

На правах рукописи



Барковская Ирина Александровна

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ ДЛЯ
ИММОБИЛИЗАЦИИ ЙОДА И ЦИНКА БЕЛКОВЫМИ МАТРИЦАМИ
МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ**

4.3.3 – Пищевые системы

4.3.5 – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

МОСКВА – 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ФГАНУ «ВНИМИ»)

Научный руководитель: **Кручинин Александр Геннадьевич**
доктор технических наук

Официальные оппоненты: **Евдокимов Иван Алексеевич**
доктор технических наук, член-корреспондент РАН, профессор, заведующий базовой кафедрой технологии молока и молочных продуктов, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории пищевой и промышленной биотехнологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

Симоненко Сергей Владимирович
доктор технических наук, директор Научно-исследовательского института детского питания – филиала ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Защита состоится «23» сентября 2025 г. в 12 часов 30 минут на заседании объединенного совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 99.0.092.02 при ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» по адресу 125080, г. Москва, Волоколамское шоссе, д. 11, корп. А, Зал А-1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеках ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)». Полный текст диссертации размещен в сети Интернет на официальном сайте ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ» <http://www.mgupp.ru>.

С авторефератом можно ознакомиться на официальных сайтах ВАК Минобрнауки РФ (<http://vak.ed.gov.ru>) и ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ» (<http://www.mgupp.ru>).

Автореферат разослан «___» _____ 2025 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета 99.0.092.02,
кандидат технических наук, доцент



Ю.В. Николаева

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Дефицит йода является распространенной проблемой среди всех слоев населения России и одной из главных причин возникновения алиментарно-зависимых неинфекционных заболеваний эндокринной системы организма, а также связанных с ними патологий. Статистические данные Росстата и Национального медицинского исследовательского центра эндокринологии за последние 15 лет подчеркивают важность вопроса, указывая на динамичный рост количества пациентов, страдающих йододефицитными состояниями, и низкое среднесуточное потребление микроэлемента, составляющее 40–80 мкг в сутки, что в 2-3 раза меньше рекомендаций Всемирной организации здравоохранения.

В настоящее время на государственном уровне активно поднимается вопрос решения проблемы дефицита йода. Так, на территории Российской Федерации (РФ) действуют СанПиН 2.3/2.4.3590-20, согласно которым для приготовления пищи в школьных столовых по всей стране в обязательном порядке предусмотрено использование йодированной соли. Кроме того, разработан проект Федерального Закона «О профилактике заболеваний, вызванных дефицитом йода», находящийся на стадии рассмотрения Правительством РФ. Однако применяемый подход к обогащению пищи неорганической формой йода не является оптимальным в силу ее пониженной стабильности при длительном хранении и термообработке, длительности метаболизма в организме, а также ограниченного потребления соли для некоторых групп населения. В связи с этим, одной из современных стратегий доставки йода в организм является его иммобилизация белковыми матрицами. При этом, ряд исследователей доказали большую эффективность действия органических форм йода при одновременном использовании элементов, сопутствующих его метаболизму (например, цинка). С данной точки зрения использование белков молочной сыворотки (БМС) в качестве субстрата для обогащения эссенциальными микроэлементами считается перспективным, поскольку строение белковых молекул и их аминокислотная последовательность содержат функциональные участки связывания цинка и йода.

Таким образом, разработка технологических решений к иммобилизации йода и цинка белковой матрицей молочной сыворотки с применением «омиксных» технологий является актуальной областью научных исследований, направленной на профилактику йододефицитных состояний у населения, что в полной мере согласуется с приоритетами Стратегии научно-технологического развития РФ; целями Стратегии экологической безопасности РФ на период до 2025 года; Программой фундаментальных научных исследований в РФ на долгосрочный период (2021–2030 годы); положениями Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации.

Степень разработанности темы. Значимый вклад в исследования свойств вторичного молочного сырья и подходов к обогащению пищевых продуктов эссенциальными микроэлементами внесли Агаркова Е. Ю., Горлов И. Ф., Евдокимов И. А., Жамсаранова С. Д., Зобкова З. С., Кручинин А. Г., Симоненко С. В., Томчани О. В., Тутельян В. А., Чернуха И. М., Chunlei Xiao, Fangjun Wang, Szymandera-Buska Krystyna, Yan Jin, Zheyi Liu и др.

Целью работы является разработка технологии направленной модификации белков молочной сыворотки, обеспечивающей повышение реакционной способности к специфическому связыванию ионов йода и цинка.

Для достижения поставленной цели сформулированы и реализованы следующие **задачи**:

- исследовать принципы термоселективного фракционирования БМС и изучить роль хелаторов в повышении эффективности данного процесса;
- исследовать закономерности связывания цинка с декальцинированными БМС в зависимости от технологических параметров процесса;
- осуществить биоинформатическое моделирование ферментативного гидролиза БМС, направленного на сохранение специфичных цинксвязывающих сайтов и повышение доступности функциональных аминокислотных групп, потенциально связывающих йод;
- провести оптимизацию процесса ферментативного гидролиза БМС и изучить зависимости связывания йода с белково-пептидным субстратом;
- исследовать принципы баромембранной очистки белковых систем от неорганических примесей и провести скрининг пептидного профиля гидролизата сывороточных белков (ГСБ) для установления механизма ковалентного связывания ионов йода;
- исследовать влияние процесса распылительной сушки на сохранность концентраций йода и цинка в дегидратированной форме ГСБ, а также оценить технологические свойства в процессе его дальнейшей промышленной переработки;
- разработать технологию и комплект технической документации на производство ГСБ, обогащенного йодом и цинком, и обогащенного питьевого пастеризованного молока.

Научная новизна работы:

- предложена новая концепция обогащения сывороточных белков эссенциальными микроэлементами (йодом и цинком), основанная на их синергетическом взаимодействии и повышении биодоступности;
- установлены зависимости связывания йода и цинка с модифицированными БМС от температуры и кислотности среды, продолжительности иммобилизации, концентрации неорганического источника микроэлемента;
- сформулирован биоинформатический подход к избирательному протеазному скринингу, направленному на сохранение аминокислотного участка связывания ионов двухвалентных металлов и повышение доступности биолигандов, потенциально связывающих йод;
- получены зависимости сохранения концентрации хелатной формы цинка и степени ковалентно связанного йода от технологических параметров процесса биоконверсии БМС;
- получены экспериментальные данные об устойчивости белкового комплекса, обогащенного эссенциальными микроэлементами, в условиях воздействия основных технологических процессов производства молочной продукции.

Практическая значимость работы.

- Проведена оптимизация процесса ферментативного гидролиза белков молочной сыворотки;
- Разработаны технологии производства гидролизата сывороточных белков, обогащенных йодом и цинком, и обогащенного питьевого пастеризованного молока;
- Результаты проведенных исследований позволили разработать комплект документов в области стандартизации (СТО «Гидролизат сывороточного белка сухой, обогащенный йодом и цинком», СТО «Молоко питьевое пастеризованное, обогащенное йодом и цинком»). Разработанные технологии прошли апробацию и внедрены в производство на российских предприятиях молочной отрасли;
- Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2025661267 «Программа для моделирования процесса йодирования белков молочной сыворотки».

Методология и методы исследования. Исследования проведены на базе ФГАНУ «ВНИМИ» и ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» в рамках выполнения работ по гранту РНФ № 24-26-00220 от 29.12.2023 г. по теме «Разработка технологии направленной биокаталитической модификации α -лактальбумина с целью повышения реакционной способности к специфическому связыванию ионов йода и цинка для коррекции патологических процессов при йододефицитных состояниях». В процессе выполнения экспериментов использованы стандартизованные методы исследований пищевой продукции и широко применяемые в научных исследованиях.

Основные положения, выносимые на защиту:

- концепция модификации и обогащения БМС йодом и цинком в соотношениях, оптимальных с точки зрения физиологических потребностей человека;
- зависимости изменения концентраций хелатированного цинка и ковалентно связанного йода в белковом матриксе от вариативных факторов процессов иммобилизации и направленного гидролиза субстрата;
- эмпирические данные об устойчивости ГСБ, обогащенных эссенциальными микроэлементами (йодом и цинком), в условиях воздействия физических и биотехнологических факторов, коррелирующих с основными технологическими процессами производства молочной продукции.

Степень достоверности и апробация результатов.

