

УДК 637.1

DOI: 10.31208/2618-7353-2019-8-81-88

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ОБРАБОТКА КАК ИНСТРУМЕНТ ПРИДАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКАМ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

ENZYMATIC PROCESSING AS A TOOL OF GIVING FUNCTIONAL PROPERTIES TO PROTEINS OF MILK SERUM

Агаркова Е.Ю., кандидат технических наук
Кручинин А.Г., кандидат технических наук
Рязанцева К.А., кандидат технических наук
Пряничникова Н.С., кандидат технических наук

Agarkova E.Yu., candidate of technical sciences
Kruchinin A.G., candidate of technical sciences
Ryazantzeva K.A., candidate of technical sciences
Pryanichnikova N.S., candidate of technical sciences

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва

All-Russian Research Institute of Dairy Industry, Moscow

Модификация белков молочной сыворотки для улучшения или изменения их функциональных свойств может значительно расширить область применения таковых, в том числе и для создания функциональных ингредиентов. Данный процесс возможно реализовать при помощи ферментативного гидролиза. Ферментативный гидролиз обеспечивает максимальное сохранение питательной ценности и получение продукта с желаемой глубиной гидролиза. Это обусловлено тем, что ферментативный гидролиз может быть проведен при мягких технологических режимах: нейтральном рН, умеренных температурах (45-60°C), что позволяет получать пищевые ингредиенты – белковые гидролизаты – с высокой биологической ценностью, поскольку в отличие от кислотного и щелочного гидролиза при ферментативной конверсии пищевых белков полностью сохраняются термолабильные незаменимые аминокислоты, такие как: лизин, лейцин, аспарагиновая кислота, метионин, триптофан, цистеин и тирозин, и не наблюдается образования трудноусваиваемых циклических пептидов и дикетопиперазинов.

Так как ферменты обладают высокой избирательной способностью, то необходим соответствующий их подбор для осуществления гидролитического воздействия на определенные химические связи в молекулах белка. В статье представлены аналитические данные по обзору свойств различных ферментных препаратов, способных придать дополнительные функциональные свойства сывороточным белкам с сохранением приемлемых органолептических характеристик и приданием определенных функциональных свойств. Использование аналитических и биоинформационных методов исследований позволит минимизировать затраты при создании функциональных ингредиентов из молочных белков с прогнозируемыми свойствами, такими как антиоксидантные, гипотензивные и иммуномодулирующие. Сочетание биологически активных пептидов из гидролизатов молочных белков и других, используемых в продукте, ингредиентов является одним из направлений для усиления полезного влияния функциональных молочных продуктов на здоровье потребителей. Свойства, определяющие целевое назначение гидролизатов, зависят в

первую очередь от степени гидролиза. Представленные результаты исследований позволят расширить область применения таких ценных компонентов молока, как белки, с последующим созданием на их основе новых видов функциональных продуктов.

Modification of whey proteins to improve or change their functional properties can significantly expand the scope of those, including for the creation of functional ingredients. This process can be implemented using enzymatic hydrolysis. Enzymatic hydrolysis ensures maximum preservation of nutritional value and obtaining a product with the desired depth of hydrolysis. This is due to the fact that enzymatic hydrolysis can be carried out with mild technological modes: neutral pH, moderate temperatures of (45-60°C), which allows to obtain food ingredients – protein hydrolysates – with high biological value, because unlike acid and alkaline hydrolysis during enzymatic conversion of food proteins completely retains thermolabile essential amino acids, such as: lysine, leucine, aspartic acid, methionine, tryptophan, cysteine and tyrosine, and the formation of labor is not observed D-digestible cyclic peptides and diketopiperazines.

Since enzymes have a high selective ability, their appropriate selection is necessary for the implementation of hydrolytic effects on certain chemical bonds in protein molecules. The article presents analytical data on the review of the properties of various enzyme preparations that can give additional functional properties to serum-accurate proteins while maintaining acceptable organoleptic characteristics and imparting certain functional properties. The use of analytical and bioinformation methods of research will minimize the cost of creating functional ingredients from milk proteins with predictable properties, such as antioxidant, antihypertensive, and immunomodulatory. The combination of biologically active peptides from milk protein hydrolysates and other ingredients used in the product is one of the directions for enhancing the beneficial effect of functional dairy products on the health of consumers. The properties that determine the intended purpose of hydrolysates depend primarily on the degree of hydrolysis. The presented research results will expand the scope of such valuable components of milk as proteins, followed by the creation of new types of functional products based on them.

