

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Южный федеральный университет»

«УТВЕРЖДАЮ»

д.б.н. В.А. Чистяков

«_____» _____ 2016 г.

АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОТЧЁТ

на тему:

«Контроль антитрипсина в кормах для птиц»

Соглашение РФФ № 16-16-04032 от 11.08.2016 г (вн. № 213.01-03/2016-9) по научному проекту «Замедление репродуктивного старения кур с помощью культур пробиотических микроорганизмов – продуцентов веществ с антиоксидантной и ДНК-протекторной активностью»

Руководитель: д.б.н., В.А. Чистяков

Исполнитель: член-корр. РАН, д.м.н., А.В. Тутельян

Ростов-на-Дону

2016г.

Основным направлением совершенствования технологии кормления и лечебно-профилактических мероприятий современного птицеводства является разработка и внедрение в производство функциональных кормовых добавок. Их систематическое применение позволяет более эффективно использовать рационы и обеспечить профилактику заболеваний птицы, реализовать полностью потенциал современных кроссов и пород.

Традиционные пути производства комбикормов с использованием животного белка и синтетических добавок не могут удовлетворить растущие потребности промышленного птицеводства в дешевом кормовом сырье и не отвечают требованиям экологической безопасности сельскохозяйственной продукции. В современных экономических условиях необходимо создание новых функциональных продуктов путем использования растительного сырья и применения биотехнологических приемов его ресурсосберегающей переработки (Петенко, 2004; Рядчиков, 2006).

Среди растительных кормов оптимальным источником белка считается соя и продукты ее переработки, которые находят все более широкое применение в кормлении сельскохозяйственных животных и птицы (Рядчиков, 1978; Мартынов, 1988; Кощаев, 2007, Петибская, 2012). Соя занимает особое положение в кормопроизводстве благодаря содержанию в ней биологически полноценного протеина (до 48%), который по содержанию незаменимых аминокислот приближается к рыбной муке, и легкопереваримого жира (Ермакова, 1987; Петибская, 2012).

Перспективно обогащение рациона продуктивных животных белком зернобобовых культур — сои, люпина, гороха, фасоли, кормовых бобов, чечевицы, маша, нута, семена которых содержат до 42% белка (Волченко, 2007; Кощаев, 2007, Петибская, 2012). Кроме того, важно, что животные белки и протеин зернобобовых близки по аминокислотному составу. Так, в белках продуктов переработки семян зернобобовых идентифицировано 18 аминокислот, в т.ч. все незаменимые, содержание которых колеблется в пределах (28,5—37,0)% от их общего количества. В частности, введение в рационы соевой муки практически решает вопросы обеспечения незаменимыми аминокислотами - лизином и метионином (Ермакова, 1987; Петибская, 2012).

Сравнение основных ростовых и балансовых показателей анаболической эффективности белков семян зернобобовых со стандартным молочным белком — казеином дает основание считать, что исследуемые белки обладают достаточно высокой биологической ценностью. Семена зернобобовых богаты также полиненасыщенными жирными кислотами, фосфолипидами, макро- и микроэлементами, витамином Е, клетчаткой. Однако пищевую ценность белков зернобобовых в значительной степени снижают природные биологически активные антиалиментарные вещества: ингибиторы протеиназ, фитогемагглютинины, фитатные соединения, уреазы, гойтрогены и др (Кощаев, 2007; Памирский, 2009).

Из всего спектра антиалиментарных факторов широко распространены и содержатся в большом количестве в семенах сои и других зерновых и зернобобовых культур **ингибиторы протеиназ**. Они способны снижать каталитическую активность протеолитических ферментов (трипсина и химотрипсина) желудочно-кишечного тракта животных, образуя с ними прочные неактивные комплексы. Поступление в организм повышенного количества этих антиалиментарных факторов приводит к снижению процесса гидролиза белков пищи и эффективности их усвоения.

