

УДК 664.38: 577.015

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПЕПТИДЫ И ФУНКЦИОНАЛЬНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГИДРОЛИЗАТОВ БЕЛКОВ РАПСА *

© **И.М. Чернуха^{1,2}, И.А. Дегтярев^{1**}, И.А. Фоменко¹, Н.Г. Машенцева¹**

¹ *Российский биотехнологический университет, Волоколамское шоссе, 11, Москва, 125080, Россия, Ivand152@yandex.ru*

² *Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, ул. Талалихина, 26, Москва, 109316, Россия*

Биологически активные пептиды с заданной активностью могут быть получены путем направленного ферментативного гидролиза белков. В научной литературе приведено большое количество сведений о получении биологически активных пептидов из животного сырья, при этом растительные источники почти не рассмотрены. Среди масличных и бобовых культур рапс имеет один из наибольших потенциалов в производстве белка, объем которого составляет около 13.8 млн т в год, а также в получении на его основе биологически активных пептидов. Целью работы являлось изучение закономерностей гидролиза изолята белков рапса под действием коммерческих ферментных препаратов (ФП) протеаз с образованием пептидов с прогнозируемой биологической активностью. Показано, что в сравнении с изолятом белков рапса наиболее существенно удалось повысить ФТС в образцах гидролизатов со степенью гидролиза белков 10%, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», «SQzyme PS» и «Sunson neutral». Увеличение влагосвязывающей способности составило в среднем 14%, жиросвязывающей способности 89%, жирозмульгирующих свойств 7%, стойкости эмульсии 8%. Пенообразующая способность увеличилась в среднем на 47%, при этом снижение стойкости пены составило 25%. Методом LC-MS/MS в гидролизатах, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», было определено 6667 пептидов, из них 4 мажорных, 7678 пептидов в образце гидролизата, полученного с использованием ФП «SQzyme PS», среди которых 3 мажорных, и 9034 пептидов в образце с ФП «Sunson neutral», для которого было отобрано 6 мажорных пептидов. С использованием инструментов биоинформатических баз данных среди мажорных пептидов было определено 13 пептидов-ингибиторов АПФ с противоопухолевой и гипогликемической и активностями, 11 пептидов, обладающих потенциальной антиоксидантной и антигипертензивной активностями, 2 пептида с антитромботическими свойствами и 5 ингибиторов α -глюкозидазы. Потенциально аллергенных пептидов не обнаружено. Для гидролизатов, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», было определено 2 потенциальных горьких пептида из 4, с использованием ФП «SQzyme PS» все 3 пептида были определены как горькие, при использовании ФП «Sunson neutral» было спрогнозировано 4 горьких пептида из 6.

Отобранные пептиды в дальнейшем могут быть получены синтетическим методом и исследованы на предмет целевой биологической активности в ходе эмпирических исследований. Синтез отдельных пептидов исключает посторонние примеси и вариабельность с точки зрения качественного состава пептидов в гидролизатах, а также обеспечивает их чистоту и стабильность целевой биологической активности.

Ключевые слова: гидролизаты, пептиды, биологическая активность, изолят белка рапса, протеолиз, функционально-технологические свойства, биоинформатика.

Для цитирования: Чернуха И.М., Дегтярев И.А., Фоменко И.А., Машенцева Н.Г. Биологически активные пептиды и функционально-технологические свойства гидролизатов белков рапса // Химия растительного сырья. 2026. №3. Online First. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20260317640>.

Введение

Многочисленные современные исследования посвящены получению и изучению свойств биологически активных пептидов (БАП). [1–3]. Такое внимание к биопептидам объясняется тем, что они имеют большой потенциал для конструирования продуктов питания, направленных на укрепление здоровья и профилактику различных заболеваний. БАП проявляют антигипертензивные, противомикробные, противовоспалительные, антиоксидантные свойства, для некоторых пептидов были описаны противоопухолевые эффекты [4]. При этом конкретные свойства пептидов зависят от их аминокислотной последовательности и свойств аминокислот.

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.20260317640s

** Автор, с которым следует вести переписку.

Пептиды являются продуктами гидролиза белков, которые в нативной форме не проявляют биологическую активность, но при их высвобождении они становятся активными. БАП возможно получить несколькими способами: под действием эндогенных ферментов ЖКТ, в результате протеолиза с использованием ферментных препаратов животного, растительного и микробного происхождения, путем ферментации микроорганизмами, а также в ходе химического гидролиза и синтетическим путем.

Наиболее доступным и простым в реализации методом получения БАП является использование ферментных препаратов, выделенных из животного, растительного и микробного сырья, т.к. процесс осуществляется в контролируемых условиях. Большое распространение получило животное сырье для производства биопептидов, среди которых яичный белок, белки молока – казеин и сывороточные белки, а также мясные белки. Значительная часть пептидов производится с использованием пепсина, бромелаина и трипсина. В исследовании А.В. Shazly и др. (2017) использовали ФП «Alcalase» и «Трипсин» для гидролиза бычьего и буйволиного казеина с получением БАП – RELEE, MEDNKQ, TVA, EQL, PYPQ, EMPFPK, YFYPE, PQSV, обладающих антиоксидантной активностью [5]. На основе белков молока были получены пептиды, обладающие антимикробной активностью [6], способные ингибировать АПФ [7], и пептиды с антиоксидантной активностью [8].

На данный момент на рынке представлено ограниченное количество пептидов: «Calpis», выделенные из простокваши, «Evolus», полученные на основе молока, «Lacprodan» на основе молочной сыворотки, «Bonito peptide» и «Vasotensin», выделенные из скумбрии, «Lacitum» и «Capolac» на основе белков молока и др. [9]. Ограничивающими факторами для коммерческого производства БАП являются отсутствие технологических решений, позволяющих получать биопептиды из различных источников сырья, недостаток знаний о механизмах действия пептидов, их стабильности в ЖКТ и отсутствие клинических испытаний, подтверждающих их безопасность.

С учетом содержания белка основными его источниками среди растительного сырья являются масличные, бобовые и злаковые культуры. Растительное сырье обладает низкой стоимостью и широкой доступностью. Было отмечено, что биологические активности пептидов на основе растительного сырья аналогичны пептидам животного сырья. Среди масличных, бобовых и зерновых культур, после сои, рапс имеет наибольший потенциал в производстве белка, который составляет около 13.8 млн т в год [2].