Ключевые слова: молочная сыворотка, сывороточные белки, ферментные препараты.

Key words: milk whey, whey proteins.

Введение. Ферментативный гидролиз, как инструмент придания дополнительных функциональных свойств различным пищевым ингредиентам, таким как белки молочной сыворотки, используется в биотехнологии достаточно давно. Однако существует ряд проблем, в том числе гармонизации вкуса, поскольку во время ферментативного гидролиза происходит высвобождение пептидов и свободных аминокислот, которые изменяют сенсорные характеристики получаемого продукта. Основной технологической проблемой в этом случае служит наличие у белковых гидролизатов горьковатого привкуса или послевкуся [2, 6].

Поэтому при оценке и подборе ферментных препаратов одним из параметров для оптимизации процесса гидролиза является содержание свободных аминокислот, особенно лейцина, изолейцина и фенилаланина, которое необходимо минимизировать. Помимо отрицательного влияния на органолептические свойства белковых гидролизатов высокое содержание свободных аминокислот приводит к увеличению осмотичности гидролизатов и снижению их биологической ценности, поскольку скорость всасывания свободных аминокислот в тонком кишечнике человека существенно ниже по сравнению с олигопептидами. К сожалению, исследования в этом направлении не позволяют получить продукты с приемлемыми органолептическими показателями, следовательно, необходимо

анализировать свойства ферментных препаратов (ФП) по отношению к расщепляемым пептидным связям [3].

Материалы и методы. В работе задействованы аналитические методы литературного анализа, а также *in silico* анализ на портале биоинформационных ресурсов PeptideCutter (web.expasy.org).

Результаты и обсуждение. При подборе ФП для гидролиза сывороточных белков были проанализированы данные по субстратной специфичности наиболее широко используемых протеолитических ферментных препаратов (таблица 1) [1, 2, 3, 4, 9].

Таблица 1 – Специфичность протеолитических ферментов и ферментных препаратов по отношению к расщепляемой пептидной связи [1]

Table 1 – The specificity of proteolytic enzymes and enzyme preparations in relation to cleavable peptide bonds [1]

Ферментный препарат <i>Enzyme preparation</i>	Происхождение <i>The origin of the enzyme</i>	Специфичность <i>Enzyme specificity</i>
Протеиназа К <i>Proteinase K</i>	<i>Engyodontium album</i>	P1: A, E, F, I, L, T, V, W or Y
Термолизин <i>Thermolysin</i>	<i>Bacillus thermoproteolyticus</i>	P1': Ile, Phe, Leu, Val, Ala, Met
Алкалаза <i>Alcalase</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	P1: крупные незаряженные аминокислоты – Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp <i>P1: large uncharged amino acids – Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp</i>
		P1: Glu, Asp
Протамекс <i>Protamex</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	P1: незаряженные аминокислоты: Phe, Leu, Val <i>P1: uncharged amino acids: Phe, Leu, Val</i>
		P1: Phe, Leu, Val
Трипсин <i>Trypsin</i>	Поджелудочная железа свиньи или крупного рогатого скота <i>Pancreas of pigs or cattle</i>	C-терм. F, Y, W, M, L

С учетом необходимости исключения потенциально горьких пептидов (таблица 2), а также нежелательного содержания большого количества свободных аминокислотных остатков (САК) был проведен анализ *in silico* по подбору протеаз для ферментативного гидролиза белков молочной сыворотки.

Результаты проведенного *in silico* анализа приведены в таблице 2.