Соевый ингибитор трипсина (СИТ)

Ингибитор трипсина был обнаружен в 1938 г. в бобах сои *Glycine max* Боуманом (Bowman), и выделен из них Кюнитцом (Kunitz) в 1945 г. (Памирский, 2009). Синонимы: ингибитор трипсина типа Кюнитца, Soybean Basis Trypsin Inhibitor (SBTI), Soybean Trypsin Inhibitor (STI). На сегодняшний день известно, что в бобах сои содержится несколько полиморфных типов данного белка (Wang et al., 2008). Ингибитор трипсина Кюнитца из соевых бобов (далее СИТ) относится к белкам глобулярного типа. Молекулярный вес СИТ

составляет около 20100 атомных единиц массы. Активность СИТ выражают в трипсин ингибиторных единицах (ТИЕ). 1 ТИЕ равна количеству ингибитора снижающего активность 2-х трипсиновых единиц на 50% (Памирский, 2009).

Первичная структура ингибитора представлена одноцепочечным полипептидом из 181 аминокислотных остатков. На уровне третичной организации в молекуле СИТ образуются две дисульфидные связи: Cys39-Cys86, Cys136-Cys145 (рис. 1). СИТ имеет один активный центр, состоящий из аргинина (положение в цепи 63) и изолейцина (положение в цепи 64), и располагающийся рядом центр связывания (см. рис. 1). СИТ образует с протеазами обратимые и необратимые комплексы. Механизм действия СИТ до конца не ясен и продолжает исследоваться (Памирский, 2009).

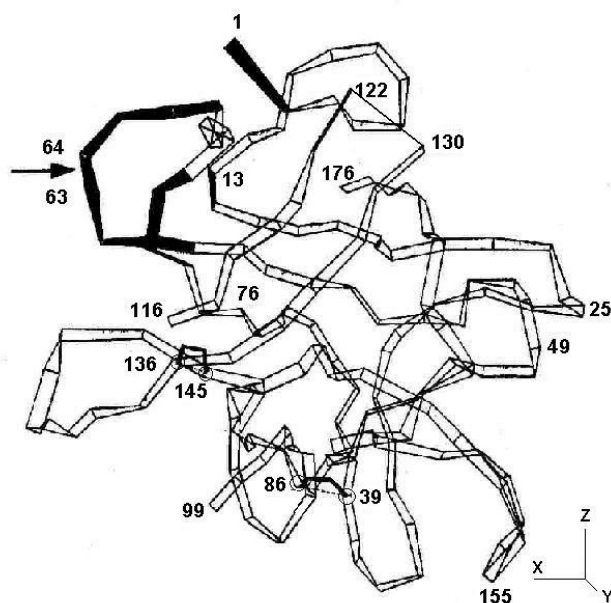


Рис. 1. Дисульфидные связи в молекуле СИТ (Blow, Janin, Sweet, 1974).

Перемычки между номерами 136 и 145, 39 и 86 обозначают дисульфидные связи. Активный центр (63 и 64) показан стрелкой. Черным показаны участки полипептидной цепи, являющиеся центром связывания с ферментами.

А.И. Арчаковым и соавторами (2005), установлено, что с повышением температуры константа скорости ассоциации комплекса трипсин-СИТ возрастает, а диссоциации – не изменяется. Сегодня СИТ выпускают как реагент для научных лабораторий, в которых активно исследуется влияние СИТ на организмы животных. Известно, что соевый ингибитор в условиях *in vitro* подавляет образование провоспалительных медиаторов, интерлейкинов в фибробластах, а также уменьшает летальность у мышей *in vivo* при введении эндотоксина липополисахаридной природы (Kobayashi et al., 2005a, 2005b, 2005c). СИТ в большом количестве содержится в соевых бобах, которые используются для изготовления различных продуктов питания. Среди диетических белков, соевый белок считается полноценным, так как содержит все незаменимые аминокислоты (Maubois, Lorient 2016). Продукты из сои применяют в диетотерапии (Высоцкий, Зилова, 1995; Anderson, 2008; Rahman Mazumder MA, Hongsprabhas, 2016; McGraw et al., 2016). Поэтому воздействие соевых продуктов на организм человека привлекает много внимания.

