



Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатын шинж чанарын судалгаа

Баярсүх Золзаяа^{1*}, Цоггэрэл Ариунсайхан¹, Эрдэнэ Лхагвамаа¹, Балтсүх Оюунтуяа¹,
Мөнхөө Баяржаргал¹, Түдэв Ган-Эрдэнэ¹

¹Биохимийн лаборатори, Хими, Химийн Технологийн Хүрээлэн, Шинжлэх Ухааны Академи,
Улаанбаатар 13330, Монгол улс

*E-mail: zolzaya_b@mas.ac.mn
ORCID: [0009-0003-0142-5422](https://orcid.org/0009-0003-0142-5422)

Хүлээн авсан: 30.10.2023

Хяналтад: 08.11.2023

Хэвлэлтэд авсан: 16.12.2023

Хураангуй: Энэхүү судалгаанд пивоны дрожджийн гидролизатыг цайрын сульфаттай урвалжуулж гарган авсан комплексын физик-химийн шинж чанарыг тодорхойлж, ашиглах боломжийг тогтоох зорилтыг тавьсан. Судалгаанд авсан цайраар баяжуулсан дрожджийн гидролизат нь 8.2% нийт азот, 2.72% амины азот, 0.5% тос, 9.8% үнс, 5.4% чийг, 610 ppm цайр агуулж байгаа болохыг тодорхойлов. Цайраар баяжуулсан дрожджийн гидролизатын найрлага дах пептидүүдийн молекул массын түгэлтийг гель фильтрацийн хроматографийн аргаар үнэлэхэд >13.2 кДа - 3.2%, 1.54-13.2 кДа - 75.5%, <1.54 кДа - 21% эзлэж байсан бөгөөд гидролизатад тодорхойлогдсон нийт цайрын 73% нь пептидийн дээрх гурван фракцад илэрсэн. Үүнтэй харьцуулахад комплексометрийн титрлэлтийн аргаар нийт цайрын 56% нь цайр-пептидийн хелат (пептидүүдтэй холбогдсон цайр) хэлбэрт оршиж байгааг илрүүлсэн. Нил улаан туяа (НУТ)-ны спектроскопын шинжилгээгээр цайр нь пептидүүдийн амидын болон карбоксил бүлгүүдтэй комплекс нэгдэл үүсгэхэд оролцсон болохыг тогтоов. Бүтээгдэхүүний хоруу чанарыг *Artemia salina* (давстай усны сам хорхой)-г ашиглан тодорхойлоход “хоргүй” ангилалд багтаж байв. Цайртай комплекс нь уусамтгай чанар сайтай, хоруу чанар багатай зэрэг нь гоо сайхан, биологийн идэвхт бүтээгдэхүүнд цайрын эх үүсвэр болгон ашиглах боломжтойг харуулж байна.

Түлхүүр үг: цайр пептидийн хелат нэгдэл, пептидүүдийн молекул массын түгэлт, хоруу чанар

ОРШИЛ

Вандуй, шар буурцаг, сүү, наранцэцэг гэх мэт төрөл бүрийн хүнсний гаралтай уургийн ферментэт гидролизын дүнд үүссэн пептид, чөлөөт аминхүчлүүд дээр суурилсан гидролизатууд нь кальци, цайр, төмөр, зэс зэрэг металлын ионтой пептид-металлын комплекс нэгдэл (хелат) үүсгэх чадвартай бөгөөд тэдгээр нь холбогдсон металл болон пептидийн молекул жин, аминхүчлийн найрлага зэргээсээ хамааран олон янзын биологийн идэвх үзүүлдэг байна [1]. Цайр нь амьд организмын бодисын солилцоонд олон чухал үүрэг гүйцэтгэдэг микроэлемент ба 300 гаруй ферментийн үйл ажиллагаанд оролцон, бие организмын хэвийн өсөлт хөгжил, дархлааны тогтолцоог дэмжихэд онцгой шаардлагатай шилжилтийн элемент юм. Цайр дутагдсанаар дархлаа сулрах, арьсны эпидермис, ходоод гэдэс, нойр булчирхай, төв мэдрэл, нөхөн үржихүйн тогтолцоонд сөргөөр нөлөөлж, тэдгээр эрхтнүүдтэй холбоотой физиологийн үйл ажиллагааны алдагдалд хүргэдэг [2]. Дэлхийн хүн амын 25 гаруй хувь нь цайрын дутагдалд орох эрсдэлтэй гэж судлаачид үздэг байна [3]. Монгол улсад 2008 онд 6-36 сартай 243 хүүхдийн эрдсийн хэмжээг тодорхойлсон судалгааны дүнгээс харахад нийт судалгаанд хамрагдсан хүүхдүүдийн 78 % нь цайрын дутагдалтай байв [4].

Цайрыг уургийн аминхүчил, пептидүүдтэй үүсгэсэн органик комплекс хэлбэрээр малын тэжээл, эрүүл мэндийн зарим төрлийн бүтээгдэхүүний найрлагад ашигладаг [5]. Микроэлементийн хелатжуулсан хэлбэрийн нэмэлт нь органик бус бэлдмэлтэй харьцуулахад хоол боловсруулах замд илүү сайн шимэгдэж, эрдэс бодисын биологийн хүртээмжийг нэмэгдүүлдэг байна. Түүнчлэн энэ төрлийн бүтээгдэхүүнүүд хоруу чанар багатай учир эрэлт хэрэгцээтэй болж байна [6-8]. Пептидийн найрлагад агуулагдах Гис, Сер, Цис, Глу, эсвэл Асп аминхүчлийн үлдэгдлээс бүрдсэн пептидүүд нь цайртай холбогдох чадвартай байдгийг судлаачид тогтоосон байна [1,9,10].

