

# КАЗЕИНОВЫЕ ФОСФОПЕПТИДЫ КАК НАНОСТРУКТУРЫ ДЛЯ СОЛЮБИЛИЗАЦИИ ЖЕЛЕЗА

И.С. Хамагаева, А.В. Кривоносова

*Восточно-Сибирский государственный технологический университет, г.  
Улан-Удэ*

*Из материалов 3-й Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с Международным участием 2010 г. (ТЕХНОЛОГИИ И ОБОРУДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ, БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ И ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ)*

Концепция оптимального питания предполагает в качестве одного из важнейших условий сохранения здоровья человека адекватную обеспеченность его организма как макро-, так и микронутриентами, в том числе и эссенциальными микроэлементами, в частности железом.

Железодефицитные состояния по-прежнему остаются актуальной и, во многих отношениях, не решенной проблемой современной медицины. Недостаток железа в организме приводит ко многим негативным последствиям. Одним из них является развитие железодефицитной анемии.

Учитывая, что в повседневной жизни человек потребляет железо в составе растительных и животных продуктов и что наличие аминокислот и пептидов, а также белков животного происхождения способствуют лучшему усвоению организмом этого микроэлемента, представляется целесообразным обогащать рационы питания именно органическими формами железа.

По нашему мнению, наиболее удобным объектом для биотехнологического получения железа в органической форме являются пропионовокислые бактерии, которые обладают способностью синтезировать значительное количество гемсодержащих ферментов и корриноидов, повышающих усвоение железа.

Известно, что железо в организме может всасываться только в виде  $Fe^{2+}$ . Однако двухвалентное железо подвергается быстрому химическому окислению, переходя в нерастворимую, неусвояемую организмом трехвалентную форму.

Для сохранения биодоступности железа привлекательной представляется роль хелатирующих «агентов», которые способствуют солюбилизации минералов, сохраняя их в растворимом состоянии. Одним из представителей такого рода хелаторов являются казеиновые фосфопептиды (CPPs).

Следует отметить, что до сих пор казеиновые фосфопептиды недостаточно изучены и как хелатирующие «агенты» для минералов, и как

потенциальные нутрицевтики в питании человека. Кроме того, в литературе отсутствуют данные о влиянии CPPs на солюбилизацию железа. Поэтому исследование железосвязывающей способности CPPs представляет большой интерес.

Целью работы является исследование влияния казеиновых фосфопептидов на солюбилизацию двухвалентного железа в питательной среде для культивирования пропионовокислых бактерий.

CPPs – это фосфорилированные пептиды, образующиеся из казеинов коровьего молока при их переваривании пищеварительными протеиназами. Известно, что металлосвязывающая способность CPPs зависит от степени фосфорилирования. С целью получения гидролизата с максимальным содержанием низкомолекулярных фосфорилированных пептидов и свободных аминокислот, способных в дальнейшем образовывать растворимые комплексы с железом, нами были уточнены технологические параметры выделения CPPs.

При получении CPPs применяли схему одностадийного гидролиза казеината Na с использованием пепсина и трипсина при разной продолжительности гидролиза. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1

Молекулярно-массовое распределение пептидных фракций

Время гидролиза, мин	Диапазон молекулярных масс, кД	Содержание фракций (%) в диапазоне молекулярных масс, в зависимости от используемого фермента			
		пепсин 1 %	пепсин 3 %	трипсин 1 %	трипсин 3 %
1	2	3	4	5	6
40	более 138	1,8	1,6	1,7	2,0
	138-10,5	5,4	5,6	3,2	4,0
	10,5-5,1	9,5	10,3	7,8	6,2
60	более 138	2,1	1,8	1,7	2,1
	138-10,5	6,3	5,6	4,2	4,3
	10,5-5,1	9,8	11,0	7,8	6,4
120	более 138	2,2	2,3	2,2	2,1
	138-10,5	7,1	11,2	6,2	6,4
	10,5-5,1	11,9	18,7	10,3	10,8
240	более 138	1,8	1,9	1,7	1,7
	138-10,5	9,5	16,5	10,4	4,5
	10,5-5,1	12,9	18,1	10,9	10,4

Из результатов, приведенных в таблице 1, видно, что при гидролизе натриевого казеината 3%-м пепсином уже через 120 мин достигается максимальное содержание низкомолекулярных (10,5-5,1 кД или 1-5 нм) структур: 18,7%. Дальнейшее увеличение продолжительности гидролиза не приводит к заметному изменению в содержании низкомолекулярных фракций. Кроме того, полученные данные позволяют утверждать, что проведение гидролиза пепсином существенно эффективнее по сравнению с трипсином. Так, при одной и той же концентрации фермента (3%) низкомолекулярных пептидных фракций при гидролизе пепсином образуется в 1,7 раза больше, чем при гидролизе трипсином.