Таблица 2 – *In silico* анализ гидролиза молочных белков различными протеазами

Table 2 – In silico analysis of hydrolysis of milk proteins by various proteases

Ферментный препарат <i>Enzyme preparation</i>	Массовая доля САК, % <i>Mass fraction of free amino acid residues, %</i>	Средняя молекулярная масса полученных пептидов, Да <i>The average molecular weight of the obtained peptides, Da</i>
Протеиназа К <i>Proteinase K</i>	20	216,7
Термолизин <i>Thermolysin</i>	16,8	338,4
Протамекс <i>Protamex</i>	9,5	1865,6
Алкалаза <i>Alcalase</i>	9,5	1903,4
Трипсин <i>Trypsin</i>	1,1	1063,5

Термолизин является ферментом класса гидролаз, гидролизующих пептидные связи, образованные остатками гидрофобных аминокислот, такими как: лейцин, изолейцин, валин, фенилаланин, аланин. Менее интенсивно осуществляет гидролиз связей, образованных

остатками тирозина, треонина, глицина и серина. Оптимальная каталитическая активность термолизина отмечена при рН 7,0 и температуре 60°C. При значениях рН 6,5-8,5 термолизин полностью сохраняет свою активность в течение 1 ч. При 80°C через 1 ч наблюдается потеря 50% активности. Ингибирование термолизина осуществляется AgNO₃, Hg₂Cl₂, этилендиаминтетрауксусной кислотой и др. (Электронный ресурс: <http://www.xumuk.ru/encyklopedia/2/4377.html>).

Protamex (протосубтилин) – комплексный ферментный препарат бактериального происхождения, является наряду с Alcalase (протолихетерм) нейтральной протеазой, инактивируются додецил-сульфатом натрия. Протосубтилин катализирует расщепление белков, обеспечивает разрыв связи – СО – NH – с образованием пептидов низкого молекулярного веса и аминокислот. Оптимум действия данных ФП наблюдается при следующих условиях: рН – 6,8-7,0; температура – от 45 до 60°C. При температуре 85°C с выдержкой 10-15 мин происходит полная инактивация ФП.

Протеиназа К широко применяется для удаления белковой примеси в препаратах нуклеиновых кислот. Кроме этого протеиназа К быстро расщепляет и инактивирует нуклеазы в препаратах ДНК или РНК. Протеиназа К устойчива ко многим денатурирующим агентам, таким как додецил-сульфат натрия и мочевина, хелатирующим агентам (ЭДТА) и сульфгидрильным реагентам, а также к ингибиторам трипсина и химотрипсина. Протеиназа К работает в широком диапазоне рН (4-12), её оптимум действия находится в пределах от 7,5 до 12 ед. рН. Более того, денатурирующие агенты повышают доступность пептидных связей белков для протеиназы К и, таким образом, даже ускоряют их гидролиз.

Трипсин относится к группе сериновых протеаз и характеризуется узкой субстратной специфичностью, обусловленной присутствием в субстратсвязывающем участке активного центра остатка аспарагиновой кислоты. Он избирательно гидролизует связи, образованные карбоксильными группами основных аминокислот – аргинина и лизина. Трипсин сохраняет термоустойчивость и стабильность в кислой, слабощелочной среде и после кипячения в 0,01 М соляной кислоте, в сильнощелочной среде необратимо денатурируется. Оптимум каталитической активности трипсина лежит в диапазоне значений рН от 7,5 до 8,0. При значениях рН ниже или выше оптимальной зоны активности фермента постепенно снижается [5, 7].

Исследовательские работы целого ряда ученых доказывают, что гидролизаты сывороточных белков находят применение при производстве различных продуктов, в том числе детского и спортивного питания, низкоаллергенных и т.д. Наиболее перспективным является использование гидролизатов при создании функциональных продуктов массового потребления. Свойства, определяющие назначение гидролизатов, зависят в первую очередь от степени гидролиза.

Например, в спортивном питании и медицине применяются гидролизаты, содержащие от 15 до 20% свободных аминокислот, ди-, три- и олигопептиды с молекулярной массой до 3000 Да [3]. Для парентерального и внутривенного питания используются инфузионные растворы на основе индивидуальных аминокислот [4]. При проведении диетотерапии и в продуктах для детского питания важным моментом является полное устранение аллергенности. Например, для белков коровьего молока гипоаллергенность достигается при снижении молекулярного веса пептидов в гидролизате ниже 2500-3000 Да [4]. Также мало гидролизованные пептидные композиции из белков молока зачастую используются в качестве эмульгаторов и пенообразователей [3].