На основе белков рапса были идентифицированы пептиды, обладающие АПФ-ингибирующей способностью [10], ингибирующие дипептидилпептидазу IV [11] и с антиоксидантной активностью [12]. При этом в отечественной научной литературе данное направление исследований по-прежнему остается актуальным и малоизученным. Имеется необходимость расширения знаний о качественном составе пептидов, образующихся в ходе гидролиза белков рапса под действием коммерческих ферментных препаратов, а также в разработке методики получения целевых пептидов с необходимыми биологическими свойствами.

Белки масличных и их гидролизаты могут быть использованы при производстве пищевых продуктов за счет биологических свойств – антиоксидантной, антигипертензивной и нейропротекторной активностей. Также для белков масличных культур отмечена низкая аллергенность. В исследовании J. L. Ospina-Quiroga et al., 2022 было продемонстрировано, что гидролизаты белков подсолнечника, рапса и люпина способствовали ингибированию процесса окисления липидов [13], а в работе J. Hou et al., 2017 полипептиды глицинина сои подавляли рост мицелия и прорастание спор, что способствует их использованию в качестве консервантов [14].

Имеются сведения, которые указывают на то, что тип и источник белка, метод предобработки, тип ферментных препаратов и условия гидролиза оказывают влияние на функциональность гидролизатов и свойства биологически активных пептидов [15].

Идентификацию пептидов в полученных гидролизатах проводят методом LC-MS/MS [16]. Белки и пептиды ранее определялись с использованием иммунологических методов, таких как РИА и ИФА. LC-MS/MS обладает более высокой точностью и чувствительностью. Масс-спектрометрия не требует применения специфичных реактивов и антител, а также обеспечивает экономическую эффективность, высокую пропускную способность. Данный подход позволяет идентифицировать пептиды в смеси с высокой точностью.

Для оценки физико-химических свойств и прогнозирования биологической активности пептидов без проведения экспериментальных исследований проводят анализ *in silico* с использованием инструментов биоинформатических баз данных (БД). Имеется возможность определить потенциальные токсичные пептиды с использованием инструментов БД «ToxinPred», горькие пептиды в БД «BitterDB», а также определить потенциальные аллергены в БД «AlgPred» [17]. Пептиды могут проявлять более 43 биологических активностей, указанных в БД «BIOPEP». С использованием данной БД проводят скрининг профиля потенциальной биологической активности в представленной белковой последовательности на основе связывания

количественного дискриминанта А (частоты встречаемости биологически активного фрагмента в представленной аминокислотной цепи [18]. Пептиды с потенциальной антибактериальной активностью идентифицируют в БД «AntiBP2» [19], с антигипертензивными свойствами в БД «АНТрин» [20], противотуберкулезные в БД «AntiTbPred» [21], противоопухолевые в БД «AntiCP 2.0» [22].

Цель настоящего исследования – изучение закономерностей ферментативного гидролиза изолята белков рапса под действием коммерческих ферментных препаратов протеаз, идентификация образующихся в ходе гидролиза пептидов и прогнозирование их биологических свойств с использованием методов биоинформатического анализа, а также определение функционально-технологических свойств гидролизатов.

Объекты и методы исследования

На рисунке 1 представлена схема проведения исследования.

В исследовании использовали изолят белков рапса, полученный согласно Патенту РФ № 2815553 на основе жмыха семян рапса холодного отжима (ООО «Лебяжский ЗРМ», Россия) [23]. Жмых рапса измельчали до размера частиц не более 200 мкм, проводили экстракцию жира н-гексаном в соотношении жмых : растворитель 1 : 4 при температуре 40 °С в течение 1 ч. Далее проводили ферментативную деструкцию некрахмальных полисахаридов жмыха рапса в течение 4 ч: готовили 10% водную суспензию обезжиренного жмыха рапса, нагревали суспензию до 40 °С и доводили значение pH до 5.5 с использованием 10% раствора H₂SO₄, вносили ферментный препарат «Rovabio Max AP» в дозировке 80 ед. ЦЛС/г жмыха рапса. Затем проводили экстракцию белков рапса в щелочных условиях: доводили значение pH до 9.0 с использованием 10% раствора NaOH, вносили NaCl до концентрации 0.5М. Экстракцию осуществляли в течение 1 ч. Далее проводили центрифугирование при 4000 мин⁻¹ в течение 20 мин. Осаждение белков из фугата осуществляли с использованием 10% раствора HCl при значении pH 4.2. Выпавший в осадок белок отделяли центрифугированием при 4000 мин⁻¹ в течение 20 мин, промывали 2 объемами дистиллированной воды и повторно центрифугировали. Полученный изолят белка высушивали в вакуумно-сушильном шкафу при температуре 50 °С и давлении 100 Па до остаточной влажности 6–8%. Содержание «сырого» протеина в полученном изоляте составляет 90.75±2.27%, содержание сухих веществ – 94.66±2.36%. Выход белка составил 67.94% от общего содержания в жмыхе рапса.

Для проведения ферментативного гидролиза изолята белков рапса использовали ФП, представленные в таблице 1.

В промышленной и лабораторной практике эффективность протеолиза оценивают по массовой дозировке ферментного препарата, а интегральным показателем служит фактическая степень гидролиза (ДН, %) [24]. Активность ферментных препаратов определяли стандартным методом с бычьим гемоглобином в качестве модельного субстрата. Однако учитывая ограниченную применимость этих показателей к растительным белкам, нормирование дозировки по единицам активности не проводилось.

Ферментативный гидролиз проводили путем приготовления 5% (по сухому веществу, СВ) водной суспензии изолята белков рапса в конических колбах с объемом 250 см³, соответственно, взвешивали 5.3 г изолята белков рапса, переносили в колбу и добавляли 94.7 см³ дистиллированной воды. Осуществляли нагрев суспензии до температуры, рекомендуемой производителями ФП в термостатируемом шейкере-инкубаторе «C25 Incubator shaker» («New Brunswick Scientific», США) при 250 мин⁻¹. Далее устанавливали необходимый pH (в соответствии с рекомендуемым производителями ФП) с использованием 10% раствора NaOH или 10% раствора H₂SO₄. Вносили ФП в дозировках 0.5, 1.0, 1.5 и 2.0% от массы СВ сырья, длительность процесса варьировали в диапазоне 0.5–4.0 ч. Для инактивации ФП проводили нагрев суспензии до 80 °С в водяной бане «Stegler WB-6» («Stegler», Китай) и выдерживали в течение 20 мин. Так как пептиды содержатся преимущественно в растворимой фракции, далее осуществляли центрифугирование при 4000 мин⁻¹ в течение 20 мин на центрифуге «ELMI CM-6MT» («ELMI», Латвия). Для дальнейшей идентификации пептидов использовали фугат.