Основные результаты работы доложены и обсуждены на V Международной научно-практической молодежной конференции, посвященной памяти Р.Д. Поландовой (Москва, 2023), XVIII Всероссийском конгрессе с международным участием «Нутрициология и диетология для здоровьесбережения населения России», посвященном 300-летию Российской академии наук (Москва, 2023), IX Международной научно-технической конференции «Инновационные технологии в пищевой промышленности: наука, образование и производство» (Воронеж, 2023), Международной научно-практической конференции «Стратегии развития АПК России на основе рационального использования региональных генетических и сырьевых ресурсов» (Волгоград, 2024), II Всероссийском научно-практическом

Конгрессе «Биотехнология и устойчивое развитие» (Москва, 2024). Работа отмечена Золотой медалью в Международном смотре-конкурсе лучших пищевых продуктов, продовольственного сырья и инновационных разработок на Международной научно-практической конференции «Стратегии развития АПК России на основе рационального использования региональных генетических и сырьевых ресурсов» (Волгоград, 2024). Работа включена в состав победителей конкурного отбора 2025 года на назначение стипендии Президента Российской Федерации для аспирантов и адъюнктов.

Личный вклад автора. Диссертационная работа выполнена автором самостоятельно. Вклад автора заключается в анализе научной литературы по теме исследования, постановке цели и задач, планировании экспериментов, анализе результатов исследований, обсуждении полученных результатов и формулировании выводов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует пунктам 5, 35 и 36 паспорта научной специальности 4.3.3 «Пищевые системы» (технические науки) и пунктам 7, 15 и 29 паспорта научной специальности 4.3.5 «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ» (технические науки).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 3 статьи в международных рецензируемых журналах, входящих в базу данных Scopus и Web of Science; 4 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК (K1-K2); 3 статьи в материалах конференций и журналах РИНЦ.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 138 страницах и включает введение, 5 глав, заключение, список сокращений и условных обозначений, список терминов, список литературы и приложения. Диссертация содержит 28 таблиц, 17 рисунков и 3 приложения. Список литературы включает 155 источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы, поставлены цель и задачи, изложены научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту. Приведены результаты апробации, публикационная активность автора по теме исследования, структура и объем диссертации.

В главе 1 осуществлен анализ современного состояния проблемы дефицита йода и мировых практик в борьбе с дефицитом йода; обзор существующих пищевых добавок и продуктов, обогащенных йодом; приведен перечень факторов, играющих ключевую роль в эффективности пищевых добавок для коррекции йододефицитных состояний.

В главе 2 описаны объекты и методы исследований, изложена структура, организация и схема проведения экспериментов (рисунок 1).

На разных стадиях исследований объектами являлись нативные и термоденатурированные БМС, а также их гидролизаты, обогащенные цинком и йодом; сухие обогащенные ГСБ.

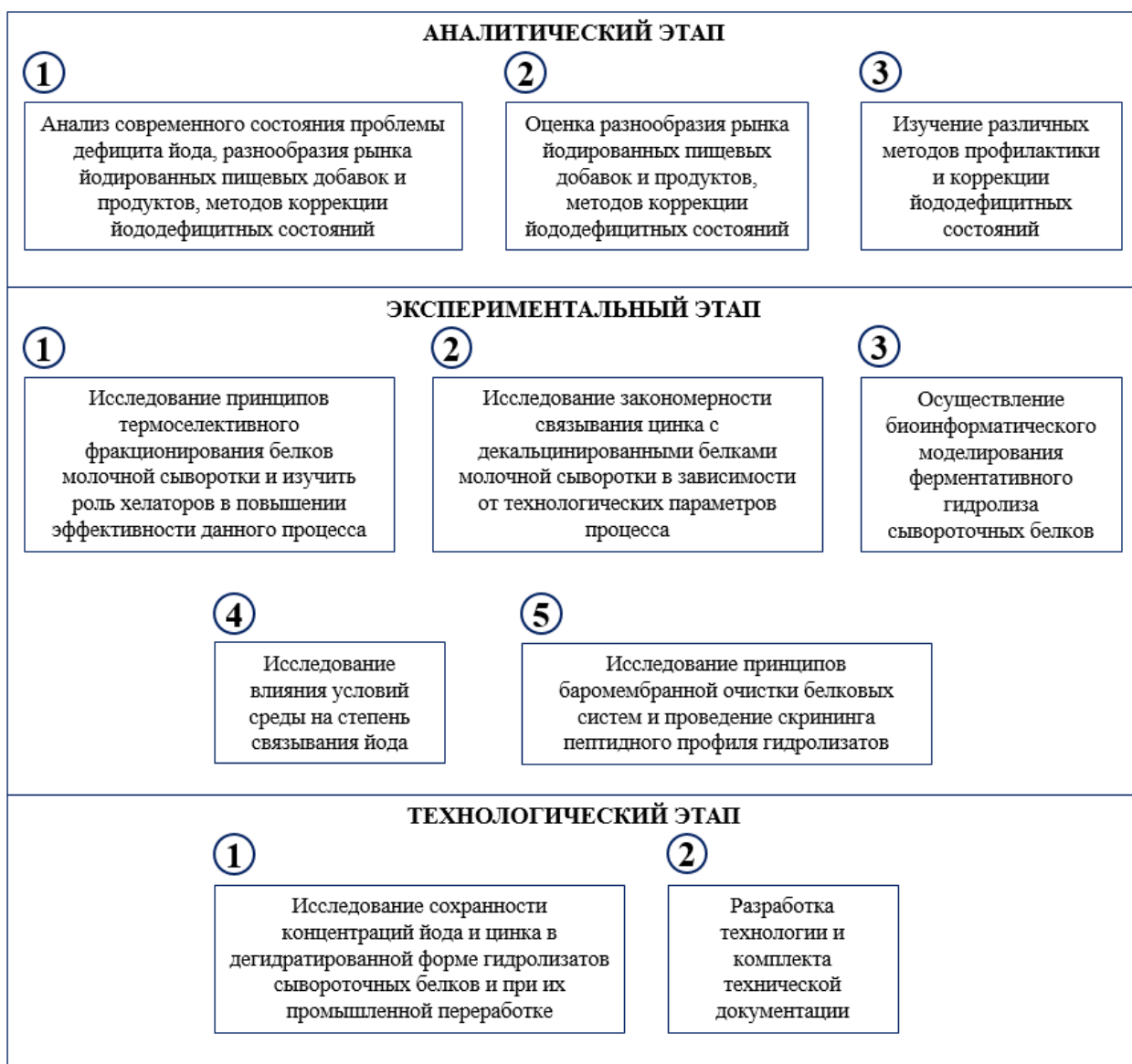


Рисунок 1 – Общая схема исследований

При выполнении работы использовали стандартизованные и общепринятые в контроле пищевых продуктов методы исследований, описанные в специализированной литературе, а также оригинальные методы, в комплексе обеспечивающие получение достоверных и воспроизводимых результатов исследований. Активную кислотность (рН) определяли по ГОСТ 32892-2014; массовую долю (м.д.) общего азота методом Кьельдаля по ГОСТ 34454-2018; качественный состав белков сыворотки электрофоретическим разделением в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия по методике Лэммли с последующим количественным определением при помощи программного обеспечения ImageJ в соответствии с Методическими рекомендациями по анализу результатов одно- и двумерных электрофореграмм «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН; массовую долю цинка по ГОСТ 18293-72 с модификацией в части пробоподготовки (озоление проб при 550°C в течение 4 часов) и методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой по ГОСТ 34633-2020; массовую долю органического йода по ГОСТ 26185-84 с модификацией ФГАНУ «ВНИМИ»; биоинформатическое моделирование с использованием баз данных NCBI, BIOPEP-UWM, Uniprot; степень гидролиза (DH) по методике с 2,4,6-тринитробензосульфоновой кислотой; общее содержание свободных аминокислот

(САК) по реакции с 2,4-динитрофторбензолом; горечь белковых фрагментов органолептически в эквиваленте шкалы разведения стандарта кофеина; пептидный профиль ГСБ и установление механизма ковалентного связывания йода с пептидами с использованием ВЭЖХ, соединенной с масс-спектрометром; идентификацию пептидов при помощи программного обеспечения MaxQuant v. 2.0.3.0 с поисковым алгоритмом Andromeda (сравнение йодированных аминокислот и аминокислот без йода по молекулярной массе); термоустойчивость с использованием тепловой пробы при температуре $95\pm 2^\circ\text{C}$ и $137\pm 2^\circ\text{C}$ в кислой (pH 4,5) и нейтральной (pH 6,8) среде с микроскопической детекцией; растворимость в диапазоне pH 4,0-7,0 с интервалом в 1,0 ед. pH по отношению массовой доли общего азота в надосадочной жидкости после гомогенизации и центрифугирования к массовой доле общего азота в смеси; смачиваемость по методу «лежащей капли» и изменения краевого угла смачивания во времени.