Уникальная природа ингибиторов протеолиза позволяет им выполнять разнообразные биологические функции поддержания гомеостаза на разных уровнях. Тем не менее, основная роль ингибиторов заключается в ограничении деятельности протеолитических ферментов. В организме протеолитические ферменты обеспечивают протекание адаптационных процессов, неспецифических гуморальных и клеточных защитных механизмов и другое. Функциональная деятельность ингибиторов не

ограничивается влиянием на протеазы, они также могут препятствовать действию цитокинов, токсинов и ряда других биологически активных веществ (Зорин и др., 1995).

Ингибитор трипсина, обнаруженный в соевых бобах, относится к необратимым ингибиторам ферментов, т.к. он вызывает полное торможение реакций, катализируемых ферментом пищеварительной системы трипсином. Этот антифермент (антиэнзим) представляет собой белок (или полипептид), сорбируемый трипсином и инактивирующий его каталитическую активность, препятствуя образованию комплекса фермент - субстрат. Последнее существенно в физиологическом отношении, т. к. взаимодействие с белковым панкреатическим ингибитором исключает активацию профермента непосредственно в поджелудочной железе и его автолиз (Антонов, 1991). Недостаток трипсина проявляется у человека и животных в нарушении пищеварения.

Особую группу белков-ингибиторов животного происхождения составляют серпины (SERine Protease INhibitor) (Silverman et al., 2001). Серпины ингибируют сериновые протеазы – ключевые ферменты, отвечающие за функционирование и взаимосвязь физиологических систем организма (пищеварение, иммунитет, гемостаз и др.). К характерным представителям данной группы белков относят гирудин, α 1-антитрипсин, α 2- макроглобулин и другие. Аналоги белков-ингибиторов животного происхождения обнаружены у таких растений как табак, горчица, картофель, пшеница, соя и другие (Дунаевский и соавт., 2005; Мосолов, Валуева, 2005). В частности, к ним относятся ингибиторы из соевых бобов, способные препятствовать действию сериновых протеаз подобно серпинам. Установлено, что СИТ является ингибитором ренина, а также ангиотензин-превращающего и эндотелин-превращающего ферментов. СИТ не обладает токсичностью, мутагенностью, канцерогенностью и тератогенностью; оказывает антиагрегационное действие. Получены данные, свидетельствующие, что двухмесячный прием соевого белка, содержащий активный СИТ, снижает общую протеолитическую и увеличивает трипсин-ингибиторную активность сыворотки крови (Памирский, 2009).

Ингибитор трипсина был обнаружен также и в зернах риса, овса, кукурузы, ячменя, ржи, проса и пшеницы (Sosulski et al., 1988; Петибская, 2012). В позднейших работах был разработан способ получения его обогащенных препаратов путем сорбции на нерастворимой в воде ионообменной смоле, содержащей трипсин. Исходным сырьем для получения препаратов служили зародыши пшеницы и ржи. Из пшеницы и ржи извлекается одна фракция ингибитора трипсина, представляющая собой белок молекулярной массы около 17 000 и смесь трех ингибиторов молекулярной массы около 12000 (Lasztity, 1995).

Ингибиторы большей молекулярной массы состоят из двух полипептидных цепей, соединенных дисульфидными мостиками; по-видимому, эти пептиды образуются при расщеплении связи Арг—Ала, когда ингибитор реагирует с трипсином. Поскольку эти модифицированные вещества обладают ингибирующей способностью, активным центром их можно считать именно этот участок молекулы. Там же был установлен аминокислотный состав ингибитора и его N- и C-концевые группы (Ашмор, 1966; Уэбб, 1966; Sosulski et al., 1988; Lasztity, 1995).

Различные сорта зерновых различаются по содержанию антитрипсина: так, если в озимой пшенице сорта Лютеценс-998 39 единиц антитрипсина и шесть единиц антихимотрипсина, то в озимой пшенице сорта Виркус-508 - две единицы антитрипсина, 13 единиц антихимотрипсина. Среднее содержание ингибитора в твердой пшенице значительно ниже, чем в обыкновенной (11,2 и 18,3 единицы соответственно). Изучение зерна пшеницы, ржи и Тритикале показало, что ингибитор трипсина проявляет наибольшую активность в зерне ржи и очень малую в зерне пшеницы. Активность его в зерне Тритикале приближается к активности в зерне ржи (Sosulski et al., 1988; Lasztity, 1995).