Пиво исгэхэд хоёр төрлийн дрожджийг ашигладаг ба үүний нэг бол *Saccharomyces cerevisiae* юм [1]. Пивоны үйлдвэрийн дрождж (*S.cerevisiae*) нь GRAS буюу хүний эрүүл мэндэд хор нөлөөгүй микроорганизмын жагсаалтад багтдаг [11]. Манай улсад 20 орчим шар айрагны үйлдвэр үйл ажиллагаа явуулдаг бөгөөд Монгол улсын Статистикийн мэдээллийн нэгдсэн сангаас үзэхэд 2021 онд 101.8 сая литр шар айраг үйлдвэрлэсэн байна [12]. Үйлдвэрлэлийн явцад хамгийн багадаа 509 тонн ашигласан дрождж гарч байна гэж үзвэл энэ хэмжээний уураг, аминдэм, нүүрсус агуулсан биологийн үнэт түүхий эд хаягдаж байна [13]. Бид

энэхүү судалгаандаа пивоны дрожжоос гаралтай биологийн идэвхтэй пептидүүдэд дээр суурилсан бие организмын цайрын дутагдлыг нөхөх, бодисын солилцоог дэмжих зориулалтаар гарган авсан бүтээгдэхүүний шинж чанарыг тогтоох зорилтыг тавьсан.

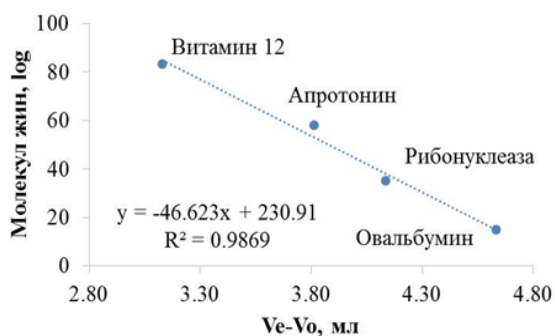
СУДАЛГААНЫ МАТЕРИАЛ, АРГА ЗҮЙ

Судалгааны материал: АПУ ХК-ийн пивоны үйлдвэрийн ашигласан дрожж (*S.cerevisiae*)-ийг малын нойр булчирхайн комплекс ферментээр боловсруулж [14], цайрын сульфаттай урвалжуулан цайраар баяжуулсан дрожжийн гидролизатыг гарган авсан.

Физик-химийн үзүүлэлтүүдийг тодорхойлох: Цайраар баяжуулсан дрожжийн гидролизатын физик-химийн үзүүлэлтүүдийг MNS 6612:2016 стандартын дагуу тодорхойлов. Цайрын хэмжээг индукцийн холбоост плазмын оптик цацаргалтын спектрометр (ICP-OES)-ийн багажаар “Геоаналитик” ХХК болон “Эс Жи Эс Монголиа” ХХК лабораторид тодорхойлуулсан. НУТ-ны спектрийг ШУА-ийн Физик, технологийн хүрээлэнгийн Багажит анализын төвийн IR Prestige-21 багажаар бичүүлэв.

Пептидүүдийн молекул массын түгэлтийг гель фильтрацийн хроматографийн аргаар тодорхойлох: Гидролизатын найрлага дах пептидүүдийн молекул массыг тодорхойлоход HiPrep 16/60 Sephacryl S-100 HR багана бүхий АКТА go (Cytiva) FPLC системийг ашигласан. Хроматографийн баганыг 150 мМ NaCl агуулсан рН 7.0 орчинтой 50 мМ фосфатын буферээр урсгалын хурдыг 0.3 мл/мин тохируулан угааж тогтворжуулсан. Баганаар нэвтрүүлэх маркер уургийн холимог болон дээжийн эзлэхүүнийг 2 мл байхаар сонгож, хроматографийн бичлэгийг 280 нм долгионы уртад явуулан, тооцооллыг АКТА go Unicorn программыг ашиглан хийв.

Пептидүүдийн молекул массыг тодорхойлоход ашигласан стандарт муруйг байгуулахдаа



Зураг 1. HiPrep 16/60 Sephacryl S-100 HR баганыг ашиглан байгуулсан маркер уургийн стандарт муруй. Овальбумин (43кДа); Рибонуклеаза (13.7кДа); Апротонин (6.51 кДа); Витамин В12 (1.35кДа)

хроматографийн баганаар маркер уургийн холимогийг нэвтрүүлж, бичлэг дээр илэрсэн пик тус бүрийн элюцлэгдэн гарсан эзлэхүүн, тэдгээрт харгалзах маркер уургуудын молекул массын логарифмын утгыг харгалзуулсан. Гидролизатын найрлага дах пептидүүдийн молекул массыг стандарт муруйг ашиглан тодорхойлсон. Пептидийн фракц тус бүрийн эзлэх хувийг багажны Unicorn программыг ашиглан тооцоолсон. Хроматографийн баганаас элюцлэгдэж гарсан дээжийг коллекторт бүлэглэн цуглуулж, цайрын агууламжийг тодорхойлоход ашигласан.

Комплексонометрийн титрлэлтийн аргаар нийт цайр тодорхойлох: Ойролцоогоор 5 г уургийн задралын бүтээгдэхүүнийг жинлэн авч, бага хэмжээний ионгүйжүүлсэн усанд уусган 100 мл-ийн хэмжээт колбо руу шилжүүлж, хэмжээс хүртэл ионгүйжүүлсэн ус нэмж эх уусмал бэлтгэнэ. Эх уусмалаас шинжилгээнд 1 мл-ийг пипеткээр соруулан авч, 100 мл-ийн шувтан колбо руу хийж, 20 мл ионгүйжүүлсэн усаар шингэлсний дараа 2-3 дусал ксиллол шар индикатор, 4 мл 1 %-ийн гексаметилентетрамын уусмалыг тус тус нэмж, ягаанаас шар өнгө үүстэл 0.01 н Трилон Б ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot xH_2O$) уусмалаар титрлэнэ. Дээжинд агуулагдах цайрын хэмжээг тодорхойлоход 1 моль Трилон Б 1 моль металлын ионыг холбоно гэж үзэн титрлэлтэд зарцуулсан Трилон Б-ийн эзлэхүүнийг моль руу шилжүүлж нийт цайрын агууламжийг тооцно [6, 15].