Степень гидролиза белков рапса. Степень гидролиза изолята белков рапса определяли как отношение содержания аминного азота (определенного методом формольного титрования в соответствии с ОФС.1.2.3.0022.15*) к содержанию общего азота в навеске, измеренного по ГОСТ 13496.4-2019†.

* ОФС.1.2.3.0022.15 Определение аминного азота методами формольного и йодометрического титрования. М., 2015.

† ГОСТ 13496.4-2019. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина: дата введения 08.01.2020. М.: Стандартинформ, 2019. 20 с.

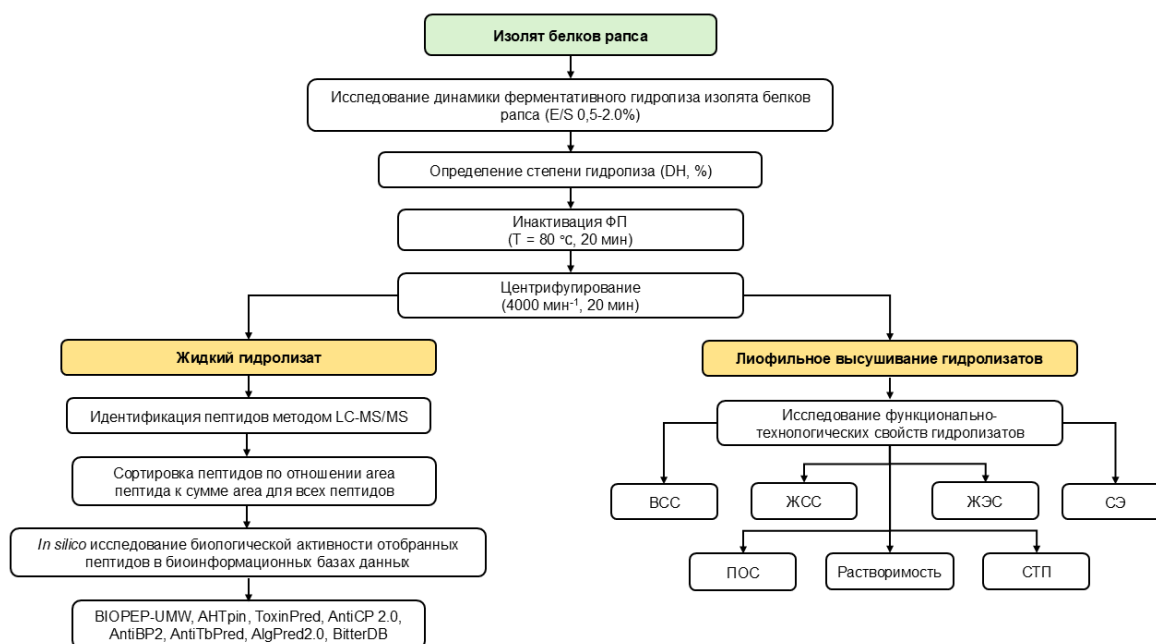


Рис. 1. Схема проведения исследования (ВСС – водосвязывающая способность, ЖСС – жиросвязывающая способность, ЖЭС – жироземмулирующая способность, СЭ – стойкость эмульсии, ПОС – пенообразующая способность, СТП – стойкость пены)

Таблица 1. Перечень ферментных препаратов, используемых для протеолиза изолята белков рапса

№	Коммерческое название ФП	Наименование компании	Страна-производитель	рН действия	Температура действия, °C	Активность по ГОСТ 34430–2018*, ед. ПС/г
1	«Alcalase 2.4L FG»	«Novozymes A/S»	Дания	8.0	45	640±32
2	«Neutrase 0.8L»	«Novozymes A/S»	Дания	7.0	45	612±30
3	«Flavourzyme1000L»	«Novozymes A/S»	Дания	7.0	50	607±30
4	«SQzyme PS»	«Suntaq International Limited»	Китай	3.0	55	111±11
5	«SQzyme PSK»	«Suntaq International Limited»	Китай	9.5	60	215±17
6	«SQzyme PSN»	«Suntaq International Limited»	Китай	7.0	55	232±18
7	«Alkaline protease»	«Sunson Industry Group Co»	Китай	10.0	50	135±15
8	«Acid Protease»	«Sunson Industry Group Co»	Китай	3.5	55	91±5
9	«Neutral protease»	«Sunson Industry Group Co»	Китай	7.0	45	86±4
10	«Протозим»	ТОРГОВЫЙ ДОМ «БИОПРЕПАРАТ»	Россия	9.0	50	213±17
11	«Пепсин»	«HiMedia Laboratories Private Limited»	Индия	3.0	37	395±20
12	«Трипсин»	«HiMedia Laboratories Private Limited»	Индия	7.5	37	242±18

Функционально-технологические свойства. Определение функционально-технологических свойств – растворимость белков, водосвязывающую (ВСС) и жиросвязывающую способности (ЖСС), жироземмулирующую способность (ЖЭС) и стойкость эмульсии (СЭ), пенообразующую способность (ПОС) и стойкость пены (СТП) проводили в соответствии с методикой, описанной в работе [25]. Функционально-технологические свойства (ФТС) были определены в строгом соответствии с общепринятыми протоколами, разработанными для белковых ингредиентов. Интерпретация полученных значений, отражающих растворимость и межфазную активность, позволяет с высокой степенью достоверности прогнозировать интеграцию гидролизатов в сложные пищевые матрицы. В сочетании с выявленной биологической активностью пептидов, это открывает перспективы их использования в пищевой промышленности.