Планирование экспериментов, оптимизацию и 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). Измерения и исследования проводили в 3-5 повторностях с последующим определением стандартного отклонения ($\pm$) и статистическим анализом для подтверждения воспроизводимости результатов и их достоверности.

В главе 3 представлены результаты исследования принципов термоселективного фракционирования сывороточных белков. На первом этапе с применением подходов системного планирования и использованием полного факторного плана эксперимента получены оптимальные параметры, обеспечивающие наибольшую эффективность осаждения α -ЛА: м.д. белка в системе 3,56%, температура тепловой обработки 85°C с продолжительностью 30 минут, pH среды 3,0. Подобные условия снижают содержание общего азота в супернатанте относительно начальной концентрации на 51%, начальное содержание α -ЛА примерно на 79% и уровень желательности 59,8%.

На следующем этапе оптимизированы условия процесса в присутствии хелатора кальция (гексаметафосфата натрия – ГМФ) для снижения температуры денатурации путём декальценирования α -ЛА и снижения эффекта соосаждения β -ЛГ. Для оптимизации процесса смоделирован и проведен полнофакторный эксперимент с четырьмя переменными 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

Параметр	Переменная	Уровень варьирования		
		-1	0	1
Массовая доля ГМФ, %	X_1	0,050	0,175	0,300
Температура, $^\circ\text{C}$	X_2	45	65	85
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 значения содержания β -ЛГ. Результаты статистической оценки влияния варьируемых факторов на массовую долю сывороточных белков в супернатанте представлены в таблицах 2-3.

Таблица 2 – Влияние варьируемых факторов на процесс термоденатурации α -ЛА в присутствии ГМФ

Фактор	Эффект	Ст. откл.	t(66)	p	-95,%	+95,%
Сред/Св.член	0,482	0,013	36,516	0,000	0,456	0,508
X ₁ (L)	-0,075	0,032	-2,325	0,023	-0,140	-0,011
X ₁ (Q)	0,023	0,028	0,827	0,411	-0,033	0,079
X ₂ (L)	-0,235	0,032	-7,274	0,000	-0,300	-0,171
X ₂ (Q)	0,014	0,028	0,509	0,612	-0,042	0,070
X ₃ (L)	0,410	0,032	12,670	0,000	0,345	0,474
X ₃ (Q)	0,290	0,028	10,371	0,000	0,234	0,346
X ₄ (L)	-0,092	0,032	-2,841	0,006	-0,156	-0,027
X ₄ (Q)	-0,047	0,028	-1,693	0,095	-0,103	0,008
X ₁ (L) на X ₂ (L)	0,112	0,040	2,834	0,006	0,033	0,191
X ₁ (L) на X ₃ (L)	0,192	0,040	4,854	0,000	0,113	0,271
X ₁ (L) на X ₄ (L)	0,062	0,040	1,571	0,121	-0,017	0,141
X ₂ (L) на X ₃ (L)	-0,119	0,040	-3,002	0,004	-0,198	-0,040
X ₂ (L) на X ₄ (L)	-0,036	0,040	-0,912	0,365	-0,115	0,043
X ₃ (L) на X ₄ (L)	0,033	0,040	0,828	0,411	-0,046	0,112

Сред/Св.член – среднее значение отклика (целевой переменной) при нулевых значениях всех факторов; **эффект** – вклад каждого фактора (или их взаимодействий) в изменение целевой переменной; **t(66)** – t-критерий Стьюдента; **p** – значение уровня значимости фактора; **-95,%** и **+95,%** – доверительный интервал 95%; **(L)** и **(Q)** – линейное и квадратичное влияние фактора на целевую переменную.

Таблица 3 – Влияние варьируемых факторов на процесс термоденатурации β -ЛГ в присутствии ГМФ

Фактор	Эффект	Ст. откл.	t(66)	p	-95,%	+95,%
Сред/Св.член	1,669	0,037	45,229	0,000	1,595	1,742
X ₁ (L)	0,049	0,090	0,545	0,587	-0,131	0,230
X ₁ (Q)	0,074	0,078	0,949	0,346	-0,082	0,230
X ₂ (L)	-0,458	0,090	-5,074	0,000	-0,639	-0,278
X ₂ (Q)	0,360	0,078	4,605	0,000	0,204	0,517
X ₃ (L)	0,001	0,090	0,008	0,993	-0,180	0,181
X ₃ (Q)	0,131	0,078	1,680	0,098	-0,025	0,288
X ₄ (L)	0,002	0,090	0,020	0,984	-0,179	0,182
X ₄ (Q)	-0,055	0,078	-0,698	0,488	-0,211	0,102
X ₁ (L) на X ₂ (L)	0,034	0,111	0,306	0,760	-0,187	0,255
X ₁ (L) на X ₃ (L)	0,269	0,111	2,434	0,018	0,048	0,490
X ₁ (L) на X ₄ (L)	0,026	0,111	0,236	0,814	-0,195	0,247
X ₂ (L) на X ₃ (L)	0,185	0,111	1,676	0,098	-0,035	0,406
X ₂ (L) на X ₄ (L)	-0,129	0,111	-1,169	0,246	-0,350	0,091
X ₃ (L) на X ₄ (L)	-0,078	0,111	-0,708	0,482	-0,299	0,143

Анализ данных показал 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°C, 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).

По результатам проведенных исследований подтверждена гипотеза об увеличении выхода α -ЛА при использовании солей-хелаторов и установлены оптимальные параметры выделения α -ЛА из молочной сыворотки с использованием ГМФ, декальцинирующего белок 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, перспективно использовать 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.

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

По результатам исследования определен наиболее эффективный режим обогащения, соответствующий температуре 40°C, pH 8 и продолжительности хелатирования 60 минут, что соответствует наибольшей концентрации органически связанного цинка – $169,8 \pm 27,3$ мг на 100 г белка.