Хелат хэлбэрийн цайр тодорхойлох: Нийт цайр тодорхойлоход ашигласан эх уусмалаас шинжилгээнд 5 мл-ийг пипеткээр соруулан авч, 9 мл 96%-ийн этанол нэмсний дараа 6000 эрг/мин-д 10 мин центрифугдэнэ. Уургийн тунадсыг 20 мл ионгүйжүүлсэн устай хольж алдагдалгүйгээр 100 мл -ийн шувтан колбо руу шилжүүлнэ. Титрлэлтийг 0.01 н Трилон Б ашиглан нийт цайр тодорхойлсны адилаар явуулна. Бүтээгдэхүүнд агуулагдах хелат хэлбэрийн цайрын агууламжийг томьёонд орлуулж тооцоолно [6, 15-16].

Зета потенциал (ζ) тодорхойлох: Хуурайшуулсан цайраар баяжуулсан пивоны дрожжийн гидролизатыг ионгүйжүүлсэн усанд 2 мг/мл хэмжээтэй уусган 15 дахин шингэлж тасалгааны температурт Зетапотенциметр (ZETACOMPACT CJ-2D) багажийг ашиглан МУИС-ийн Молекул Эсийн Биофизикийн лабораторид тодорхойлов [17].

Artemia salina (давстай усны сам хорхой) ашиглан хоруу чанар тодорхойлох: Урьдчилан бэлтгэсэн хиймэл далайн усанд (3.8%-ийн NaCl агуулсан рН 8.0 ± 0.5) сам хорхойн хуурай өндгийг 1 г/л хэмжээтэй хийж, тасалгааны температурт гэрэл болон тогтмол агааржуулалттай нөхцөлд 36-48 цагийн турш авгалдай мөчлөг хүртэл амилуулна. Авгалдай үүсэж буй II-р шатанд 10 авгалдайг авч 5 мл далайн ус агуулсан петрийн аяганд хийсний

дараа шинжилж буй дээжнээс 0.5 мл (10-4000 ppm) нэмж, тасалгааны температурт 24 цаг ажиглана. 24 цагийн хугацаанд үхсэн болон амьд үлдсэн авгалдайн тоог тоолж, дараах томъёогоор хоруу чанарыг тодорхойлно [18-20].

$$\text{Үхэл, хорогдол(\%)} = \frac{\text{үхсэн авгалдайн тоо}}{\text{нийт авгалдай тоо}} * 100 \quad (1)$$

Хүснэгт 1. Хоруу чанарын ангилал (LC₅₀, мг/л)

Ангилал	LC ₅₀ , ppm
Маш хортой	<30
Хортой	30-1000
Хоргүй	>1000

ҮР ДҮН, ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

Цайраар баяжуулсан пивоны дрожжийн гидролизатын физик-химийн үзүүлэлтүүдийг тодорхойлсон дүн: Гарган авсан цайраар баяжуулсан гидролизатын ерөнхий үзүүлэлтүүд болох уураг, амины азот, тос, чийг, үнс, азот уусалтын индекс зэргийг тодорхойлон, дүнг Хүснэгт 2-д үзүүлэв.

Хүснэгт 2. Цайраар баяжуулсан пивоны дрожжийн гидролизатын физик-химийн үзүүлэлт

Д/д	Үзүүлэлт	Тодорхойлсон дүн
1	Нийт азот, %	8.2±0.3
2	Амины азот, %	2.72
3	Задралын коэффициент*	0.33
4	Азот уусалтын индекс, %	87.0±0.9
5	Тос %	0.5±0.1
6	Чийглэг, %	5.4±0.01
7	Үнслэг, %	9.8±0.05
8	pH (2%-ийн усан уусмал)	7.5
9	Гадаад байдал	нунтаг
10	Өнгө	цагаан шаргал

*Задралын коэффициентийг тооцолохдоо амины азотын хэмжээг нийт азотын хэмжээнд харьцуулсан болно

Бидний гарган авсан цайраар баяжуулсан дрожжийн гидролизатыг үнэлэхэд дунд хэмжээнд задарсан (амины азот, нийт азотын харьцаа болох задралын коэффициент 0.33), тосны агууламж багатай (0.5%), азот уусалтын индекс харьцангуй өндөр (87%) бүтээгдэхүүн байна. Хуурай хэлбэрийн биологийн идэвхтэй бүтээгдэхүүн дэх тосны агууламж өндөр байвал хадгалалтын явцад исэлдэж, бүтээгдэхүүний чанарыг бууруулдаг сөрөг талтай байдаг ба хуурай бүтээгдэхүүнд агуулагдах тосны хэмжээ 3-5%-иас доош агууламжтай байвал тосны агууламж бага бүтээгдэхүүнд хамаардаг [21]. Энэ үүднээс бидний гарган авсан бүтээгдэхүүн хадгалалт даах чадвартай байх магадлалтай байна. Түүнчлэн биологийн идэвхтэй бүтээгдэхүүний усанд уусах чанар нь бие

организмд шимэгдэхэд нөлөө үзүүлдэг. Энэхүү бүтээгдэхүүн нь усанд уусах чанар сайтай байгааг азот уусалтын индекс харуулж байна.

Цайраар баяжуулсан пивоны дрожжийн гидролизат болон дан пивоны дрожжийн гидролизатын найрлага дах зарим макро, микро элементүүдийн агууламжийг тодорхойлон үр дүнг Хүснэгт 3-д үзүүлэв. Энэ шинжилгээний дүнгээс харахад пивоны дрожжийн гидролизатыг цайраар баяжуулсны дүнд цайрын агууламж 5.8 дахин нэмэгдсэн ба гарган авсан бүтээгдэхүүн дэх цайрын агууламж 610 ppm байв.