Для определения ВСС и ЖСС готовили водную суспензию изолята белков рапса или гидролизата путем растворения 1 г образца в 10 см³ дистиллированной воды или подсолнечного масла, перемешивания

* ГОСТ 34430-2018. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Метод определения протеолитической активности. Дата введения: 01-07-2019. М.: Стандартинформ, 2018. 15 с.

в течение 1 мин при 1000 мин⁻¹ с последующим центрифугированием при 6000 мин⁻¹ в течение 15 мин. Фугат сливали, для удаления несвязанной воды или масла пробирки переворачивали и устанавливали на фильтровальной бумаге на 10 мин. Далее проводили взвешивание пробирок и рассчитывали водосвязывающую и жиросвязывающую способность по следующей формуле:

$$\text{ВСС и ЖСС, \%} = \frac{X_1 - X_0}{X_2} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где X_1 – масса пробирки с образцом, г; X_0 – масса пустой пробирки, г; X_2 – масса исследуемого образца, взятого на анализ, г.

Для определения жирозэмульгирующих свойств готовили 7% водную суспензию изолята белков рапса или гидролизата, затем гомогенизировали при 4000 мин⁻¹ в течение 1 мин. После гомогенизации к суспензии приливали равный объем подсолнечного масла и проводили эмульгирование при 8000 мин⁻¹ в течение 5 мин. Далее суспензию делили на 4 равные части, разливали в пробирки и проводили центрифугирование при 2000 мин⁻¹ в течение 5 мин. Далее проводили расчет жирозэмульгирующей способности по формуле:

$$\text{ЭС} = \frac{V_3}{V_c} \cdot 100\%, \quad (2)$$

где V_3 – объем эмульгированного слоя, см³; V_c – общий объем эмульсии, см³.

Стойкость эмульсии определяли аналогично определению жирозэмульгирующих свойств. После гомогенизации образца с подсолнечным маслом проводили нагрев при температуре 80 °С в течение 30 мин, далее охлаждали в течение 15 мин водопроводной водой, разливали эмульсию в пробирки и проводили центрифугирование при 2000 мин⁻¹ в течение 5 мин. Стойкость эмульсии определяли по формуле:

$$\text{СЭ} = \frac{V_3}{V_c} \cdot 100\%, \quad (3)$$

где V_3 – объем эмульгированного слоя, см³; V_c – общий объем эмульсии, см³.

Оценку пенообразующей способности проводили путем приготовления 3% водной суспензии изолята белков рапса или гидролизата, встряхивании содержимого цилиндра в горизонтальном положении в течение 1 мин. Далее по цилиндру определяли объем образовавшейся пены и общий объем суспензии. Расчет пенообразующей способности осуществляли по формуле:

$$\text{ПОС} = \frac{V_n}{V_c} \cdot 100\%, \quad (4)$$

где V_n – объем пены после встряхивания, мм; V_c – объем суспензии, мм.

Стойкость пены определяли аналогично, но спустя 30 мин по окончании встряхивания суспензии. Расчет осуществляли по формуле:

$$\text{СТП} = \frac{V_n}{V_c} \cdot 100\%, \quad (5)$$

где V_n – объем пены после встряхивания, мм; V_c – объем суспензии, мм.

Предварительное обессоливание пептидов. Для идентификации пептидов в полученных гидролизатах осуществляли предварительное обессоливание исследуемых образцов на микроколонке SDB-RPS StageTip, состоящую из наконечника для автоматического дозатора объемом 200 мкл и 3 частей SDB-RPS (3М, США), вырезанных иглой калибром 16. Гидролизаты белка центрифугировали при 300 g, промывали 50 мкл 0.2% ТФУ и элюировали 60 мкл раствора, содержащего 40% ацетонитрила в 0.1% ТФУ в воде. Элюат высушивали и хранили при температуре -80±1 °С. Для дальнейших исследований высушенный элюат растворяли в 40 мкл раствора, содержащего 0.1% ТФУ и 2% ацетонитрила в воде.

Идентификация пептидов. Обессоленные образцы объемом 2 мкл загружали на предколонку 50 × 0.1 мм с сорбентом Reprosil-Pur 200 C18-AQ 5 µm (Dr. Maisch Matrix, Германия), в растворе, состоящем из 98% H₂O, 2% ацетонитрила, и 0.1% ТФУ, при скорости потока 4.2 мкл/мин и разделяли при комнатной температуре на колонке из плавленого кварца 300 × 0.1 мм с эмиттером, изготовленной на приборе P2000 Laser Puller (Sutter, США) и упакованной сорбентом Reprosil PUR C18AQ 1.9 (Dr. Maisch, Германия). Обращено-фазную хроматографию проводили с использованием «Ultimate 3000 Nano LC System (Thermo Fisher Scientific, США), соединенным с масс-спектрометром Orbitrap Lumos Tribrid mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, США). Хроматографическое разделение пептидов проводили с использованием системы растворителей А (99.9% воды, 0.1% муравьиной кислоты) и Б (19.9% воды, 0.1% муравьиной кислоты, 80% ацетонитрила). Пептиды элюировали с колонки линейным градиентом: 3–4% Б за 5 мин, 4–40% Б – за 53 мин, 40–60% Б за 7 мин 60–99% Б за 0.1 мин, 99% Б 6 мин, 99–3% Б за 0.1 мин при скорости потока 500 нл/мин. Масс-спектрометрический анализ проводили со следующими настройками: MS1 сканирование: разрешение 60000, диапазон сканирования: 350–1600 m/z, максимальное время инъекции ионов – auto, уровень AGC – standard, MS2 сканирование: разрешение 15000, HCD фрагментация с энергией 30%, максимальное время инъекции ионов – 80 мсек, уровень AGC – standard. Для идентификации пептидов в исследовании был использован высокоэффективный метод мягкой ионизации – электрораспылением (ESI). Этот подход принципиально важен, поскольку он позволяет перевести пептиды в газовую фазу с полным сохранением их нативной аминокислотной последовательности, исключая любое разрушение на стадии ионизации. Последующая фрагментация, необходимая для детального определения аминокислотной последовательности, проводится контролируемо на этапе MS/MS методом высокоэнергетической столкновительной диссоциации (HCD).