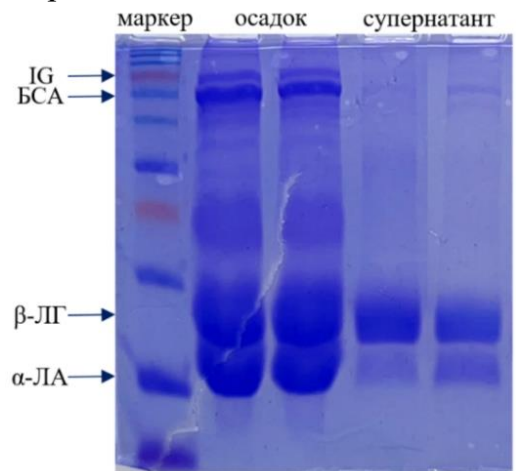


Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов термоденатурации

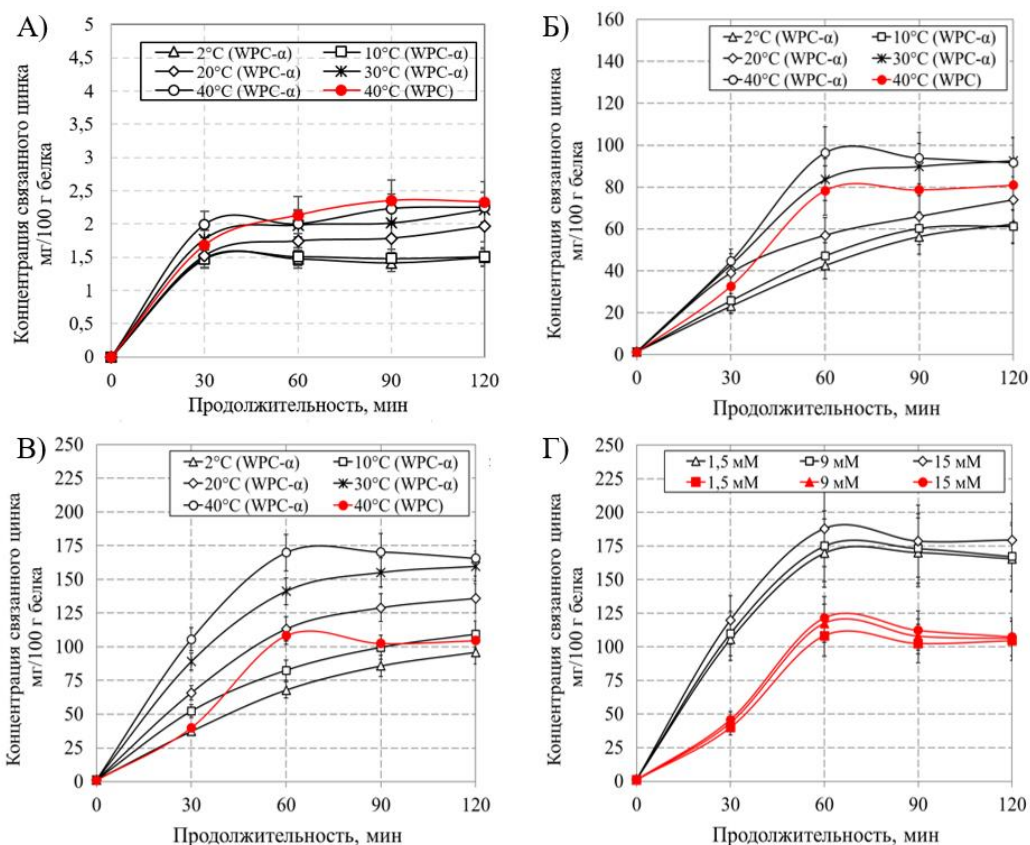


Рисунок 3 – Кинетика хелатирования цинка БМС (WPC-α – черные линии; WPC – красные линии; А – pH 4,0; Б – pH 6,0; В – pH 8,0; Г – зависимость от концентрации ионов цинка)

Выявлено, что система 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., так и наличием специфических сайтов связывания двухвалентных металлов α -ЛА и БСА, декальцинированных в процессе термоденатурации белков. Установлено отсутствие влияния концентрации вносимых в систему ионов цинка (в исследуемых пределах) на концентрацию хелатированного белками цинка.

В главе 4 представлены результаты протеазного скрининга и биоинформатического моделирования гидролиза БМС с учетом потенциальных аминокислотных сайтов связывания йода и хелатирования цинка, интегрированных в дескрипторную модель. Ключевым критерием протеазного скрининга являлся выбор ферментного препарата (или комплекса ферментных препаратов), обеспечивающего высвобождение максимального количества пептидов, способных связывать йод, при условии сохранения максимальной концентрации цинка, хелатированного белками до процесса гидролиза (сохранение сайтов связывания двухвалентных металлов в α -ЛА (KFLDDDLTDD) и БСА (ECCHGDLLECADDRA)), а также минимальное 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 4).

Таблица 4 – Моделирование гидролиза БМС трипсином

Наименование фермента	Теоретическая степень гидролиза, %	Количество пептидов, потенциально хелатирующих ионы металлов	Количество пептидов, потенциально связывающих ионы металлов	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 - GYGGVSLPEWVCTTFTHTSGYDTQAIVQNNDSTEYGLFQINN - IWCK - DDQNPHTSSNICNISCDK - FLDDDLTDDIMCVK - K - ILDK - VGINYWLAHK - ALCSEK - LDQWLCEK - L					
β-лактоглобулин					
Трипсин (КФ 3.4.21.4)	10,9	11	15	2	2
LIVTQTMK - GLDIQK - VAGTWYSLAMAASDISLLDAQSAPLR - VYVEELK - PTPEGDLEILLQK - WENGECQK - K - IIAEK - TK - IPAVK - IDALNENK - VLVLDTDYK - K - YLLFCMENSAPESQSLACQCLVR - 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 - GLVLIAFSQYLQQCPFDEHVK - LVNELTEFAK - TCVADESHAGCEK - SLHTLFGDELCK - VASLR - ETYGDMAADCCEK - QEPER - NECFLSHK - DDSPDLPK - LK - PDPNTLCDEFK - ADEK - K - FWGK - YLYEIR - R - HPYFYAPELLYYANK - YNGVFQECCQAEDK - GACLLPK - IETMR - EK - VLASSAR - QR - LR - CASIQK - FGER - ALK - AWSVAR - LSQK - FPK - AEFVEVTK - LVTDLTK - VHK - ECCHGDLLECADDR - ADLAK - YICDNQDTISSK - LK - ECCDK - PLLEK - SHCIAVEK - DAIPENLPPLTADFAEDK - DVCK - NYQEAQ - DAFLGSFLYEYSR - R - HPEYAVSVLLR - LAK - EYEATLEECCAQK - DDPHACYSTVFDK - LK - HLVDEPQNLK - QNCDQFEK - LGEYGFQNALIVR - YTR - K - VPQVSTPTLVEVSR - SLGK - VGTR - CCTK - PESER - MPCTEDYLSLILNR - LCVLHEK - TPVSEK - VTK - CTESLVNR - R - PCFSALTPDETYVPK - AFDEK - LFTFHADICTLPDTEK - QIK - K - QTALVELLK - HK - PK - ATEEQLK - TVMENFVAFVDK - CCAADDK - EACFAVEGPK - LVVSTQTALA					
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; ECCHGDLLECADDR – сайт связывания двухвалентных металлов BCA					

Для оптимизации параметров гидролиза трипсином (*in vitro*) проводили полнофакторный эксперимент с тремя переменными параметрами, варьируемыми на трех уровнях: температура (X_1), активная кислотность, pH (X_2), продолжительность гидролиза (X_3) (таблица 5). Эксперимент проводили при фермент-субстратном соотношении (E/S) 1/100 CPROT г/г.

Таблица 5 – Уровни вариации независимых параметров при многофакторных экспериментах по оптимизации условий гидролиза WPC- α трипсином

Параметр	Переменная	Уровень варьирования		
		-1	0	1
Кислотность, pH	X_1	7	8	9
Температура, °C	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. Результаты статистической оценки влияния варьируемых параметров на степень гидролиза WPC- α трипсином представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Влияние варьируемых факторов на степень гидролиза WPC- α трипсином

Фактор	Эффект	Ст. откл.	t(66)	p	-95, %	+95, %
Сред/Св.член	2,637	0,028	93,599	0,000	2,577	2,696
X_1 (L)	0,0913	0,069	1,323	0,203	-0,054	0,237
X_1 (Q)	0,428	0,060	7,165	0,000	0,302	0,554
X_2 (L)	1,210	0,069	17,534	0,000	1,064	1,355
X_2 (Q)	0,897	0,060	15,013	0,000	0,771	1,023
X_3 (L)	1,387	0,069	20,094	0,000	1,241	1,532
X_3 (Q)	0,086	0,060	1,443	0,167	-0,040	0,212
X_1 (L) на X_2 (L)	0,017	0,084	0,199	0,844	-0,161	0,195
X_1 (L) на X_3 (L)	0,023	0,084	0,279	0,784	-0,155	0,202
X_2 (L) на X_3 (L)	0,318	0,084	3,758	0,002	0,139	0,496

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.

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 4,35% и уровень желательности 95,4%.

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). Эффекты йодирования ГСБ, полученные при pH 8,0, различных температурах и продолжительности, а также зависимость степени связывания галогена с белковыми фрагментами от его концентрации, представлены на рисунке 5.

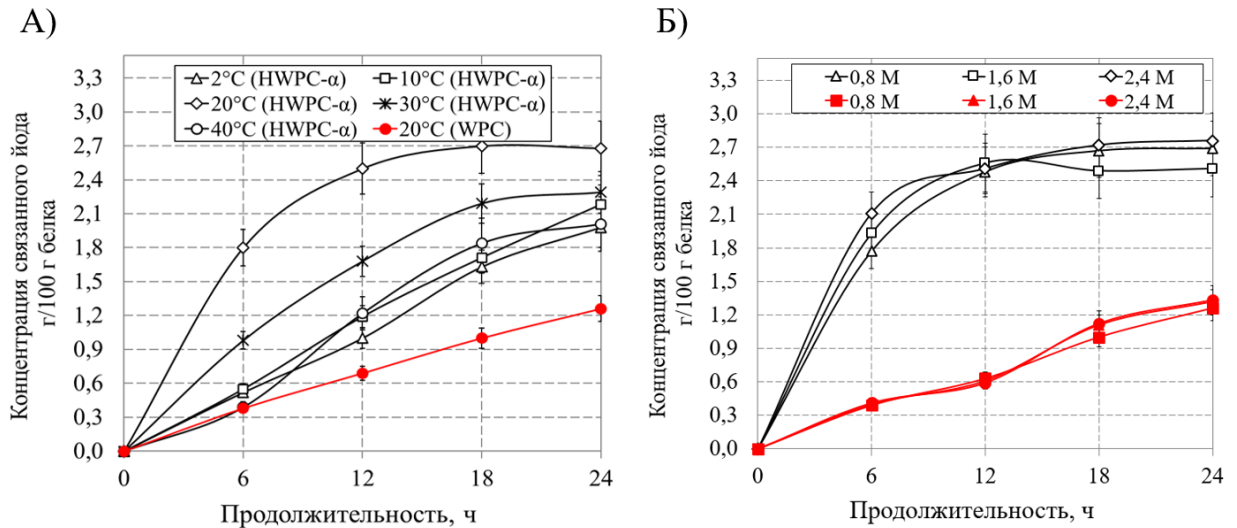


Рисунок 5 – Кинетика связывания йода с HWPC-α и WPC; А – зависимость от температуры и продолжительности процесса, Б – зависимость от концентрации йода и продолжительности процесса