Для получения функциональных пептидных композиций ключевым белковым компонентом молочной сыворотки служит β -лактоглобулин, который является важным источником биологически активных (гипотензивных, антиоксидантных, иммуномодулирующих) пептидов.

В числе одних из первых гипотензивных (АПФ-ингибирующих) пептидов, являющихся компонентами кисломолочных напитков, были идентифицированы трипептиды VPP и IPP. Их гипотензивный эффект был доказан в исследованиях *in vitro*, а также *in vivo* на крысах со спонтанной гипертензией линии SHR (spontaneously hypertensive rats) и в клинических испытаниях на добровольцах с умеренной артериальной гипертензией [12]. При этом *in vivo* было показано, что данные пептиды устойчивы к перевариванию в желудочно-кишечном тракте. Данные пептиды входят в состав коммерциализованных функциональных кисломолочных продуктов Evolus (Valio Oy, Финляндия) и Calpis (Calpis CO, Япония), полученных при сквашивании молока *Lactobacillus helveticus*. В дальнейшем АПФ-ингибирующие пептиды VPP и IPP были также идентифицированы в составе функционального антигипертензивного йогурта, пробиотического йогурта и различных мягких, твердых и полутвердых сырах [3, 13, 14].

Помимо гипотензивных пептидов в белковых гидролизатах обнаружены короткие пептиды, обладающие иммуномодулирующим и цитопротекторным действием [11]. Среди пищевых источников иммуномодулирующих пептидов основной объем исследований посвящен гидролизатам белков молока, а также пептидам, выделенным из ферментированных молочных продуктов (сыры, кисломолочные продукты) и молозива [8]. Так, молоко, ферментированное различными видами лактобактерий (*Lb. helveticus*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*), обладает способностью усиливать пролиферацию (процесс деления клеток) лимфоцитов *in vitro*, стимулировать выработку IgA (поддержание барьерной резистентности), активировать противоопухолевый иммунный ответ.

Для большого числа пептидов, входящих в состав гидролизатов молочных белков и ферментированных молочных продуктов, показано наличие антиоксидантной активности по отношению к различным радикалам и в системах с окислением липидов. Длина большинства антиоксидантных пептидов, идентифицированных в молочных продуктах, варьирует в пределах 2-15 а.о., что соответствует диапазону молекулярных масс 0,24-1,80 кДа. При этом ключевыми белками, предшественниками антиоксидантных пептидов, идентифицированных в молочных продуктах, являются α - и β -казеины и β -лактоглобулин. В ряде работ показано, что пептиды молочных белков обладают более высокой антиоксидантной емкостью по сравнению с эквивалентной смесью свободных аминокислот [10]. Наличие у гидролизатов молочных белков антиоксидантных свойств позволяет использовать их не только в качестве функциональных ингредиентов, но и технологических добавок для снижения интенсивности процессов перекисного окисления липидов и увеличения сроков хранения пищевых продуктов.

Заключение. Представленные выше данные свидетельствуют о том, что, с точки зрения конверсии белков молочной сыворотки, с получением гидролизата с минимально возможным содержанием САК, а следовательно, и горького вкуса и прогнозируемыми функциональными свойствами благодаря образованию пептидов средней длины, наиболее целесообразно использовать нейтральные протеазы Alcalase и Protamex. Высокое содержание низкомолекулярных олигопептидов, получаемых из молочной сыворотки, обуславливает их гипотензивное, антиоксидантное, иммуномодулирующее и цитопротекторное действие, что дает возможность построения широкой линейки функциональных продуктов питания на их

основе, а использование заквасочных культур усилит функциональность разрабатываемых пищевых продуктов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Библиографический список