Обработка данных масс-спектров. Обработку данных масс-спектрометрии проводили с использованием программного обеспечения Peaks studio 11.0 (Bioinformatics Solutions Inc., Канада). Идентификацию пептидов проводили посредством сравнения полученных масс-спектров с базой данных белковых последовательностей *Brassica napus* в UniprotKB (2024.10.25) по следующими критериям: постоянная модификация Cys – карбамидометилирование, переменные модификации – деамидирование Asn/Gln, окисление Met и ацетилирование N-концевой аминокислотной группы, уровень ложноположительных идентификаций составлял 0.01. При идентификации пептидов допускалось отклонение экспериментально полученной массы от его теоретической до 10 м.д., а отклонение массы фрагментов – до 0.05 Да.

Прогнозирование потенциальной биологической активности пептидов. Прогнозирование потенциальной биологической активности полученных пептидов проводили с использованием инструментов БД «BIOPEP-UMW» (<https://biochemia.uwm.edu.pl/en/biopep-uwm-2/>), АНТpin (<http://crdd.osdd.net/raghava/ahtpin/>), позволяющей прогнозировать пептиды с антигипертензивной активностью, ToxinPred (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/>), прогнозирующей токсичные пептиды, AntiCP 2.0 (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/anticp2/>), предсказывающей пептиды с противоопухолевой активностью, AntiBP2 (<http://crdd.osdd.net/raghava/antibp2/index.html>) для определения антибактериальных пептидов и AntiTbPred (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/antitbpred/>) для идентификации противотуберкулезных пептидов. Прогнозирование потенциальных аллергенных пептидов выполняли в БД «AlgPred2.0» с использованием инструмента «Motif scan». Оценка потенциальной горечи пептидов была проведена в «Python» с использованием БД «BitterDB» и модели машинного обучения «Scikit-learn» методом «Random Forest».

Результаты и обсуждение

Для проведения ферментативного гидролиза изолята белков рапса были использованы ферментные препараты отечественного и зарубежного производства. Несмотря на то, что поставки в Россию продукции компании «Novozymes A/S» затруднены, были проведены исследования с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», «Neutrase 0.8 L» и «Flavourzyme 1000 L», что обусловлено высокой эффективностью их действия, а также дальнейшим изучением качественного состава полученных гидролизатов на предмет наличия пептидов с уникальными биологическими активностями. В качестве потенциальной замены продукции «Novozymes A/S» в работе использовали ФП отечественного производства «Протозим», предназначенный для использования в пищевой промышленности, а также ФП, произведенные в Китае, компаний «Sunson Industry Group Co» и «Suntaq International Limited». Выбор ФП «Трипсин» и «Пепсин» обусловлен тем, что данные ферменты принимают участие в пищеварении, что позволяет косвенно оценить эффективность гидролиза изолята белков рапса *in vivo*, идентифицировать пептидный профиль,

спрогнозировать потенциальную биологическую активность и провести сравнение результатов при использовании других коммерческих ФП.

На рисунке 2 представлены кинетические кривые процесса ферментативного гидролиза изолята белков рапса с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», «Neutrase 0.8 L», «Flavourzyme 1000 L», «SQzyme PS», «SQzyme PSK» и «SQzyme PSN». Различия в степени гидролиза (DH, %) при равной массовой дозировке ферментного препарата (ФП) являются прямым и релевантным показателем его активности в целевой матрице. В отличие от этого, данные по активности, полученные согласно ГОСТ 34430-2018 с использованием бычьего гемоглобина, имеют ограниченную применимость и не позволяют напрямую прогнозировать гидролиз растительных белков.