Таким образом, с учетом определения молекулярно-массового распределения пептидных фракций были выбраны оптимальные технологические параметры выделения казеиновых фосфопептидов в наноформе.

На следующем этапе исследований в питательную среду вносили различные дозы водного раствора СРР<sub>s</sub> и сульфата железа. За процессом связывания железа следили по количеству образованного хелатированного Fe<sup>2+</sup> (% железа, оставшегося в двухвалентной форме от первоначальной дозы). Результаты исследований (средние показатели по всем изученным штаммам) представлены на рисунке 1.

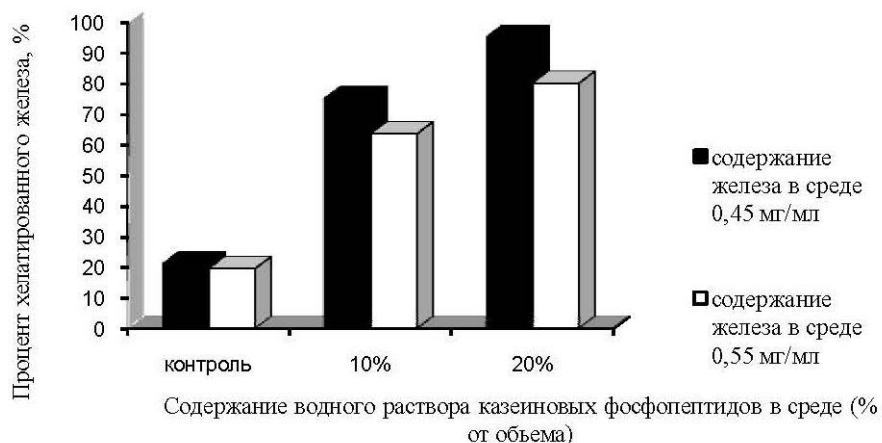


Рисунок 1 – Зависимость содержания в средах усвояемого (хелатированного) Fe<sup>2+</sup> от количества водного раствора казеиновых фосфопептидов

Как показывают данные, представленные на рисунке 4, наличие в среде казеиновых фосфопептидов способствует солюбилизации железа и сохранению его в виде Fe<sup>2+</sup> ионов. Максимальное количество растворимых комплексов железа (90-95%) образуется при внесении 20% водного раствора казеиновых фосфопептидов и 0,45 мг/мл сульфата железа.

Интересным является тот факт, что с увеличением дозы FeSO<sub>4</sub> степень солюбилизации железа снижается. Это, вероятно, объясняется тем, что СРР<sub>s</sub>

могут связывать только ограниченное число молекул железа, то есть количество ионизированного минерала не должно превышать количество имеющихся анионных гидрофильных участков аминокислот казеиновых фосфопептидов.

Существует мнение, что искусственные хелатные формы минералов при хранении разрушаются и теряют свою эффективность, поэтому они уступают природным органическим солям этих элементов.

В связи с этим исследовали сохранность железа, хелатированного казеиновыми фосфопептидами, в двухвалентной форме в процессе длительного хранения.

Таблица 2

Влияние  $СРР_s$  на процесс солюбилизации железа при хранении

Штамм	Содержание $СРР_s$ , %	Содержание $Fe^{2+}$ в среде при хранении (% от первоначальной дозы внесения), сут.			
		30	60	90	120
P. freudenreichii subsp. fredenreichii AC-2500	контроль	19,0	19,0	19,5	18,5
	10	58,0	62,0	62,5	60,0
	20	88,0	88,0	88,5	88,0
P. cyclohexanicum Kusano AC-2260	контроль	30,0	29,5	30,0	28,5
	10	69,0	70,5	70,0	69,0
	20	94,5	95,0	95,0	94,5
P. cyclohexanicum Kusano AC-2259	контроль	32,0	32,0	30,5	29,0
	10	60,0	60,5	60,0	59,5
	20	75,0	75,0	75,5	75,0
P. fredenreichii subsp. shermanii AC-2503	контроль	22,0	25,0	25,5	19,0
	10	66,0	67,0	66,0	63,5
	20	95,0	96,0	96,0	95,0

Данные, приведенные в таблице 2, указывают на то, что в процессе хранения количество хелатированного железа в концентратах, содержащих раствор  $СРР_s$ , практически не изменилось. Тогда как в контроле наблюдалось значительное снижение содержания растворимых ионов  $Fe^{2+}$ .

Совокупность полученных данных указывает на то, что казеиновые фосфопептиды в виде наноструктур являются перспективными хелатирующими агентами для получения новых, биодоступных форм железа.

В результате исследований подобраны оптимальные дозы  $FeSO_4$  и водного раствора  $СРР_s$ , обеспечивающие максимальное количество солюбилизированного железа.