По результатам исследований, проведенных с нативными белками, установлено, 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. 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 полученных данных позволяет выделить параметры среды, соответствующие 20°C, pH 8,0 и продолжительности йодирования 12 часов как наиболее оптимальные, при которых концентрация органического йода, связанного с гидролизатом, составила $2,5 \pm 0,5$ г йода на 100 г белка, в то время как концентрация органически связанного с нативными белками йода за 12 часа составила $0,7 \pm 0,1$ г йода на 100 г белка. Таким образом, подтверждено, что ферментативный гидролиз повышает степень связывания белка с йодом.

На второй стадии данного этапа были 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 E/S (1/75; 1/100; 1/500 CPROT г/г). В качестве контролируемых параметров также исследовали: DH, САК и интенсивность горечи. Результаты представлены на рисунках 6-7.

Установлено, что рациональным следует считать E/S 1/100 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). ГСБ характеризовались отсутствием горечи и концентрацией САК $1,8 \pm 0,2$ мг экв. глутаминовой кислоты/мл.

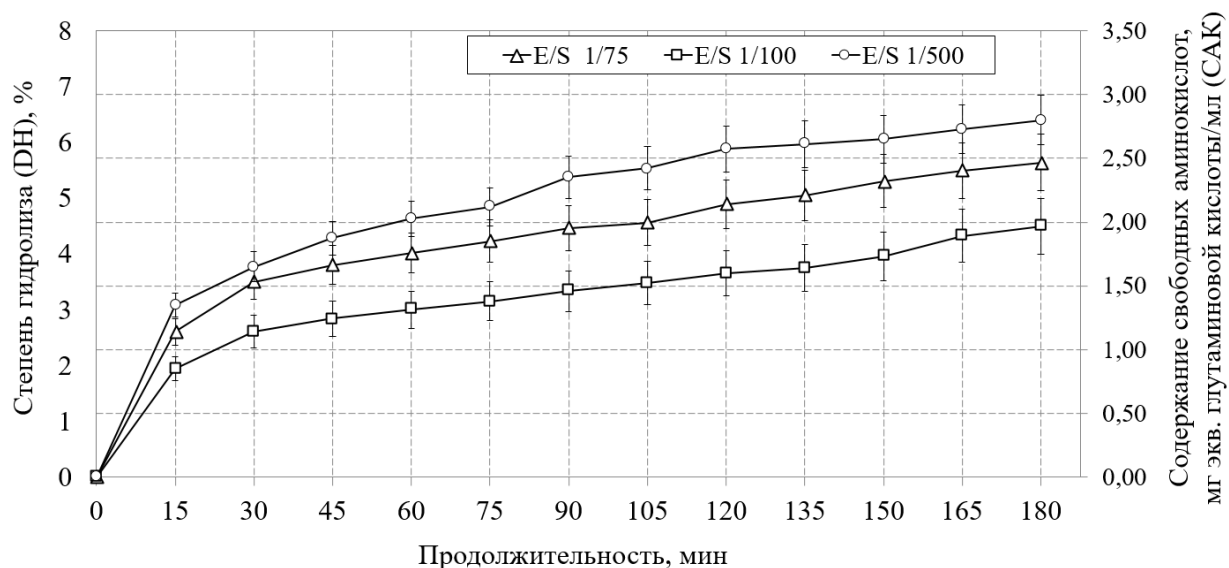


Рисунок 6 – Динамика изменения DH и накопления САК в зависимости от E/S в процессе гидролиза WPC-α трипсином

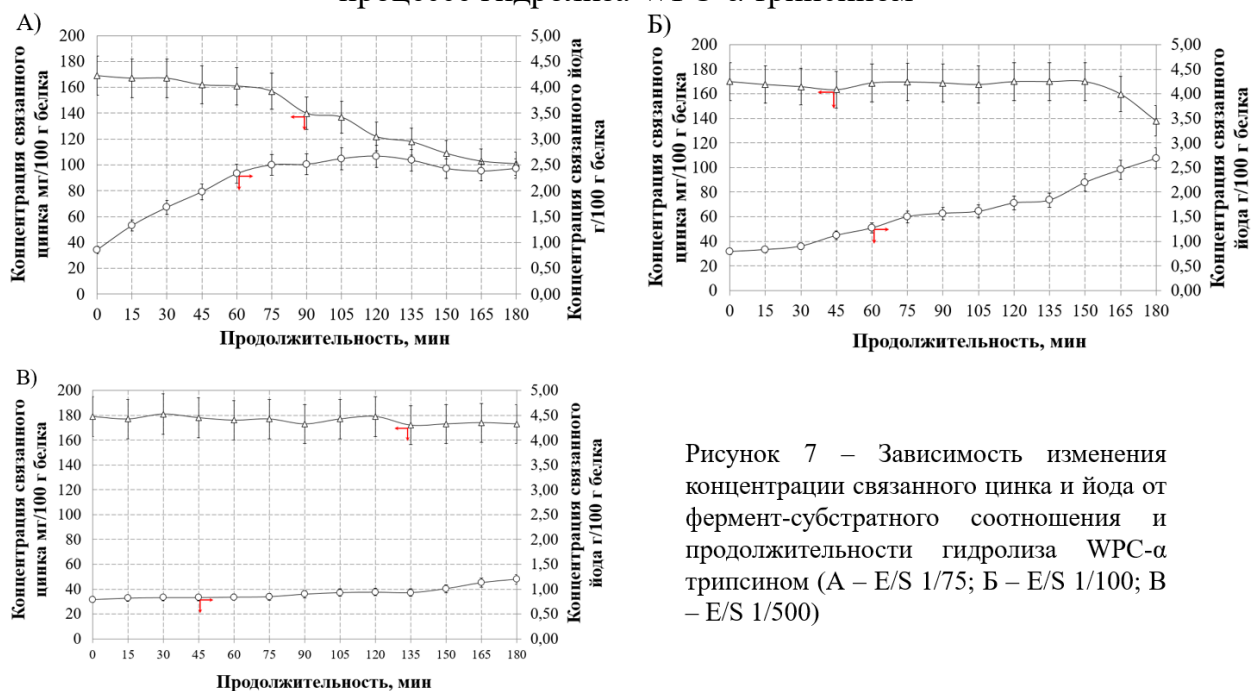


Рисунок 7 – Зависимость изменения концентрации связанного цинка и йода от фермент-субстратного соотношения и продолжительности гидролиза WPC-α трипсином (А – E/S 1/75; Б – E/S 1/100; В – E/S 1/500)

Исследованы процессы баромембранной очистки белков от неорганического йода и цинка для каждой стадии процесса иммобилизации микроэлементов, с использованием мембранных элементов из полиэфирсульфона. Установлены эффективные параметры очистки, соответствующие 3-х кратной диафильтрации с применением ультрафильтрационной мембраны (с порогом задержки 5 кДа) для WPC-α, обогащенного цинком, и 3-х кратной 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 $2,5 \pm 0,4$ г/100 г для цинка и йода соответственно.

В очищенном ГСБ в результате хромато-масс-спектрометрического анализа достоверно идентифицировано 59 валидированных пептидов, принадлежащих 7 основным белкам молока. Прекурсорами белковых последовательностей для 21 вида

пептидов являлся β -ЛГ; для 20 – БСА; 8 – ЛФ; 5 – α S₁-КН; 2 – α -ЛА; 2 – α S₂-КН; 1 – β -КН. Скрининг аминокислотных модификаций, соответствующих одному и двум йодированным остаткам тирозина, фенилаланина и триптофана с изменением молекулярной массы относительно свободных нейодированных аминокислот позволил выявить 3 пептида йодированных по тирозину (рисунок 8).