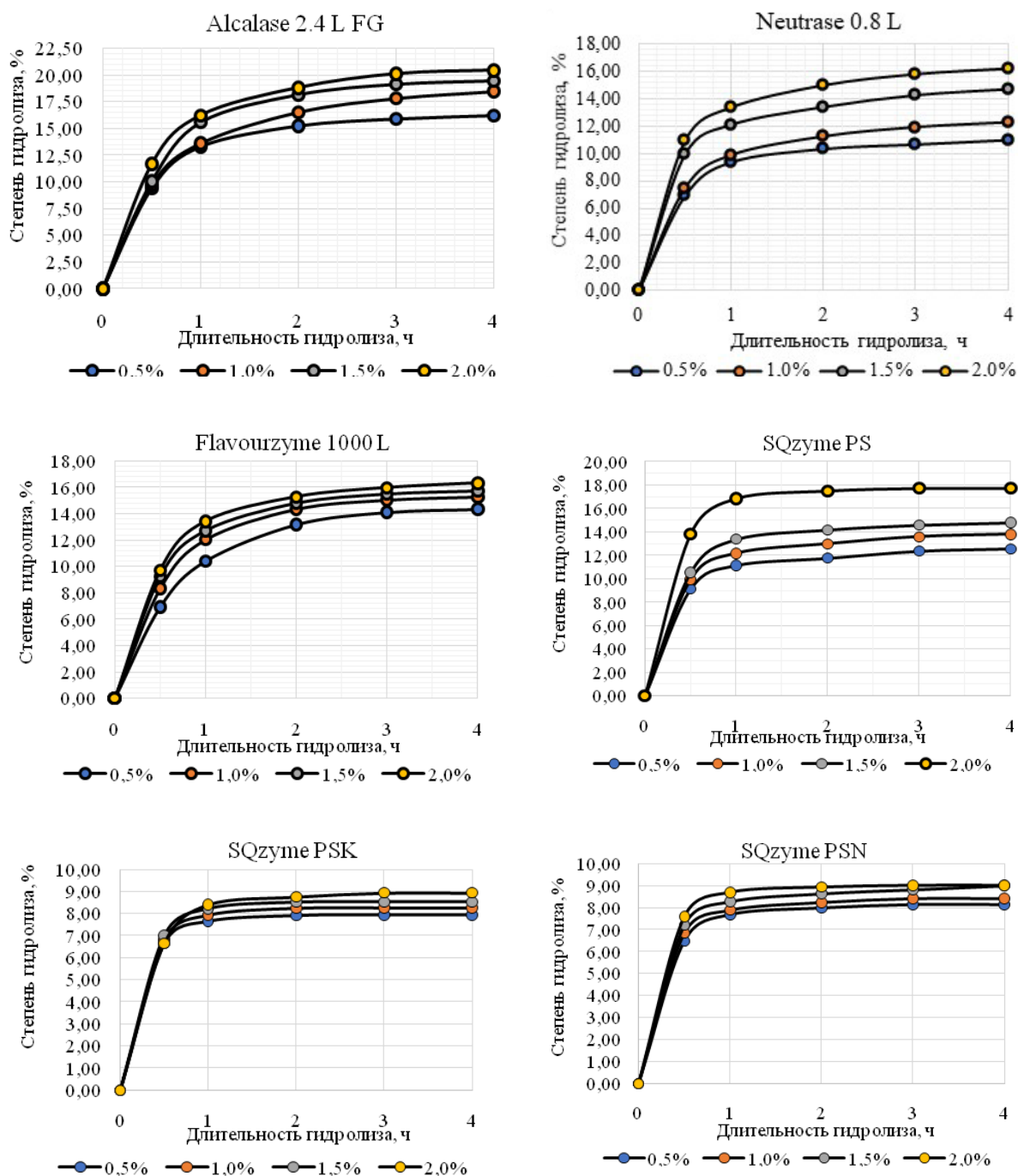


Рис. 2. Кинетические кривые процесса гидролиза изолята белков рапса с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», «Neutrase 0.8 L», «Flavourzyme 1000 L», «SQzyme PS», «SQzyme PSK», «SQzyme PSN»

При использовании ФП «Neutrase 0.8 L» и «Flavourzyme 1000 L» была отмечена практически идентичная динамика протеолиза белков рапса – максимальная степень гидролиза при дозировке ФП спустя 4 ч гидролиза составляла 16.20 ± 0.81 и $16.32 \pm 0.81\%$ соответственно. Аналогичная зависимость была отмечена для ФП «SQzyme PSK» и «SQzyme PSN» с использованием которых максимальная степень гидролиза при дозировке ФП 2.0% на 4 ч процесса составила 8.93 ± 0.44 и $9.01 \pm 0.45\%$. Среди исследуемых ФП наибольшей эффективностью обладали «Alcalase 2.4 L FG» и «SQzyme PS».

На рисунке 3 представлены кинетические кривые процесса ферментативного гидролиза изолята белков рапса с использованием ФП «Sunson neutral», «Sunson acid», «Sunson alkali», «Протозим», «Пепсин», «Трипсин».

При использовании пищеварительного фермента «Пепсин» за 4 ч протеолиза степень гидролиза составляет 10.26 ± 0.51 , 11.61 ± 0.58 , 12.69 ± 0.63 и $13.77 \pm 0.68\%$ при дозировке ФП 0.5, 1.0, 1.5 и 2.0% соответственно. С использованием ФП «Трипсин» на 4 ч протеолиза белков рапса степень гидролиза при дозировке ФП 0.5 и 1.0% практически идентична как в случае использования ФП «Пепсин», а при дозировке ФП 1.5 и 2.0% степень гидролиза составляет 14.42 ± 0.72 и $15.32 \pm 0.76\%$. Из исследуемого перечня ФП наибольшей эффективностью протеолиза белков рапса обладал «Sunson neutral». ФП «Sunson acid», «Sunson alkali» и «Протозим» продемонстрировали сравнительно идентичные значения степени гидролиза, за исключением ФП «Sunson alkali» при дозировке 2.0%, с использованием которого степень гидролиза на 4 ч процесса составила $11.75 \pm 0.58\%$.

