47. Ульрих, Е. В., Кригер, О. В., Потураева, Н. Л., Будрик, В. Г., Ботина, С. Г., Агаркова, Е. Ю. и др. (2012). Технология структурированного гипоаллергенного продукта. *Техника и технология пищевых производств*, 4(27), 76А–80. [Ulrikh, E. V., Kriger, O. V., Poturaeva, N. L., Budrik, V. G., Botina, S. G., Agarkova, E. J. et al. (2012). Technology of structured hypoallergenic food product. *Food Processing: Techniques and Technology*, 4(27), 76А–80. (In Russian)]
48. Донская, Г. А., Креккер, Л. Г., Колосова, Е. В., Бычкова, Т. С., Карапетян, В. К. (2024). Радиопротекторные ингредиенты композиционного молочного продукта. *Вестник МГТУ*, 27(2), 193–204. [Donskaja, G. A., Krekker, L. G., Kolosova, E. V., Bychkova, T. S., Karapetyan, V. K. (2024). Radioprotective ingredients of a composite dairy product. *Vestnik of MSTU*, 27(2), 193–204. (In Russian)] <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2024-27-2-193-204>
49. Большакова, Л. С., Литвинова, Е. В., Кузина, А. В., Лисицын, А. Б., Чернуха, И. М. (2013). Исследование профилактической эффективности биологически активной добавки Биойод. *Фундаментальные исследования*, 10–11, 2401–2404. [Bolshakova, L. S., Litvinova, E. V., Kuzina, A. V., Lisitsyn, A. B., Chernuha, I. M. (2013). Study of prophylactic effectiveness of the biologicals active additives Bioiod. *Fundamental Research*, 10–11, 2401–2404. (In Russian)]
50. Семенова, Е. С., Симоненко, Е. С., Симоненко, С. В., Зорин, С. Н., Петров, Н. А., Мазо, В. К. (2023). Исследование процесса гидролиза белков молока с использованием ферментных препаратов отечественного производства. *Пищевые системы*, 6(2), 224–232. [Semenova, E. S., Simonenko, E. S., Simonenko, S. V., Zorin, S. N., Petrov, N. A., Mazo, V. K. (2023). Study of the process of hydrolysis of milk proteins using enzyme preparations of domestic and production. *Food Systems*, 6(2), 224–232] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-224-232>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Барковская Ирина Александровна — аспирант, младший научный сотрудник, Лаборатория технологий биотрансформации и консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35/7 Тел.: +7-499-236-02-36 E-mail: i_barkovskaya@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4779-1076 * автор для контактов	Irina A. Barkovskaya, Postgraduate Student, Junior Researcher, Laboratory of Biotransformation and Preservation Technologies, All-Russian Dairy Research Institute 35/7, Lyusinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel: +7-499-236-02-36 E-mail: i_barkovskaya@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4779-1076 * corresponding author
Рябова Анастасия Евгеньевна — доктор технических наук, научный сотрудник, Лаборатория технологий биотрансформации и консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35/7 Тел.: +7-499-236-02-36 E-mail: a_ryabova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5712-2020	Anastasia E. Ryabova, Doctor of Technical Sciences, Researcher, Laboratory of Biotransformation and Preservation Technologies, All-Russian Dairy Research Institute 35/7, Lyusinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel: +7-499-236-02-36 E-mail: a_ryabova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5712-2020
Рожкова Ирина Владимировна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Лаборатория прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35/7 Тел.: +7-499-236-72-16 E-mail: i_rozhkova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4441-4515	Irina V. Rozhkova, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Applied Microbiology and Genomics of Microorganisms, Laboratory of Applied Microbiology and Microbial Genomics, All-Russian Dairy Research Institute 35/7, Lyusinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel: +7-499-236-72-16 E-mail: i_rozhkova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4441-4515
Критерии авторства	Contribution
Концептуализация — Барковская И. А.; Обработка данных — Барковская И. А.; Исследование — Барковская И. А., Рожкова И. В.; Управление проектом — Рябова А. Е.; Контроль — Рябова А. Е.; Написание текста — первоначальная версия — Барковская И. А.; Написание текста — рецензирование и редактирование — Рябова А. Е., Рожкова И. В.	Conceptualization — Barkovskaya I. A.; Data curation — Barkovskaya I. A.; Investigation — Barkovskaya I. A., Rozhkova I. V.; Project administration — Ryabova A. E.; Supervision — Ryabova A. E.; Writing — original draft — Barkovskaya I. A.; Writing — review & editing — Ryabova A. E., Rozhkova I. V.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.