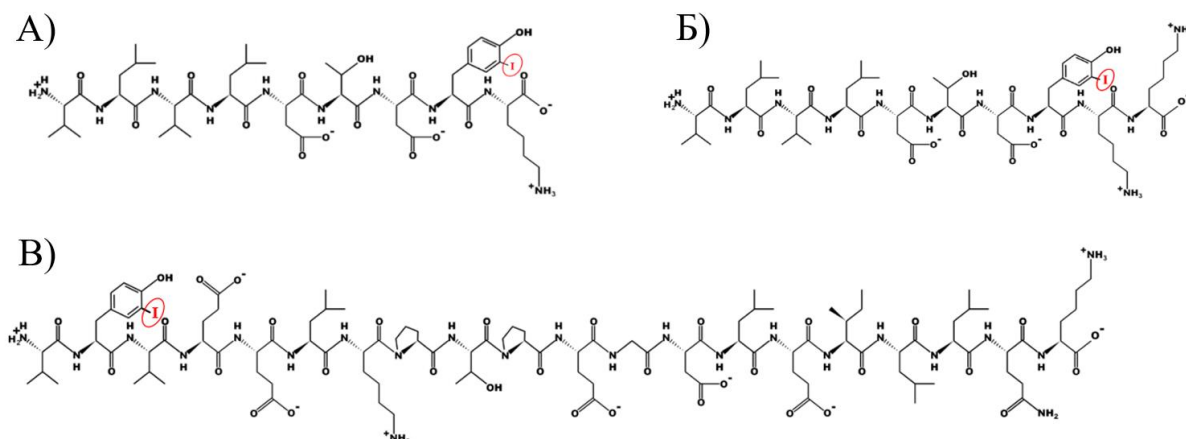


Рисунок 8 – Линейная структура йодированных пептидов (А – VLVLDTDY(I)KK; Б – VLVLDTDY(I)KK; В – VY(I)VEELKPTPEGDLEILLQK)

Анализ пептидов позволил построить пептидную карту гидролиза α -ЛА, β -ЛГ и БСА (рисунок 9). Оранжевым цветом выделены пептиды, детектированные при хромото-масс-спектрометрии, желтым – сайты связывания двухвалентных металлов α -ЛА и БСА.

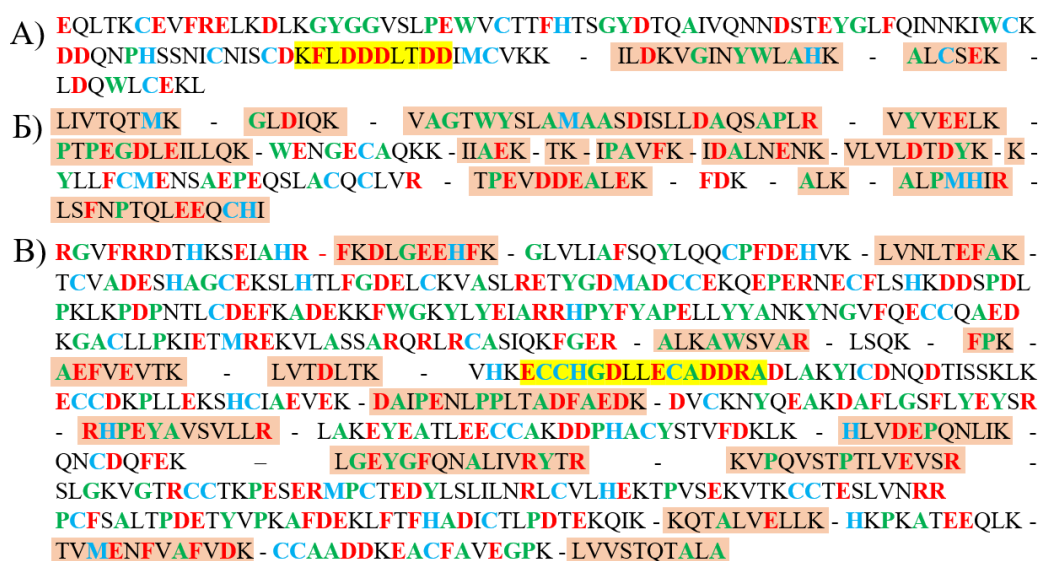


Рисунок 9 – Потенциальная пептидная карта гидролиза WPC- α трипсином (А – α -ЛА; Б – β -ЛГ; В – БСА)

В ГСБ не обнаружено аминокислотных остатков, относящихся к кальций и цинк связывающим сайтам, что позволяет сделать предположение об их сохранности при установленных параметрах протеолиза трипсином. С данной позиции объясняется высокая концентрация хелатированного белком цинка в процессе установленной продолжительности гидролиза.

В главе 5 установлены зависимости сохранения концентраций йода и цинка при дегидратации HWPC- α . Для определения влияния температурного фактора

распылительной сушки проведены экспериментальные выработки и последующая дегидратация обогащенных ГСБ в диапазоне температур 155-195°C с интервалом 10°C. Результаты исследования отражают отсутствие статистически значимого влияния температуры сушки на массовую долю микроэлементов в сухом ГСБ. При этом, наиболее рациональными режимами являлись $T_{вх}=175\pm5^\circ\text{C}$, $T_{вых}=75\pm5^\circ\text{C}$, обеспечивающие м.д. сухих веществ не менее 95%, высокую растворимость (96-98%) и смачиваемость ($85,4\pm2,3$ сек) сухих ГСБ.

Для обеспечения физиологического соотношения микроэлементов, исходя из суточной потребности в них (12 мг – для цинка и 150 мкг – для йода), необходимо было определить концентрацию ионов йода, вносимых при обогащении ГСБ. Для этой цели разработано программное обеспечение с алгоритмом математических расчетов, основанном на определенных ранее закономерностях связывания йода с белками (рисунок 10).

Определение количества связанного йода с белком

М.д.б. в обогащаемой системе - 3%.

Кол-во внесенного молекулярного йода - 0.8 М

- НWPC- α - гидролизованная сыворотка с измененным соотношением β -ЛГ - α -ЛА (0,7 к 1)
- WPC - нативная сыворотка со "стандартным" соотношением β -ЛГ - α -ЛА (2,2 к 1)

Вид белкового субстрата ☒ НWPC- α ☐ WPC

Температура связывания ☒ 2°C ☐ 10°C ☐ 20°C ☐ 30°C ☐ 40°C

Параметры программы

Время, ч

Концентрация связанного йода, г/100г белка

Параметры программы

Время, ч

Концентрация связанного йода, г/100г белка

Динамика связывания йода

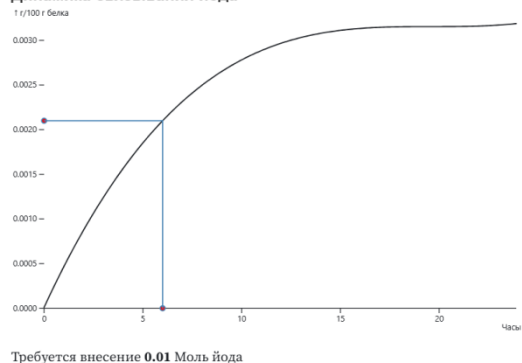


Рисунок 10 – Визуализация программы для расчета необходимого количества молекулярного йода для связывания с субстратом заданного количества йода

С использованием разработанного программного обеспечения установлено необходимое количество йода для связывания с НWPC- α 2,1 мг микроэлемента за 6 часов при 20°C, равное 0,01 М. В полеченном обогащенном при заданных условиях белково-пептидном комплексе концентрация цинка в дегидратированной форме при температурных режимах сушки $T_{вх}=175\pm5^\circ\text{C}$, $T_{вых}=75\pm5^\circ\text{C}$ составила $168,9\pm27,5$ мг на 100 г белка, концентрация йода – $2,2\pm0,5$ мг на 100 г белка.

На основе комплекса исследований, проведенных в работе, разработана технологическая схема производства сухого обогащенного ГСБ (рисунок 11).

Проведенные в соответствии с МУК 4.2.1847-04.4.2. исследования сроков годности сухого обогащенного ГСБ позволили установить срок годности 6 месяцев. Концентрация йода на момент окончания срока годности снижается на 4% относительно начального значения, концентрация цинка статистически значимо не изменяется.