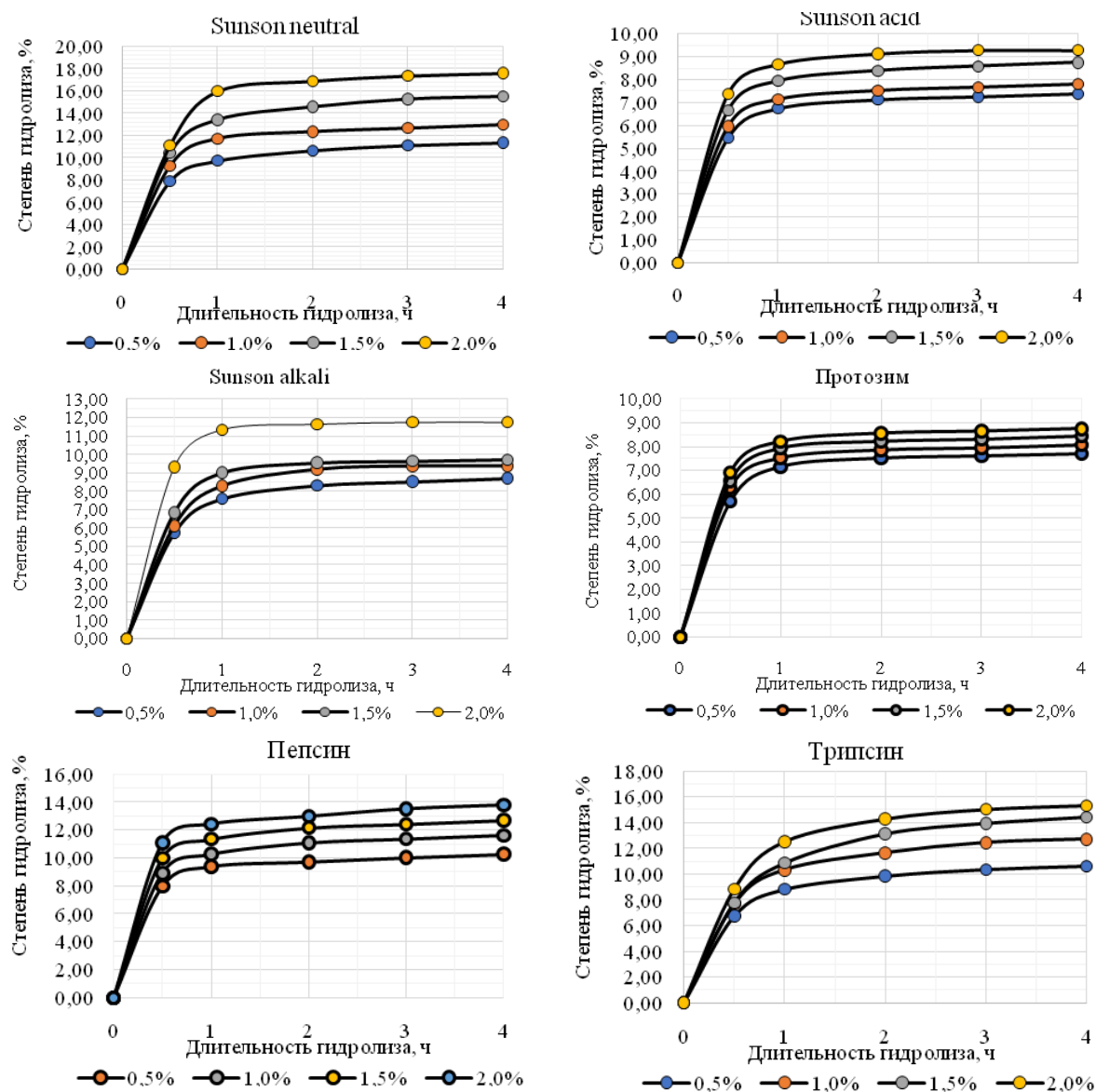


Рис. 3. Кинетические кривые процесса гидролиза изолята белков рапса с использованием ФП «Sunson neutral», «Sunson acid», «Sunson alkali», «Протозим», «Пепсин», «Трипсин»

На основе полученных данных можно сделать вывод, что в течение 1 ч наиболее интенсивно осуществляется протеолиз белков рапса, после чего прирост формольного числа снижается. Из представленного перечня ФП были отобраны наиболее эффективные ФП – «Alcalase 2.4 L FG», «SQzyme PS» и «Sunson neutral», с использованием которых на 4 ч гидролиза степень гидролиза составляет 20.42 ± 1.02 , 17.72 ± 0.92 и $17.59 \pm 0.98\%$.

Дальнейшее применение гидролизата белков рапса в пищевой промышленности требует исчерпывающей оценки его функционально-технологических свойств (ФТС). Поскольку объектом данного исследования выступают не индивидуальные пептиды, а комплексные белковые гидролизаты, предназначенные для введения в пищевые системы, нами была проведена детальная характеристика их ключевых ФТС, таких как растворимость, водо- и жиросвязывающая способности (ВСС/ЖСС), жироземульгирующая и пенообразующая способности. Это позволяет достоверно прогнозировать их поведение в реальных пищевых матрицах. Известно, что степень гидролиза более 10% приводит к снижению молекулярной массы белков, что также способствует ухудшению функционально-технологических свойств [26]. Все исследуемые ФП были использованы для получения гидролизатов белков рапса со степенью гидролиза $\approx 10\%$. Гидролизаты высушивали в лиофильной сушильной установке «ProfLyо T50.6» (ООО «Профлаб», Россия) при давлении в камере 50 Па и определяли их функционально-технологические свойства (табл. 2).

Таблица 2. Функционально-технологические свойства полученных гидролизатов белков рапса

Наименование образца гидролизата	ВСС, г/г образца	ЖСС, г/г образца	ЖЭС, %	СЭ, %	ПОС, %	СТП, %	Растворимость, %
Изолят белков рапса	3.10	1.55	64	89	45	20	26
«Alcalase 2.4 L FG»	3.41	2.93	69	95	65	18	40
«Neutrase 0.8 L»	3.28	2.74	71	93	79	14	28
«Flavourzyme 1000 L»	2.62	2.54	65	94	76	12	31
«SQzyme PS»	3.78	3.01	68	98	58	17	38
«SQzyme PSK»	2.52	2.65	77	86	47	9	27
«SQzyme PSN»	2.74	2.71	65	90	74	14	35
«Sunson neutral»	3.52	2.87	70	96	76	10	34
«Sunson acid»	2.38	2.56	66	88	54	12	29
«Sunson alkali»	2.65	2.29	72	93	61	10	26
«Протозим»	3.21	2.68	71	91	47	9	35
«Пепсин»	3.24	2.76	68	94	50	14	24
«Трипсин»	3.36	2.84	76	90	61	18	20

В сравнении с контролем (изолят белков рапса) наиболее существенно удалось повысить ФТС в образцах гидролизатов, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», «SQzyme PS» и «Sunson neutral». В среднем увеличение ВСС составило 10% для образца, полученного с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», 21% для образца с ФП «SQzyme PS» и 13% с ФП «Sunson neutral». ЖСС была увеличена в среднем на 89%, на 7% в среднем увеличились значения ЖЭС и на 8% СЭ. Увеличение показателя ПОС в среднем составляло 47% для трех образцов гидролизатов белка, при этом было отмечено снижение на 10% показателя СТП для образца гидролизата белков, полученного с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», на 15% для образца с ФП «SQzyme PS» и на 50% для образца с ФП «Sunson neutral». Наибольшей растворимостью обладал образец с ФП «Alcalase 2.4 L FG» – 40%.

Известно, что растительные белки имеют низкую растворимость [27]. В исследовании Zhang et al., 2024 сообщалось, что изолят белков рапса, полученный методом изoeлектрического осаждения имел растворимость $< 26.4\%$, значение ВСС составляло 3.0–3.2 г воды/г белка (300–320%), а ЖСС – 1.5 г масла/ г белка (150%) [28]. Рапс остается недостаточно изученным объектом в контексте функционально-технологических свойств его гидролизатов. В отличие от достаточно охарактеризованных источников, таких как соя и горох, публикации по гидролизатам белков рапса, содержащие данные об их водосвязывающей, жиросвязывающей способностей, растворимости и т.д., встречаются достаточно редко. В этой связи в работе были использованы результаты фундаментальных исследований авторов [29, 30], в которых представлена информация о влиянии степени гидролиза белков рапса на ФТС. Выбор данных источников обусловлен не только их научной значимостью, но и отсутствием современных альтернатив, в которых рассматривались ключевые показатели ФТС гидролизатов белков рапса. Так, в исследовании [29] значения ВСС гидролизатов белков раса, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4L», составляло 5.14–5.85 г воды/г белка, значение ЖСС составляло 1.30–1.55 г масла/г

белка, ЖЭС и ПОС увеличивались, а СТП уменьшалось по мере увеличения степени гидролиза. В работе [30] было отмечено, что растворимость белков увеличивалась по мере увеличения степени гидролиза, ЖЭС и ПОС также увеличивались, а СТП снижалась пропорционально увеличению степени гидролиза, что согласуется с данными, полученными в настоящем исследовании.