Средние величины содержания ингибиторов протеиназ в семенах сои $30,68 \pm 1,44$ г/кг продукта. Однако различные сорта сои различаются по трипсинингибирующей

активности; можно условно их разделить на три группы, высокоингибиторные (например, Лира, Вилана), средней ингибирующей активности (Веста, Фора) и низкоингибиторные (Валента) (Волченко, 2007; Петибская, 2012). В продуктах переработки белого и желтого люпина, гороха, фасоли, кормовых бобов и нута уровень ингибиторов трипсина не превышает $1,35 \pm 0,01$ г инактивированного трипсина на кг продукции. Еще более низкий этот показатель в продуктах переработки зерновых, например, в белковом концентрате из пшеничных отрубей — $0,26 \pm 0,02$ г/кг (Валуева, Мосолов, 1995).

Способы инактивации антипитательных соединений, содержащихся в сое и соевых продуктах

В различных странах значительное внимание уделяется новым технологиям переработки фуражного зерна, позволяющим повышать питательную ценность получаемого продукта при оптимальном уровне трудовых и энергетических затрат на приготовление корма и сохранение минимальной его себестоимости (Боярский, 1990). При этом большое количество исследований направлено на изыскание способов комплексной обработки зерна теплом, влагой и механическим воздействием.

Соя и соевые продукты содержат ряд алкалоидов и глюкозидов, которые влияют на общее состояние животных, биологическую ценность соевого белка и усвояемость питательных веществ из корма. Поэтому рекомендуется проводить термическую обработку соевого зерна перед скармливанием (Чикова, 2004).

По Б.В. Егорову (1985) существуют следующие способы инактивации антипитательных факторов сои:

- физические (варка, поджаривание, экструдирование, микронизация, «сверх высокая частота» - СВЧ — обработка, влаготепловая обработка);
- биохимические (ферментация и проращивание);
- комплексные.

Целесообразность использования в практике того или иного способа определяется затратами, прежде всего энергетическими.

Проваривание — это сравнительно простой метод. Бобы вымачивают, а затем отваривают в течение получаса. После варки они раскатываются для просушки и становятся готовыми к потреблению. Бобы скармливаются либо в цельном виде, либо в виде муки или гранул. Соя может провариваться и в автоклаве. Эта технология отличается только тем, что процесс идет под давлением пара. Метод **прожаривания** предполагает интенсивную тепловую обработку цельной сои или муки, в результате которой они теряют до 30% первоначальной влажности. В зависимости от типа используемого оборудования, обработка проходит при температуре от 110 до 168 С. Еще одной разновидностью прожаривания является **обработка сои инфракрасными лучами (микронизация)**, источниками инфракрасных лучей могут быть как специальные электрические лампы накаливания, так и керамические элементы, внутри которых сгорает природный газ или пропан. Эти лучи усиливают вибрацию в молекулах сои. Увеличение давления пара при испарении влаги под воздействием нагревания до 180 - 220 С, вызываемого облучением, способствует повышению переваримости крахмала, разрыву оболочек масляных капсул и снижению антипитательных свойств сои (Пономарев и др., 2002). **Тостирование** соевого шрота производится в специальных аппаратах — тостерах. Действие высоких температур разрушает антипитательные вещества, содержащиеся в сое, изменяет нативную структуру протеина, вследствие чего он становится более переваримым и усвояемым. (Дмитроченко, 1965). Существенно ускорить процесс тестирования сои можно путем предварительного увлажнения до 12 - 25% и обработке горячим воздухом при температуре 90-120 С. В настоящее время большое внимание уделяется **экструзии**. Экструзия — это технология, которая может и не включать предварительную обработку сои, бобы пропускают через шнек и матрицу. Процесс сопровождается высокими температурами, которые обеспечиваются через трение (сухая экструзия), либо с помощью впускания пара и подачи воды (влажная экструзия), а

так же давлением. Особенность экструзии состоит в том, что наряду с обработкой паром при повышенном давлении и температуре, приводящей к структурным преобразованиям биополимеров (белков, крахмала, клетчатки), корм подвергается еще "декомпрессионному шоку" или "взрыву". Он происходит на выходе из экструдера в результате быстрого перехода из зоны высокого давления в область атмосферного. Аккумулированная в результате этого энергия довершает такие структурные преобразования, как разрыв клеточных стенок, декстринизация крахмала, деструкция целлюлозо-лигнинного комплекса. Среди положительных сторон действия гидробаротермической обработки можно выделить и денатурацию белка, приводящую к повышению его растворимости.