Представлены технологические свойства обогащенного ГСБ, в том числе с точки зрения его применения в производстве обогащенных молочных продуктов. Установлены показатели растворимости, находящейся в диапазоне от $96,1\pm1,2\%$ до

98,5±0,9% и смачиваемости: время изменения краевого угла смачивания до 0° составляет 85,4±2,3 сек.

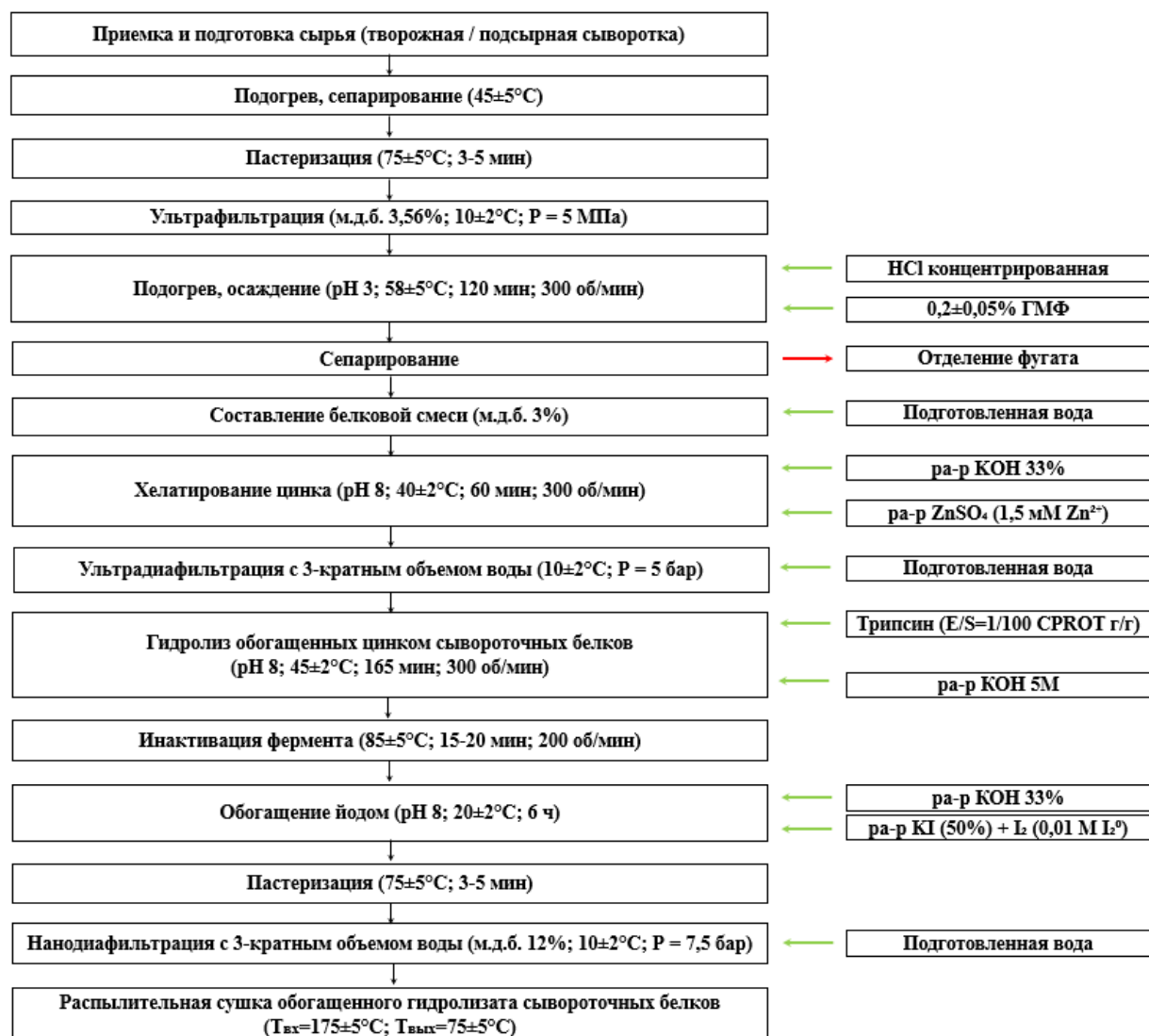


Рисунок 11 – Технологическая схема производства сухого обогащенного ГСБ

Определено влияние кислотного и температурного факторов на стабильность ГСБ: при рН 4,5 наблюдалось агломерирование белковых фрагментов без температурного воздействия, при рН 6,8 ГСБ выдерживает нагревание в течение 90 минут при 95±2°C, а также 3 минуты при 137±2°C (таблица 7).

Таблица 7 – Изменение термоустойчивости сухого ГСБ в зависимости от режимов сушки

Образец	Время выдержки при T = (95±2)°C, мин						Время выдержки при T = (137±2)°C, мин				
	1	5	15	30	60	90	1	3	5	10	15
КСБ (рН 4,5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
КСБ (рН 6,8)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Г (рН 4,5)	-*	-	-	-	-	-	-*	-	-	-	-
Г (рН 6,8)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

(-) – в образце детектированы агломераты коагулированного белка;
 (+) – образец выдержал температурную нагрузку в течение установленного времени;
 (-*) – все образцы ГСБ образовывали агломераты коагулированного белка при рН среды 4,5 (без тепловой нагрузки).

Для изучения влияния технологических режимов гомогенизации (15, 20, 25 МПа, 65°C), пастеризации и стерилизации (таблица 8), сквашивания (ацидофильная и болгарская палочка, закваска «Тонус») в молоко вводили 3% (количество вводимой добавки обосновано достоверностью получаемых данных) обогащенного ГСБ и фиксировали массовую долю микроэлементов в системе после обработки. Исследуемые заквасочные микроорганизмы получены из коллекции Лаборатории прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов ФГАНУ «ВНИМИ». Полученные образцы подвергали 3-х кратной нанодиафильтрации с целью удаления неорганических форм микроэлементов, которые могли появиться в процессе технологической обработки ввиду разрушения связей белок-микроэлемент. По результатам проведенных исследований определено отсутствие статистически значимого влияния режимов гомогенизации, пастеризации и стерилизации, сквашивания на массовую долю цинка в обогащенном молоке, что может быть обосновано формированием прочных связей хелатного комплекса в процессе получения ГСБ. Выявлено статистически значимое влияние времени пастеризации на содержание йода в молоке: наименьшее значение концентрации йода определены в образцах молока, пастеризованного при режиме 95°C в течение 4 ч (снижение на 16%). Полученные закономерности сохранности массовой доли йода в молоке при тепловой нагрузке коррелируют с результатами других исследований.

Таблица 8 – Влияние пастеризации и стерилизации на содержание йода и цинка в продукте

Наименование образца	Содержание цинка, мг/100г молока	Содержание йода, мкг/100г молока
Сырое молоко	3,9±0,9 ^a	52,1±12,3 ^a
Пастеризация (65°C; 30 мин)	3,3±0,8 ^a	50,3±12,1 ^a
Пастеризация (72°C; 20 сек)	3,9±0,9 ^a	46,7±12,2 ^{ab}
Пастеризация (80°C; 20 мин)	3,8±0,9 ^a	47,3±12,2 ^{ab}
Пастеризация (85°C; 20 сек)	3,7±0,9 ^a	45,9±12,0 ^{ab}
Пастеризация (95°C; 5 мин)	3,8±0,9 ^a	47,3±11,8 ^{ab}
Пастеризация (топление) (95°C; 4 ч)	3,8±0,9 ^a	48,6±11,9 ^{ab}
Стерилизация (120°C; 20 мин)	3,7±0,9 ^a	43,7±12,1 ^b
Надстрочные буквы (a–b) отражают значительные различия результатов (p<0,05)		

По результатам проведенных исследований предложена технология обогащенного пастеризованного молока, подразумевающая внесение ГСБ в количестве 5,3 кг на тонну. Готовый продукт содержит 1,8 мг цинка и 26 мкг йода на разовую порцию (200 г), что обеспечивает закрытие суточной потребности организма на 15 и 17,4% соответственно. При необходимости, возможно производить перерасчет количества вносимого ГСБ, в зависимости от степени дефицита йода в разных регионах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенного комплекса исследований разработана концепция направленной модификации белков молочной сыворотки для повышения реакционной способности к специфическому связыванию ионов йода и цинка в соотношениях, оптимальных с точки зрения физиологических потребностей человека. Результаты исследований направлены на решение двух фундаментальных

проблем: глубокой переработки вторичного молочного сырья и профилактики йододефицитных состояний, через обогащение продуктов массового спроса органическими формами микроэлементов, иммобилизованных белковой матрицей молочной сыворотки.