Цайраар баяжуулсан пивоны дрожжийн гидролизатын НУТ-ны спектроскопын шинжилгээний дүн:

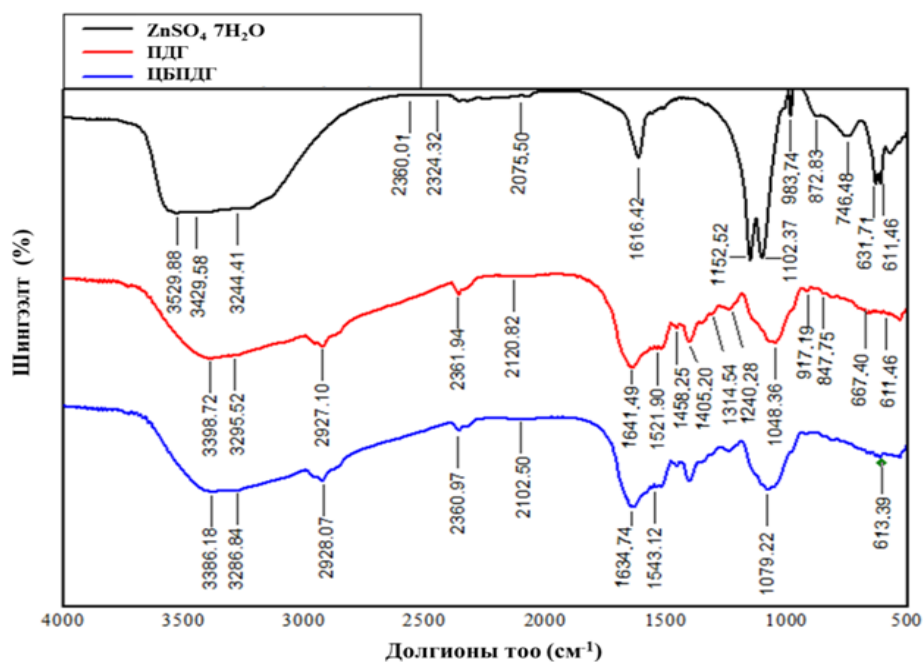
Металл-ион пептидүүдтэй холбогдон, комплекс үүсгэх механизмыг тайлбарлахад НУТ-ны спектроскопын аргыг ашигладаг бөгөөд шингээлтийн зурвасуудын өрчлөлт нь металл-ион болон пептидийн функциональ бүлгийн хоорондын харилцан үйлчлэлийг харуулдаг байна [22].

Уураг, пептидийн бүтэц дэх анхдагч (-NH₂) ба хоёрдогч (-NH-) амидын бүлэг 3500-3100 см⁻¹ болон 1640-1550 см⁻¹ мужид шингээлтийн зурвасыг үзүүлдэг бөгөөд эдгээр нь валентын (ν) болон деформацийн (δ) хэлбэлзэлд тус тус харгалздаг байна [23]. Үүнээс үзэхэд цайраар баяжуулсан болон баяжуулаагүй дрожжийн гидролизатуудын НУТ-ны спектрт ялгаа илэрч байна. Пивоны дрожжийн гидролизатын НУТ-ны спектр (Зураг 2)-оос харахад анхдагч амидын бүлэгт харгалзах 3398.72 см⁻¹; хоёрдогч амидын бүлэгт харгалзах 3295.52 см⁻¹ мужид илэрсэн зурвасууд дрожжийн гидролизатыг цайртай урвалжуулсны дараа 3386.18 см⁻¹ ба 3286.84 см⁻¹ муж руу тус тус шилжиж, хүчтэй валентын хэлбэлзэл үзүүлсэн байна. Пептидийн амидын бүлгийн C=O нь 1680-1630 см⁻¹ давтамжийн мужид хүчтэй шингээлтийн зурвасыг үзүүлдэг [24]. Дрожжийн гидролизатын НУТ-ны спектрт 1641.49 см⁻¹ ба 1521.90 см⁻¹ мужид өгсөн зурвасууд нь анхдагч амидын (C=O) болон хоёрдогч амидын (N-H ба C-N) холбоонд харгалзаж байна. Zn²⁺ ионыг дрожжийн гидролизатад оруулснаар анхдагч амидын бүлэгт харгалзах зурвас 1641.49 см⁻¹-аас 1634.74 см⁻¹ муж руу валентын хэлбэлзэл өгч шилжсэн [23, 25]. Дрожжийн гидролизатыг цайраар баяжуулсны дараа НУТ-ны спектр дээр шинээр 1543.12 см⁻¹ зурвас илэрсэн. Энэ нь хоёрдогч амидын деформацийн (δ) хэлбэлзлийн мужид гарсан өөрчлөлтөд хамаарч байна. Эдгээр дүнгүүд амидын

Хүснэгт 3. Дрожжийн гидролизын бүтээгдэхүүнд агуулагдах зарим элементүүдийн хэмжээ

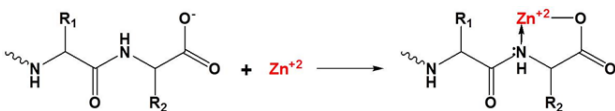
Элемент	Al	Ca	Co	Cr	Cu	Fe	K	Li	Mg	Mn	Mo	Na	Ni	P	S	Zn
Нэгж	%	%	ppm	ppm	ppm	%	%	ppm	%	ppm	ppm	%	ppm	%	%	ppm
ПДГ	0.6	2.2	0.2	1.7	6.1	0.11	3.5	3.9	2.6	15	1.2	1.1	1.3	15.4	0.46	107
ЦБПДГ	0.2	2	0.2	2.8	4.3	0.23	4.7	3.1	1.7	14.2	1.1	0.9	1.6	11.3	0.4	610

ПДГ - пивоны дрожжийн гидролизат; ЦБПДГ - цайраар баяжуулсан пивоны дрожжийн гидролизат



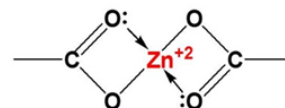
Зураг 2. Цайраар баяжуулсан пивоны дрожжийн гидролизат болон түүнийг гарган авахад ашигласан пивоны дрожжийн гидролизат, цайрын сульфатын НУТ-ны спектр (нимгэн үе, КВг-ын шахмал)
 ПДГ - пивоны дрожжийн гидролизат; ЦБПДГ - цайраар баяжуулсан пивоны дрожжийн гидролизат

N-H холбоонд цайр үйлчилснээр N→Zn координацийн холбоо үүсэхэд оролцсонтой холбоотой гэж үзэх үндэслэл болж байна [22, 26]. Таамаглаж буй Zn-хелатын бүтцийг Зураг 3-д харуулав.