1. Агарков, А.А. Использование ферментативного гидролиза пептидного комплекса молока для получения белковых функциональных ингредиентов / А.А. Агарков, А.Г. Кручинин, Н.Г. Машенцева // День науки: сб. мат. Общеуниверситетской науч. конф. молодых ученых и специалистов. – М.: ИК МГУПП, 2015. – Ч. VI. – С. 13-15.
2. Агаркова, Е.Ю. Проектирование протеолиза молочных белков для создания продуктов со сниженной аллергенностью / Е.Ю. Агаркова, К.А. Березкина, А.Г. Кручинин, И.В. Николаев // Пищевые инновации и биотехнологии: мат. междунар. науч. конф. / Под общей ред. Просекова А.Ю.; ФГБОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности». – Кемерово, 2014. – Т. 1. – С. 21-23.
3. Агаркова, Е.Ю. Разработка технологии функциональных эмульсионных азрированных продуктов на основе трансформации полипептидных комплексов: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.18.04 / Агаркова Евгения Юрьевна. – Москва, 2014. – 26 с.
4. Агаркова, Е.Ю. Ферментативная конверсия как способ получения биологически активных пептидов / Е.Ю. Агаркова, А.Г. Кручинин // Вестник МГТУ. – 2018. – Т. 21. – № 3. – С. 412-419.
5. Збарский, Б.И. Биологическая химия / Б.И. Збарский, И.И. Иванов, С.Р. Мардашев. – Ленинград: Медицина, 1965. – 520 с.
6. Кручинин, А.Г. Различные подходы к формированию функциональных свойств молочных продуктов / А.Г. Кручинин, Е.Ю. Агаркова // Переработка молока. – 2018. – № 5. – С. 36-39.
7. Суханова, С.М. Трипсин. Свойства и применение в производстве биологических лекарственных препаратов / С.М. Суханова, Е.М. Петручук, А.А. Генералов // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2018. – Т. 18. – № 2. – С. 106-113.
8. Hayes, M. Putting microbes to work: dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part II: bioactive peptide functions / M. Hayes, C. Stanton, G.F. Fitzgerald, R.P. Ross // Biotechnol. J. – 2007. – Vol. 2. – P. 435-449.
9. Hernandez-Ledesma, B. Antihypertensive peptides: production, bioavailability and incorporation into food / B. Hernandez-Ledesma, M. del Mar Contreras, I. Recio // Adv. Colloid Interface Sci. – 2011. – Vol. 165. – P. 23-25.
10. Hernandez-Ledesma, B. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS / B. Hernandez-Ledesma, A. Davalos, B. Bartolome, L. Amigo // J. Agric. Food Chem. – 2005. – Vol. 53. – P. 588-593.

11. Huang, S.-M. Immunomodulatory properties of the milk whey products obtained by enzymatic and microbial hydrolysis / S.-M. Huang, K.-N. Chen, Y.-P. Chen, W.-S. Hong, M.-J. Chen // *Int. J. Food Sci. Technol.* – 2010. – Vol. 45. – P. 1061-1067.
12. Jakala, P. Milk protein derived bioactive tripeptides Ile-Pro-Pro and Val-Pro-Pro protect endothelial function in vitro in hypertensive rats / P. Jakala, T. Jauhiainen, R. Korpela, H. Vapaatale // *J. Functional Foods.* – 2009. – Vol. 1. – P. 266-273.
13. Kunda, P.B. Identification of bioactive peptides in a functional yoghurt by micro liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry assisted by retention time prediction / P.B. Kunda, F. Benavente, S. Catala-Clariana, E. Gimenez, J. Barbosa, V. Sanz-Nebot // *J. Chromat. A.* – 2012. – Vol. 1229. – P. 121-128.
14. Wang, Z.-L. A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from the milk casein: virtual screening and docking studies / Z.-L. Wang, S.-S. Zhang, W. Wang, F.-Q. Feng, W.-G. Shan // *Agric. Studies China.* – 2011. – Vol. 10. – P. 463-467.