1. Определено влияние ГМФ на повышение эффективности процесса термоселективного фракционирования α -ЛА из системы молочной сыворотки, обусловленное декальцинированием молекулы белка и понижением порога его температурной денатурации, а также снижением соосаждения β -ЛГ. Установлены оптимальные условия процесса (м.д. белка 3,56%; активная кислотность 3,0 ед. рН; температура 58°C; продолжительность 120 минут; м.д. ГМФ 0,2%), позволяющие получить концентрат с соотношением β -ЛГ к α -ЛА – 0,7 к 1.

2. Установлены закономерности влияния технологических параметров на эффективность связывания цинка с декальцинированными белками, определены рациональные условия процесса: температура 40°C; концентрации ионов цинка 1,5 мМ; активной кислотности 8,0 ед. рН; продолжительности 60 минут. Доказано, что модифицированная белковая матрица хелатирует $169,8 \pm 27,3$ мг цинка на 100 г белка, что в 1,6 раза больше, чем нативные белки.

3. На основе проведенного *in silico* моделирования установлено, что наиболее подходящей протеазой для направленного гидролиза является трипсин. Гидролиз сывороточных белков трипсином критически не затрагивает сайты связывания двухвалентных металлов α -ЛА и БСА, при этом потенциальные продукты гидролиза характеризуются приемлемым количеством йодсвязывающих пептидов, низким содержанием свободных аминокислот и горьких пептидов.

4. Оптимизированы параметры процесса гидролиза WPC- α трипсином: активная кислотность 8,0 ед. рН; температура 44°C; продолжительность 180 минут, что обеспечивает максимальную степень гидролиза 4,4%. Установлены зависимости ковалентного связывания йода с белково-пептидным субстратом от технологических факторов среды и определены режимы процесса, обеспечивающие максимальное ковалентное связывание йода ($2,5 \pm 0,4$ г/100г йода): температура 20°C; концентрация ионов йода 4 мМ; активная кислотность 8,0 ед. рН; продолжительность 12 часов. Доказано, что гидролизат WPC- α способен связывать в 2 раза большую концентрацию йода, чем нативные белки с интактным распределением фракций.

5. Доказано, что для очистки WPC- α от нехелатированного цинка перспективно использование 3-кратной ультрадиализации (5 кДа), а для очистки HWPC- α от неорганического йода перспективнее использовать 3-кратную нанодиализацию (0,6 кДа). Скрининг аминокислотных модификаций очищенного HWPC- α позволил детектировать три йодированных по тирозину пептида, локализованных в белке-предшественнике β -ЛГ.

6. Установлено, что процесс распылительной сушки не приводит к снижению концентрации йода и цинка в сухом ГСБ. Установлена зависимость снижения концентрации йода (до 16%) в обогащенном молоке при его пастеризации, при этом большее влияние оказывает продолжительность процесса.

7. Разработана технология и комплект технической документации на производство ГСБ, обогащенного йодом и цинком, обогащенного питьевого молока. Разработанные технологии апробированы и внедрены в промышленное производство на предприятиях молочной отрасли.

Список трудов, опубликованных по материалам диссертации

Статьи в журналах перечня ВАК, относящихся к категории К1-К2

1. **Барковская, И.А.** Перспективы обогащения молочных консервов йодированными сывороточными белками / И.А. Барковская // Молочная промышленность. – 2024. – № 2. – С. 35-39. – DOI 10.21603/1019-8946-2024-2-6.
2. Кручинин, А.Г. Интегративный подход к классификации молочной сыворотки / А.Г. Кручинин, Е.И. Мельникова, **И.А. Барковская** // Сыроделие и маслоделие. – 2024. – № 1. – С. 93-98. – DOI 10.21603/2073-4018-2024-1-7.
3. **Барковская, И.А.** Исследование процесса селективной термоденатурации белков молочной сыворотки / И.А. Барковская, А.Г. Кручинин // Пищевая промышленность. – 2024. – № 11. – С. 34-37. – DOI 10.52653/PPI.2024.11.11.006.
4. **Барковская, И.А.** Апробация технологических решений для производства обогащенного молока / И.А. Барковская, А.Е. Рябова // Сыроделие и маслоделие. – 2025. – № 2. – С. 49-54.

Статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus

1. **Барковская, И.А.** Дефицит йода в России: современное состояние проблемы, мировая практика и новые подходы к терапии / И.А. Барковская, А.Г. Кручинин, И.В. Рожкова // Пищевые системы. – 2024. – Т. 7, № 2. – С. 238-245. – DOI 10.21323/2618-9771-2024-7-2-238-245.
2. Kruchinin, A.G. Bioinformatic Modeling (In Silico) of Obtaining Bioactive Peptides from the Protein Matrix of Various Types of Milk Whey / A.G. Kruchinin, E.I. Bolshakova, **I.A. Barkovskaya** // Fermentation. – 2023. – Vol. 9, No. 4. – P. 380. – DOI 10.3390/fermentation9040380.
3. **Барковская, И.А.** Комплексная модификация белкового профиля молочной сыворотки как подход к созданию обогащенных белковых ингредиентов / И.А. Барковская, А.Е. Рябова, И.В. Рожкова // Пищевые системы. – 2025. – Т. 8, № 2. – С. 221-230. – DOI 10.21323/2618-9771-2025-8-2-221-230.

Статьи в материалах конференций и журналах, индексируемых в РИНЦ

1. **Барковская, И.А.** А-лактальбумин - альтернативное средство доставки йода и цинка для коррекции питания при йоддефиците / И.А. Барковская, А.Г. Кручинин // Пищевые технологии будущего: инновационные идеи, научный поиск, креативные решения : Сборник материалов V международной научно-практической молодежной конференции, посвященной памяти Р.Д. Поландовой, Москва, 06 июня 2023 года. – Москва: ООО "Белый Ветер", 2023. – С. 49-53.
2. **Барковская, И.А.** Сывороточные белки – перспективные носители эссенциальных микроэлементов / И.А. Барковская // Инновационные технологии в пищевой промышленности: наука, образование и производство : Материалы IX Международной научно-технической конференции, Воронеж, 08 декабря 2023 года.

– Воронеж: Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2024. – С. 55-59.

З.Барковская, И.А. Селективное разделение сывороточных белков для производства йодированной пищевой добавки / И. А. Барковская // Стратегия развития АПК России на основе рационального использования региональных генетических и сырьевых ресурсов : Материалы Международной научно-практической конференции, Волгоград, 06–07 июня 2024 года. – Волгоград: Общество с ограниченной ответственностью "СФЕРА", 2024. – С. 164-169.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БМС – белки молочной сыворотки;

ГСБ – гидролизат сывороточных белков;

м.д. – массовая доля;

α -ЛА – α -лактальбумин;

β -ЛГ – β -лактоглобулин;

БСА – бычий сывороточный альбумин;

ГМФ – гексаметафосфат натрия;

Сред/Св.член – среднее значение отклика (целевой переменной) при нулевых значениях всех факторов;

Эффект – вклад каждого фактора (или их взаимодействий) в изменение целевой переменной; $t(66)$ – t -критерий Стьюдента;

p – значение уровня значимости фактора;

-95,% и +95,% – доверительный интервал 95%;

(L) и (Q) – линейное и квадратичное влияние фактора на целевую переменную;

WPC- α – концентрат сывороточных белков с соотношением β -ЛГ к α -ЛА 0,7 к 1;

WPC – концентрат сывороточных белков с соотношением β -ЛГ к α -ЛА 2,2 к 1;

ДН – степень гидролиза;

HWPC- α – гидролизат концентрата сывороточных белков с соотношением β -ЛГ к α -ЛА 0,7 к 1;

САК – свободные аминокислоты;

E/S – фермент-субстратное соотношение.

СПИСОК ТЕРМИНОВ

Термоселективное фракционирование – технологический процесс разделения белков молочной сыворотки (подсырной или творожной), основанный на избирательной денатурации под воздействием температуры и дестабилизирующих факторов.

Модифицированные белки молочной сыворотки – белковые компоненты, структура и свойства которых в процессе технологической обработки были подвергнуты направленным изменениям для иммобилизации йода и цинка, а также с целью улучшения их функционально-технологических свойств (растворимость, способность к гелеобразованию, эмульгирующая способность, пенообразующая способность).