Зураг 3. Цайртай комплексын бүтцийн загвар

Үүний хамтаар карбон хүчлийн C–O холбоо нь 1300–1000 см⁻¹ мужид дундаж эрчимтэй валентын хэлбэлзэл өгдөг [22, 27]. НУТ-ны спектрээс харахад дрожжийн гидролизатын 1048.36 см⁻¹ мужид өгсөн зурвас цайраар баяжуулсны дараа 1079.22 см⁻¹ руу хүчтэй шилжилт явагдсан. Өөрөөр хэлбэл, пептидүүдийн карбон хүчлийн C–O холбоо цайртай хелат нэгдэл үүсгэхэд оролцсон байх магадлалтай. Үүссэн байх боломжтой өөр нэг Zn-хелатын бүтцийг Зураг 4-д харуулав. Үүнтэй төстэй үр дүнг [22, 26] судлаач нар нийтлүүлсэн байна. НУТ-ны спектроскопын шинжилгээний үр дүнгүүд нь



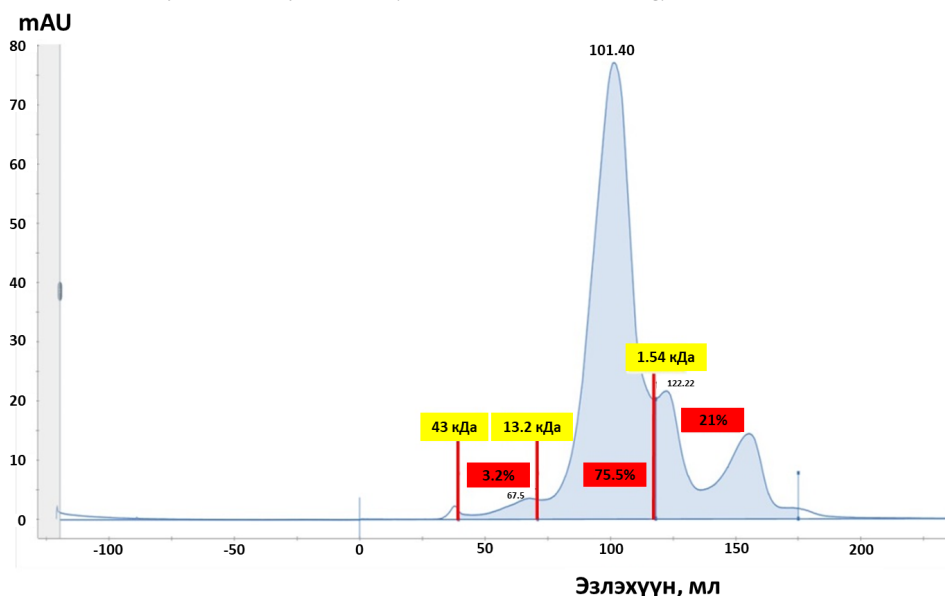
Зураг 4. Пептидийн холбооны C төгсгөлийн карбон хүчлийн бүлэг цайртай комплекс үүсгэсэн байдал

бидний гарган авсан цайраар баяжуулсан пивоны дрожжийн гидролизат дах цайр нь пептидүүдийн хоёрдогч амидын холбоо болон карбоксилийн бүлгүүдтэй хелат үүсгэсэн хэлбэртэй байж болохыг харуулж байна.

Хелат хэлбэрийн цайр тодорхойлсон дүн: Металл -ионтой хелат үүсгэх чадвартай пептидүүд ихэвчлэн бага молекул жинтэй (<500 Да) байдаг гэж үздэг хэдий ч зарим өндөр молекул жинтэй пептидүүд мөн хелат үүсгэх чадвар өндөртэй байж болохыг харуулсан байна [9]. Бидний гарган авсан цайраар баяжуулсан пивоны дрожжийн гидролизатад агуулагдах нийт цайрын хэмжээг комплексонометрийн титрлэлтийн аргаар тодорхойлоход 538±32 ppm байв. Үүнээс хелат хэлбэрт агуулагдаж байгаа цайрын хэмжээг тодорхойлоход 301 ppm буюу нийт

Хүснэгт 4. Уургийн гидролизат болон пептидүүдийг цайртай хелатжуулсаны дараах НУТ-ны спектрийн шилжилтийн дүн

Уургийн эх үүсвэр	Долгионы тоо, см ⁻¹		Харгалзах функциональ бүлэг	Пептид дараалал	Эх сурвалж
	Пептид	Zn-хелат			
Antarctic krill (<i>Euphausia superba</i>) пептид	3294.50 – 3301.81		N-H - N-Zn		Runan et al., 2021
	1652.50 – 1653.47		Амид I		
	1402.29 – 1408.52		COOH - COO-Zn		
	1115.17 – 1118.29		C-O – C-O-Zn		
Шар буурцагны уургийн гидролизат	3391.18 – 3365.46		N-H - N-Zn		Zhu et al., 2015
	1682.01 – 1670.58		Амид I	Lys-Tyr-Lys-Arg-Gln-Arg-Trp	
	1537.24 – 1524.81		Амид I		
	609.07 – 601.64		Амид IV, N-H		



Зураг 5. Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатад дахь пептидүүдийн молекул масс

цайрын 56% ноогдож байв. Үүний дараагаар цайраар баяжуулсан дрожджийн гидролизатыг гель хроматографи явуулан пептидүүдийн молекул массын түгэлтийг тодорхойлж, пептидүүдтэй холбогдсон цайрын хэмжээ, эзлэх хувийг гаргасан.

Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатын найрлага дахь пептидүүдийн молекул массын түгэлтийг тодорхойлсон дүн:

Гель фильтраци явуулсны дүнд цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизат нь хроматограмм дээр үндсэн 3 пик өгсөн бөгөөд стандарт муруй (Зураг 1)-г ашиглан пептидийн фракцийн молекул массын түгэлтийг нь үнэлсэн. Цайраар баяжуулсан дрожджийн гидролизатын найрлага дахь пептидүүдийг ангилахад 43-13.2 кДа - 3.2%; 13.2-1.54 кДа - 75.5%; <1.54 кДа - 21%-ийг тус тус эзэлж байв (Зураг 5). Тодруулбал, цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатын найрлага дахь пептидүүдийн 96%-ийг 13.2 кДа-аас бага молекул масстай пептидүүд болон чөлөөт аминхүчлүүд бүрдүүлж байна.

Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатын найрлага дахь пептидүүдийн фракцуудад тодорхойлсон уураг болон цайрын хэмжээг Хүснэгт 5-д үзүүлэв. Гель хроматографи, микроэлементийн шинжилгээний дүнг нэгтгэн

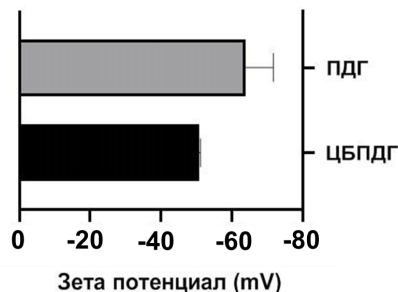
Хүснэгт 5. Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатын пептидийн фракцад агуулагдах цайр болон уургийн агууламж

Пептидийн фракцууд	Zn агууламж, мкг	Zn, %	Уургийн агууламж, мкг
Фракц 1 (43-13.2 кДа)	1.61	32	10
Фракц 2 (13.2-1.54 кДа)	1.3	26	13
Фракц 3 (<1.54 кДа)	0.76	15	8

үзэхэд судлагдаж буй бүтээгдэхүүнд тодорхойлогдсон цайрын 73% нь дээрх гурван пептидийн фракцад илэрсэн бөгөөд пептидтэй холбогдсон хэлбэрт оршиж байна гэж үзэж болно. Ингэхдээ цайрын зонхилох хувь нь 1.54 кДа дээш молекул масстай хоёр фракцад илэрсэн.

Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатын ЗЕТА потенциал (ζ) тодорхойлсон дүн:

Пептидийн металлын ионуудтай харилцан үйлчлэх чадвар нь тэдгээрийн цэвэр гадаргуугийн цэнэгээс шалтгаалдаг бөгөөд сөрөг цэнэгүүд өндөр байх нь металлын ионы холбогдох чадварыг нэмэгдүүлснээр металлын комплексыг бэхжүүлдэг [10]. Пептидүүдийг цайртай урвалжуулж, комплекс үүсгэснээр зета потенциалын утга нь буурдаг байна [9-10]. Бидний явуулсан судалгааны дүнд мөн дээрх хандлага ажиглагдлаа. Пивоны дрожджийн гидролизатын найрлага дахь пептидүүдийн гадаргуугийн цэнэгийн зета потенциалын утга - 63.86 мВ байсан бол цайраар баяжуулсны дараа - 50.5 мВ болж буурсан (Зураг 6).



Зураг 6. Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизат (ЦБПДГ) болон пивоны дрожджийн гидролизат (ПДГ)-ын зета потенциалын дүн

Энэхүү үүссэн зета потенциалын зөрүү нь цайр-пептидийн комплекс нэгдэл үүссэн болохыг давхар харуулж байна.

Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатын хоруу чанар тодорхойлсон дүн:

Давстай усны сам хорхой буюу артемиагын төрөл нь далайн сармагчин гэгддэг 1 мм орчим хэмжээтэй далайн сээр нуруугүй амьтад юм [18]. Сүүлийн 30 жилийн хугацаанд *A.salina*-ийн шинжилгээг олон төрлийн ургамлын гаралтай бүтээгдэхүүний хоруу чанарын судалгаанд өргөн ашиглаж байна. Мөн энэхүү аргыг ургамлын ханднаас гадна хүнд металл, метал ион, цианобактер, шүдний материал, нанопартиклын хоруу чанарыг тодорхойлоход ашигладаг [19, 28]. Хурдан, энгийн, шаардагдах зүйлс бага, өртөг хямд, тусгай төхөөрөмжгүйгээр үржүүлж болдог бөгөөд хатаасан өндөг нь аквариумын дэлгүүрүүдэд худалдаалагддаг, хэдэн жилийн турш идэвхээ алдахгүй хадгалагддаг зэрэг судалгаанд ашиглахад олон давуу талтай [20, 29].

A.salina ашиглан цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизат болон цайраар баяжуулаагүй пивоны дрожджийн гидролизатын хоруу чанарыг өөр өөр концентраци (10-4000 ppm)-тайгаар хяналтын бүлэгтэй харьцуулан туршсан ба үр дүнг Хүснэгт 6-д LC₅₀ утгаар илэрхийлэн үзүүлэв.

Хүснэгт 6. Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатын хоруу чанар (LC₅₀)

Дэж	LC ₅₀ , ppm
Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизат	>1000
Пивоны дрожджийн гидролизат	>1000

Хүнс, тэжээлийн уурагт түүхий эдээс гарган авсан цайр-пептидийн комплексг хүн болон мал амьтанд эрдсийн нэмэлт болгон ашиглахад аюулгүй, хоруу чанар багатай гэж үздэг [9, 30]. Бидний гарган авсан цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатын LC₅₀ утга нь 1476 ppm буюу хоргүй ангилалд багтаж байгаа нь цаашид олон төрлийн бүтээгдэхүүнд ашиглах боломжтойг харуулж байна.