Однако в зависимости от времени воздействия, температуры и давления на сырье растворимость и ферментация белка, а также доступность его аминокислот для птицы в ряде случаев могут снижаться в результате взаимодействия свободных аминокислот с восстанавливающими веществами. Под действием высокой температуры и влажности свободные аминокислоты лизина и аргинина вступают в химическую связь с карбонильными группами углеводов, образуя трудноферментируемые комплексы (Дамберг, Латвениекс, 1972). Кроме того, свободные карбоксильные группы белка могут взаимодействовать с амино- и оксигруппами, содержащимися в остатках других аминокислот, образуя перекрестные связи, также устойчивые к действию пищеварительных ферментов (Глушко, Винник, 1990). Эти изменения в структуре белков и углеводов могут привести к снижению их переваримости в организме птицы, что, в свою очередь, способно вызывать изменения в соотношении незаменимых аминокислот в рационе, а также энергии переваримых белковых и безбелковых веществ (Щербина и др., 2001). Сравнивая эффективность скормливания сои и соевого шрота, обработанных различными методами, пришли к выводу, что экструдирование сои и соевого шрота не обеспечивает желаемого повышения биологической ценности и общей питательности этих кормов, а наиболее эффективно действует автоклавирование (12ГС в течение 15 мин) (Чикова, 2004). Обработка сои в баротермической камере при температуре 110С, продолжительностью 20 минут обеспечивает инактивацию уреазы до уровня 0,01 - 0,02 рН, антитрипсина - 1,5 - 2,5 мг/ т зерна (Андрейцов, 1994). В рекомендациях Северо-Кавказского НИИЖ указывается, что один из доступных способов обработки соевого зерна - ее поджаривание в течение 5 -10 минут при температуре 250С. Для поджаривания используют аппараты типа АФ-КЖА, газовые печи или паровые сушилки типа ВС 10-49. Благодаря конвективному способу тепловой обработки зерна сои, полностью разрушаются его антипитательные вещества путем поджаривания в течение 5-10 минут при температуре греющей поверхности около 250С (Андрейцов, 1982). Другой способ обработки зерна сои — варка или запаривание. Ее осуществляют в течение 60 мин., либо запаривают 30 — 40 минут в кормозапарнике (Девяткин, Ткаченко, 1981). Отмечен положительный эффект **плющения** (обработка горячим воздухом) и **флактирования** (длительное воздействие горячего пара с последующим механическим прокатыванием) (Luguet, Vergot, 1976).

Расчетная стоимость протеина в кормах растительного происхождения в 7-10 раз ниже протеина животного происхождения. Снижение себестоимости комбикормов за счет использования растительных кормов и отходов различных производств, позволяет значительно повысить эффективность выращивания птицы (Подобедов, 1999). Так, автоклавирование семян сои сортов Валента и Вилана в рационах цыплят-бройлеров способствовало увеличению среднесуточных приростов до 46,85 г, и повышало сохранность поголовья до 100% (Волченко, 2006).

Установлено, что при оптимизации состава рецептов комбикормов, полученных с использованием полножирной сои, необходимо их нормирование по трипсинингибирующей активности, которая не должна превышать 2,44 мг/г рациона (Волченко, 2006).

Таким образом, в продуктах переработки семян других зернобобовых, как и в продуктах из сои, содержание ингибиторов трипсина по сравнению с необработанными семенами существенно уменьшается. Анализ данных литературы показал, что использование современных технологий переработки зернобобовых позволяет получить пищевые и кормовые продукты с гарантировано низким содержанием ингибиторов трипсина, которые могут включаться в рацион питания не только продуктивных и непродуктивных животных, но и человека, как источник высококачественного белка.