Reference

1. Agarkov, A.A. Ispol'zovanie fermentativnogo gidroliza peptidnogo kompleksa moloka dlya polucheniya belkovykh funkcional'nykh ingredientov / A.A. Agarkov, A.G. Kruchinin, N.G. Mashenceva // *Den' nauki: sb. mat. Obshcheuniversitetskoy nauch. konf. molodykh uchenykh i specialistov.* – M.: IK MGUPP, 2015. – Ch. VI. – S. 13-15.2.
2. Agarkova, E.Yu. Proektirovanie proteoliza molochnykh belkov dlya sozdaniya produktov so snizhennoj allergennost'yu / E.Yu. Agarkova, K.A. Berezkina, A.G. Kruchinin, I.V. Nikolaev // *Pishchevye innovacii i biotekhnologii: mat. mezhdunar. nauch. konf. / Pod obshchej red. Prosekova A.Yu.; FGBOU VPO «Kemerovskij tekhnologicheskij institut pishchevoj promyshlennosti».* – Kemerovo, 2014. – T. 1. – S. 21-23.3.
3. Agarkova, E.Yu. Razrabotka tekhnologii funkcional'nykh emul'sionnykh aerirovannykh produktov na osnove transformacii polipeptidnykh kompleksov: avtoref. dis. ... kand. tekhn. nauk: 05.18.04 / Agarkova Evgeniya Yur'evna. – Moskva, 2014. – 26 s.
4. Agarkova, E.Yu. Fermentativnaya konversiya kak sposob polucheniya biologicheskii aktivny`x peptidov / E.Yu. Agarkova, A.G. Kruchinin // *Vestnik MGTU.* – 2018. – T. 21. – № 3. – С. 412-419.
5. Zbarskij, B.I. Biologicheskaya ximiya / B.I. Zbarskij, I.I. Ivanov, S.R. Mardashev. – Leningrad: Medicina, 1965. – 520 s.
6. Kruchinin, A.G. Razlichny`e podxody` k formirovaniyu funkcional`ny`x svojstv molochny`x produktov/ A.G. Kruchinin, E.Yu. Agarkova // *Pererabotka moloka.* – 2018. – № 5. – S. 36-39.
7. Suxanova, S.M. Tripsin. Svojstva i primenenie v proizvodstve biologicheskix lekarstvenny`x preparatov / S.M. Suxanova, E.M. Petrushuk, A.A. Generalov // *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie.* – 2018. – T. 18. – № 2. – S. 106-113.
8. Hayes, M. Putting microbes to work: dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part II: bioactive peptide functions / M. Hayes, C. Stanton, G.F. Fitzgerald, R.P. Ross // *Biotechnol. J.* – 2007. – Vol. 2. – P. 435-449.
9. Hernandez-Ledesma, B. Antihypertensive peptides: production, bioavailability and incorporation into food / B. Hernandez-Ledesma, M. del Mar Contreras, I. Recio // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2011. – Vol. 165. – P. 23-25.
10. Hernandez-Ledesma, B. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS /

- B. Hernandez-Ledesma, A. Davalos, B. Bartolome, L. Amigo // *J. Agric. Food Chem.* – 2005. – Vol. 53. – P. 588-593.
11. Huang, S.-M. Immunomodulatory properties of the milk whey products obtained by enzymatic and microbial hydrolysis / S.-M. Huang, K.-N. Chen, Y.-P. Chen, W.-S. Hong, M.-J. Chen // *Int. J. Food Sci. Technol.* – 2010. – Vol. 45. – P. 1061-1067.
 12. Jakala, P. Milk protein derived bioactive tripeptides Ile-Pro-Pro and Val-Pro-Pro protect endothelial function in vitro in hypertensive rats / P. Jakala, T. Jauhiainen, R. Korpela, H. Vapaatale // *J. Functional Foods.* – 2009. – Vol. 1. – P. 266-273.
 13. Kunda, P.B. Identification of bioactive peptides in a functional yoghurt by micro liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry assisted by retention time prediction / P.B. Kunda, F. Benavente, S. Catala-Clariana, E. Gimenez, J. Barbosa, V. Sanz-Nebot // *J. Chromat. A.* – 2012. – Vol. 1229. – P. 121-128.
 14. Wang, Z.-L. A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from the milk casein: virtual screening and docking studies / Z.-L. Wang, S.-S. Zhang, W. Wang, F.-Q. Feng, W.-G. Shan // *Agric. Studies China.* – 2011. – Vol. 10. – P. 463-467.

E-mail: euagarkova@mail.ru; kruchinin-vnimi@yandex.ru;

kberezkina@mail.ru; pryanichnikova@vnimi.org