ДҮГНЭЛТ

Цайраар баяжуулсан пивоны дрожджийн гидролизатын бүрэлдэхүүнд 13.2 кДа-аас бага молекул масстай пептидүүд болон чөлөөт аминхүчлүүд 96%-ийг эзлэж байгаа нь тус бүтээгдэхүүн бие организмд шингэц сайтай байж, биологийн идэвх үзүүлэх өндөр магадлалтайг илтгэж байна.

Цайраар баяжуулсан пивоны гидролизатын найрлага дах нийт цайрын 56% нь хелат хэлбэрт оршиж байгаа бөгөөд пептидүүдийн амидын бүлэг болон карбон хүчлийн C-O холбоо цайртай комплекс нэгдэл үүсгэхэд оролцсон болохыг НУТ-ны спектроскопын шинжилгээгээр тогтоов. Үүн дээр нэмэхэд бидний гарган авсан энэхүү бүтээгдэхүүн хоруу чанар багатай, уусамтгай чанар сайтай зэрэг нь гоо сайхан, биологийн идэвхт бүтээгдэхүүнд цайрын эх үүсвэр болгон ашиглах боломжтойг харуулж байна. Цайраар баяжуулсан

пивоны дрожджийн гидролизатын биохими, физиологийн үйлчлэлийг цаашид найрийвчлан судлах хэрэгцээ шаардлагатай байна.

ТАЛАРХАЛ

Энэхүү судалгааны ажлын НУТ-ны спектроскопын үр дүнд тайлал хийхэд мэдлэг оюунаа харамгүй зориулан тусалсан ШУА-ийн Хими, химийн технологийн хүрээлэнгийн Органик бус химийн лабораторийн ЭШТА, доктор, профессор Г.Бурмаа танд гүн талархал илэрхийлж байна.

АШИГЛАСАН МАТЕРИАЛ

1. A.S. Oliveira, C. Ferreira, J.O. Pereira, M.E. Pintado, A.P. Carvalho. (2022) Spent brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a potential source of bioactive peptides: An overview. *International journal of biological macromolecules*. 208, p.1116–1126. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.094>
2. X. Wang, J. Zhou, P.S. Tong, X.Y. Mao. (2011) Zinc-binding capacity of yak casein hydrolysate and the zinc-releasing characteristics of casein hydrolysate-zinc complexes. *Journal of dairy science*. 94(6), p.2731–2740. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3900>
3. A.V. Marukhlenko, M.A. Morozova, A.M.J. Mbarga, N.V. Antipova, A.V. Syroeshkin, et al. (2022) Chelation of zinc with biogenic amino acids: Description of properties using balaban index, assessment of biological activity on *Spirostomum ambiguum* cellular biosensor, influence on biofilms and direct antibacterial action. *Pharmaceuticals*. 15 (8), p.979. <https://doi.org/10.3390/ph15080979>
4. R.L. Lander, T. Enkhjargal, J. Batjargal, K.B. Bailey, S. Diouf, et al. (2008) Multiple micronutrient deficiencies persist during early childhood in Mongolia. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 17(3), p.429–440. https://doi.org/10.1096/fasebj.22.1_supplement.893.3
5. J. Ryan, F. Kratzer, C. Gau, P. Vohra. (1986) Glandless cottonseed meal for laying and breeding hens and broiler chicks. *Poultry Science*. 65(5), p.949-955. <https://doi.org/10.3382/ps.0650949>
6. C. Wang, B. Li, J. Ao. (2012) Separation and identification of zinc-chelating peptides from sesame protein hydrolysate using IMAC-Zn²⁺ and LC-MS/MS. *Food chemistry*. 134(2), p.1231–1238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.204>
7. P. Pastore, A. Gallina, P. Lucaferro, F. Magno. (1999) Cu(II)-amino acid and Cu(II)-peptide chelates in animal feeding: a semi-quantitative approach to characterize the commercial products and the limits of their structural integrity. *Analyst*. 124, p.837-842. <https://doi.org/10.1039/A901489F>
8. G.B. Kim, Y.M. Seo, K.S. Shin, A.R. Rhee, J. Han, et al. (2011). Effects of performance, blood