Список использованных источников:

1. Антонов В.К. Химия протеолиза. — М.: Наука, 1991. — 504 с.
2. Арчаков А.И., Иванов Д.Ю., Раченкова Н.И. и др. Исследование взаимодействия трипсина с соевым ингибитором трипсина с помощью метода оптического биосенсора // Биомед. химия. - 2005. - № 6. - С. 617 - 625.
3. Ашмор П. Катализ и ингибирование химических реакций. пер. с англ., М.: Мир, 1966.
4. Боярский Л.Г. Производство и использование кормов. //М.: Росагропромиздат, 1990. - 130 с.
5. Волченко Д.С. Физиолого-биохимическая оценка воздействия на организм цыплят-бройлеров ингибиторов протеаз из сои /Д С. Волченко, А Г Кощев // Актуальные проблемы ветеринарной медицины и производства продукции животноводства и растениеводства, Троицк — 2006. —С. 19—23.
6. Высоцкий В.Г., Зилова И.С. Роль соевых белков в питании человека // Вопр. питания. —1995. —№5. — С. 20—27.
7. Глушко В., Винник Л., Термообработка или простое дробление// Комбикормовая промышленность. - 1990. - №6. - С. 19-22.
8. Дамберг Б.Э., Латвениекс М.Г. //Прикладная биохимия, 1972. – 283 с.
9. Девяткин А.И., Ткаченко Е.И., Рациональное использование кормов в промышленном животноводстве. 2-е издание переработанное и дополненное. М.: Россельхозиздат, 1981. - 223 с.
10. Дмитроченко А.П. Действие влаготепловой обработки кормов на питательную ценность их протеинов (обзор). //Сельское хозяйство за рубежом. Животноводство// 1965. - №3. - С. 2 - 8.
11. Егоров Б.В. Разработка технологии влаготепловой обработки сои // Автореф. канд. дис. - Одесса, 1985. – 24 с.
12. Дунаевский Я.Е., Цыбина Т.А., Белякова Г.А., Домаш В.И., Шарпио Т.П., Забрейко С.А., Белозерский М.А. Ингибиторы протеиназ как антистрессовые белки высших растений // Прик. биох. и микробиол. - 2005. - Т. 41. - № 4. - С. 392-396.
13. Ермакова А.И. Методы биохимического исследования растений. - Л.: Колос, 1987.-430 с.
14. Зорин Н.А., Жабин С.Г., Козлов И.Г., Горлина Н.К. и др. Изучение реакций между ингибиторами протеиназ плазмы крови и коллагеном //Вопр. мед. химии. - 1995. - Т. 41. - № 6. - С. 53-55.
15. Кощев, А.Г. Воздействие ингибиторов протеаз из семян сои на организм цыплят-бройлеров / А.Г. Кощев // Аграрная наука. – 2007. – № 4. – С. 25-26.
16. Мартынов В.И., Штанько И.П., Лобанова Е.А. Питательность и биологическая ценность зерновых кормов в зависимости от способов термической обработки //Технология возделывания, заготовки, хранения и использования кормов - 1988. - С.62 - 70.
17. Мосолов В.В., Валуева Т.А. Ингибиторы протеиназ и их функции у растений (Обзор) // Прикл. биохим. и микробиол. - 2005. - Т. 41. - № 3. - С. 261-282.