- parameters, liver mineral content, and intestinal microflora of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*. 20(1), p.21-32. <https://doi.org/10.3382/japr.2010-00177>
9. X. Liu, Z. Wang, F. Yin, Y. Liu, N. Qin. (2019) Zinc-chelate mechanism of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) derived synthetic peptides. *Marine drugs*. 17(8), p.438. <https://doi.org/10.3390/md17080438>
 10. M.C. Udechukwu, B. Downey, C.C. Udenigwe. (2018) Influence of structural and surface properties of whey-derived peptides on zinc-chelating capacity, and *in vitro* gastric stability and bioaccessibility of the zinc-peptide complexes. *Food chemistry*. 240, p.1227–1232. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.063>
 11. F.F. Jacob, L. Striegel, M. Rychlik, M. Hutzler, F.J. Methner. (2019) Spent yeast from brewing processes: A biodiverse starting material for yeast extract production. *Fermentation*. 5(2), p.51. <https://doi.org/10.3390/fermentation5020051>
 12. <https://www.1212.mn> Статистик мэдээллийн сан.
 13. I. Ferreira, O. Pinho, E. Vieira, J. Tavela. (2010) Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: Characteristics and potential applications. *Trends in Food Science & Technology*. 21(2), p.77-84. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.008>
 14. Б. Оюунтуяа, Б. Золзаяа, Э. Лхагвамаа, А. Энх-Ариун, Б. Дэлгэрмөрөн, М. Баяржаргал ба бусад. (2020) Пивоны дрожжийн гидролизатыг зэсээр баяжуулж шинж чанарыг тодорхойлсон дүнгээс. “Хими-2020” эрдэм шинжилгээний бага хурал X. 40 (ханан илтгэл)
 15. B.S. Gustavo, V.S.B. Paulo, D.I. Marcelo, C.C. Eduardo. (2020) Determination of zinc oxide in pharmaceutical preparations by EDTA titration: A practical class for a quantitative analysis course. *Journal of Chemical Education*. 97(2), p.522–527. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.9b00939>
 16. K. Zhu, X. Wang, X. Guo. (2015) Isolation and characterization of zinc-chelating peptides from wheat germ protein hydrolysates. *Journal of Functional Foods*. 12, p.23-32. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.030>
 17. D. Lu, M. Peng, M. Yu, B. Jiang, H. Wu, et al. (2021) Effect of enzymatic hydrolysis on the zinc binding capacity and *in vitro* gastrointestinal stability of peptides derived from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds. *Frontiers in nutrition*. 8, p.647782. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.647782>
 18. R.N. Jegathambigai, I. Rusli, S. Sreenivasan. (2014) Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of methanol extract of *Mentha spicata* L. (Lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 13 (1), p.101-107. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i1.15>
 19. M. Hamidi, B. Jovanova, P.T. Kadifkova. (2014) Toxicological evaluation of the plant products using brine shrimp model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*. 60(01), p.9-18. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2014.60.-01.002>
 20. A. Andini, E. Prayekti, W.D. Dyah, E. Nidianti. (2020). Cytotoxicity assay using brine shrimp lethality test on collagen-chitosan wound dressing sterilized by ultraviolet light. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*. 2, p.21-26. <https://doi.org/10.33086/ijmlst.v2i1.1467>
 21. A. Henriques, J.A. Vázquez, J. Valcarcel, R. Mendes, N.M. Bandarra et al. (2021) Characterization of protein hydrolysates from fish discards and by-products from the north-west Spain fishing fleet as potential sources of bioactive peptides. *Marine drugs*. 19(6), p.338. <https://doi.org/10.3390/md19060338>
 22. S. Zhu, Y. Zheng, S. He, D. Su, A. Nag et al. (2021) Novel Zn-binding peptide isolated from soy protein hydrolysates: Purification, structure, and digestion. *Journal of agricultural and food chemistry*. 69(1), p.483–490. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05792>
 23. Д. Монхообор, Г. Батчимэг. (2009) Молекулын бүтэц ба спектроскопи. Улаанбаатар. х.46
 24. К.К. Сидоров, (1973) О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. Токсикология новых промышленных химических веществ (вып. 13). М.: Медицина 47.
 25. W. Fan, Z. Wang, Z. Mu, M. Du, L. Jiang et al. (2020) Characterizations of a Food Decapeptide Chelating with Zn(II). *Efood*. 1(4), p.326-331. <https://doi.org/10.2991/efood.k.200727.001>
 26. R. Sun, X. Liu, Y. Yu, J. Miao, K. Leng et al. (2021) Preparation process optimization, structural characterization and *in vitro* digestion stability analysis of Antarctic krill (*Euphausia superba*) peptides-zinc chelate. *Food Chemistry*. 340, p.128056. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128056>
 27. Ch. Li, G. Bu, F. Chen, T. Li, (2020) Preparation and structural characterization of peanut peptide-zinc chelate. *CyTA-Journal of Food*. 18, p.409-416. <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1767695>
 28. M. Lieberman. (1999) A brine shrimp bioassay for measuring toxicity and remediation of chemicals. *Journal of Chemical Education*. 76(12), p.1689. <https://doi.org/10.1021/ed076p1689>
 29. P. Sorgeloos, C. Remiche-Van Der Wielen, G. Persoone. (1978) The use of *Artemia nauplii* for toxicity tests - A critical analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2(3-4), p.249–255. [https://doi.org/10.1016/s0147-6513\(78\)80003-7](https://doi.org/10.1016/s0147-6513(78)80003-7)
 30. H. Lim, I.K. Paik, T. Sohn, W. Kim. (2006) Effects of supplementary copper chelates in the form of methionine, chitosan and yeast on the performance of broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 19(9), p.1322-1327. <https://doi.org/10.5713/ajas.2006.1322>

A study on the properties of zinc-enriched spent brewer's yeast hydrolysate

Bayarsukh Zolzaya^{1*}, Tsoggerel Ariunsaikhan¹, Erdene Lkhagvamaa¹, Baltsukh Oyuntuya¹,
Munkhuu Bayarjargal¹, Tudev Gan-Erdene¹

¹Laboratory of Biochemistry, Institute of Chemistry and Chemical Technology, Mongolian Academy of Sciences,
Ulaanbaatar 13330, Mongolia

*E-mail: zolzaya_b@mas.ac.mn

ORCID: [0009-0003-0142-5422](https://orcid.org/0009-0003-0142-5422)

Submitted: 30.10.2023

Reviewed: 08.11.2023

Accepted: 16.12.2023

Abstract: The purpose of this study was to determine the physicochemical properties of the complex obtained by reacting spent brewer's yeast hydrolysate with zinc sulfate and to establish the possibility of its use. The zinc-enriched yeast hydrolysate was determined to contain 8.2% of total nitrogen, 2.72% of amino nitrogen, 0.5% of fat, 9.8% of ash, 5.4% of moisture, and 610 mg/kg of zinc. Peptide molecular mass distribution in zinc-enriched yeast hydrolysate was assessed using gel filtration chromatography, which gave results of >13.2 kDa - 3.2%, 1.54-13.2 kDa - 75.5%, <1.54 kDa - 21%. Also 73% of total zinc detected in the three peptide fractions of hydrolysate. In comparison, complexometric titration revealed that zinc-peptide chelates, or zinc bound to peptides, accounted for 56% of total zinc. Zinc was involved in the creation of complexes with amide and carboxyl groups in peptides, according to the infrared (IR) spectroscopy analysis. The toxicity of the product was evaluated using *Artemia salina* (brine shrimp), classified as "non-toxic." Because of its low toxicity and high solubility, the zinc-enriched spent brewer's yeast hydrolysate can be used as a zinc source in cosmetics and biologically active products.

Keywords: zinc peptide-chelates/complexes, distribution of molecular weight of peptides, toxicity

© The Author(s). 2023 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

DOI: <https://doi.org/10.5564/bicct.v11i11.3285>