18. Памирский И.Э. Анализ степени структурной и функциональной однотипности поливалентного ингибитора протеаз, содержащегося в поджелудочной железе животных, и соевого ингибитора трипсина. Дисс. канд. биол. наук. - Благовещенск, 2009.- 117 с.
19. Петенко, А И. Использование полножирной сои в кормлении цыплят-бройлеров / А И Петенко, А.Г Кощаев, Д С Волченко, ЕВ Якубенко// ВетеринарияКубани. – 2005. — №5. —С. 6—7.
20. Петенко А.И., А.Г. Кощаев, В.А.Ярошенко, Е.В. Якубенко. Проблемы и решения производства и использования экологически безопасных функциональных кормовых добавок для животноводства на Кубани// Ветеринария Кубани - 2004. - №2 - С. 11.
21. Петенко А.И., Ярошенко В.А., Кощаев А.Г., Карганян А.К. Обеспечение биологической безопасности кормов // Ветеринария. – 2006. – № 7. – С. 7 - 11.
22. Подобедов А.В. Перспективы развития системы и переработки сои. // М.: Аграрная наука, 1999. - №9. - С. 10 - 15.
23. Пономарев С.В., Гамыгин Е.А., Никоноров С.И., Пономарева Е.Н., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А. Технологии выращивания и кормления объектов аквакультуры юга России // Справочное, учебное пособие. - Астрахань: Нова плюс, 2002. - 264 с.
24. Рядчиков В.Г. Улучшение зерновых белков и их оценка. - М.: Колос, 1978. - 368с.
25. Узбб Л. Ингибиторы ферментов и метаболизма (пер. с англ.). - М: Мир, 1966.
26. Чикова В.В. Использование полножирной сои и продуктов ее переработки в комбикормах для рыб: Дис. ... канд. с.-х. наук. - Краснодар, 2004. - 116 с.
27. Щербина М.А., Гамыгин Е.А., Салькова И.А. Влияние экструзии на питательную ценность кормового сырья для рыб. // Рыбн. хозяйство. Сер. Аквакультура. Корма и кормление рыб. ВНИЭРХ, 1996. - Вып. 2. - С. 1 - 11.
28. Anderson J.W. Beneficial effects of soy protein consumption for renal function // Asia Pac. J. Clin. Nutr. - 2008. - Vol. 17. - Suppl. 1. - P. 324 - 328.
29. Kobayashi H., Yoshida R., Kanada Y. et al. Suppression of lipopolysaccharide-induced cytokine production of gingival fibroblasts by a soybean, Kunitz trypsin inhibitor // J. Periodontal Res. - 2005a. - Vol. 40. - № 6. - P. 461 - 468.
30. Kobayashi H., Yoshida R., Kanada Y. et al. A soybean Kunitz trypsin inhibitor reduces tumor necrosis factor-alpha production in ultravioletexposed primary human keratinocytes // Exp. Dermatol. - 2005b. - Vol. 14. - № 10. - P. 765 - 774.
31. Kobayashi H., Yoshida R., Kanada Y. et al. Dietary supplementation of soybean kunitz trypsin inhibitor reduces lipopolysaccharide-induced lethality in mouse model // Shock. - 2005c. - Vol. 23. - № 5. - P. 441 - 447.
32. Lasztity Radomir The Chemistry of Cereal Proteins, Second Edition. - CRC Press, 1995 г. – 336 с.
33. Luguët P., Bergot F. Evaluation de divers traitements technologiques des cereals. VII. Utilization de maïs pres, floconne, expunse et extrude dans l'alimentation de la truite arc-en-ciel // Ann. Zootech. - 1976. - 25. - №1. - P. 6369 – 6378.
34. Maubois JL, Lorient D. Dairy proteins and soy proteins in infant foods nitrogen-to-protein conversion factors// Dairy Sci Technol. – 2016. – 96. – P. 15 - 25.
35. McGraw NJ, Krul ES, Grunz-Borgmann E, Parrish AR. Soy-based renoprotection// World J Nephrol. – 2016. - 6;5(3). – P. 233 – 257. doi: 10.5527/wjn.v5.i3.233.
36. Rahman Mazumder MA, Hongsprabhas P. Genistein as antioxidant and antibrowning agents in in vivo and in vitro: A review.// Biomed Pharmacother. – 2016. – 82. – P. 379 - 392. doi: 10.1016/j.biopha.2016.05.023.

37. Silverman G.A., Bird P.I., Robin W.C. et al. The Serpins Are an Expanding Superfamily of Structurally Similar but Functionally Diverse Proteins // J. Biol. Chem. - 2001. - Vol. 276. - № 36. - P. 33293 – 33296.
38. Sosulski F.W., Minja L.A., Christensen D.A. Trypsin inhibitors and nutritive value in cereals// Plant Foods Hum Nutr. – 1988. – 38 (1). – P. 23 - 34.
39. Wang K.J., Takahata Y., Kono Y., Kaizuma N. Allelic differentiation of Kunitz trypsin inhibitor in wild soybean (Glycine soja) // Theor. Appl. Genet. - 2008. - Vol. 117. - P. 565 - 573.