По совокупности ФТС для дальнейших исследований были выбраны ФП «Alcalase 2.4 L FG», «SQzyme PS» и «Sunson neutral». На следующем этапе проводили идентификацию пептидов в полученных гидролизатах с использованием метода хромато-масс-спектрометрии с предварительным обессоливанием образцов.

Наработку гидролизатов с выбранными ФП осуществляли согласно условиям, представленным в таблице 3.

В электронном приложении представлены результаты масс-спектрометрии образцов гидролизатов белков рапса, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», «SQzyme PS» и «Sunson neutral». Анализ хроматограмм показал, что средняя ширина отдельных пиков не превышала 10 секунд, что является показателем высокой эффективности хроматографического разделения. Используемая конфигурация оборудования и градиентная программа обеспечивают возможность идентификации более 60 тыс. уникальных пептидов при работе со сложными белковыми гидролизатами. Этот факт является убедительным доказательством адекватности и репрезентативности примененной методологии для глубокого протеомного анализа.

Спектры располагаются по всей длине оси времени, что указывает на большое разнообразие химических и физических свойств пептидов. Эффект «сливания» пиков обусловлен близким расположением и большим количеством пептидов, в результате чего наблюдается высокая плотность сигналов от множества пептидов, элюирующихся в близкие интервалы времени. Ионизация проводилась методом мягкого электро-распыления (ESI), при котором пептиды переходят в газовую фазу без разрушения цепи. Фрагментация происходила только на стадии MS (режим HCD) и использовалась исключительно для определения аминокислотной последовательности

Для гидролизатов белков рапса, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG» суммарно было определено 6667 пептидов, 7678 для образцов с ФП «SQzyme PS» и 9034 с ФП «Sunson neutral». Полученные пептиды были отсортированы в программном пакете Ms Excel 2018 по убыванию на основе критерия «area» (площадь под пиком), величина которого косвенно свидетельствует о концентрации пептида. Затем для каждого пептида было определено процентное отношение значения площади под пиком к сумме значений площади под пиком для всех пептидов. Далее были определены мажорные пептиды на основании условного порога, для которых доля по отношению площади под пиком составляет более 1%. Результаты представлены на рисунке 4.

Таким образом, для гидролизатов белка рапса, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG» определено суммарно 18 мажорных пептида, наибольшая доля при этом приходится на пептиды №1–4 (отношение площади под пиком пептидов более 3%). Для образцов с ФП «SQzyme PS» количество мажорных пептидов составило 23, а наибольшая концентрация определена для пептидов №1–3. Для гидролизатов, полученных с использованием с ФП «Sunson neutral» количество мажорных пептидов составило 13, а наибольшая концентрация определена для пептидов №1–6.

Определение потенциальных биологических активностей исследуемых пептидов может быть проведено с использованием биоинформатических баз данных (БД). Так, в БД BIOPEP-UMW (<https://biochemia.uwm.edu.pl/en/biopep-uwm-2/>) и PeptideCutter (https://web.expasy.org/peptide_cutter/) имеется возможность проводить процесс теоретического протеолиза белков. В БД BIOPEP-UMW, аминокислотные последовательности могут быть изучены на предмет биологических активностей путем сопоставления с уже известными аминокислотными последовательностями, для которых биологическая активность была подтверждена в ходе эмпирических исследований [31]. ANTPin (<http://crdd.osdd.net/raghava/ahtpin/>) позволяет прогнозировать пептиды с антигипертензивной активностью [32], ToxinPred (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/>) прогнозирует токсичные пептиды [33], AntiCP 2.0 (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/anticp2/>) – пептиды с противоопухолевой активностью [22], AntiBP2 (<http://crdd.osdd.net/raghava/antibp2/index.html>) – антибактериальные пептиды [19], AntiTbPred (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/antitbpred/>) – для идентификации противотуберкулезных пептидов [34].

Аминокислотные последовательности гидролизатов белков рапса с наибольшими концентрациями были исследованы на предмет биологических активностей с использованием инструментов ранее перечисленных биоинформатических БД (табл. 4).

Таблица 3. Условия наработки белковых гидролизатов рапса

Наименование ФП	Дозировка, % от массы сырья	pH	Температура, °C	Длительность, мин
«Alcalase 2.4 L FG»	0.5	8.0	45	30
«SQzyme PS»	1.5	3.0	55	30
«Sunson neutral»	1.5	7.0	45	30

Таблица 4. Результаты прогнозирования теоретических биологических активностей

№ п/п	Аминокислотная последовательность пептида	m/z	Белок-предшественник	Активность*
ФП «Alcalase 2.4 L FG»				
1	SVIRPPLRSQRPQ	511.97	11S globulin, Cruciferin, Cruciferin BnC1	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, DPP IV inhibitor, Antioxidative
2	RVKGFQVVRPPLRQPYE	434.05	11S globulin, Cruciferin CRU1	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, DPP IV inhibitor
3	SVIRPPLRSQRPQEE	597.99	11S globulin, Cruciferin	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, Antioxidative, DPP IV inhibitor, neuropeptide
4	VYKPNLGRVT	1146.66	11S globulin, Cruciferin CRU1	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, Antioxidative, DPP IV inhibitor
ФП «Sqzyme PS»				
1	VIRPPLRSQRPQ	482.95	11S globulin, Cruciferin, Cruciferin BnC1	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, neuropeptide, Antioxidative, DPP IV inhibitor, Alpha-glucosidase inhibitor
2	VIRPPLRSQRPQEE	852.97	11S globulin, Cruciferin	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, neuropeptide, Antioxidative, DPP IV inhibitor, Alpha-glucosidase inhibitor
3	VIRPPLRQGQGGQQPQ	879.98	11S globulin, Cruciferin CRU4	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, Alpha-glucosidase inhibitor, Antioxidative, DPP IV inhibitor, neuropeptide
ФП «Sunson neutral»				
1	VQGPFSVIRPPL	655.38	11S globulin, Cruciferin, Cruciferin BnC1	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, Antioxidative, DPP IV inhibitor, neuropeptide
2	VKGFQVVR	343.87	11S globulin, Cruciferin CRU1,	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, Non-AHT, ACE inhibitor, Antithrombotic, DPP IV inhibitor
3	VQGPFSVIR	1002.57	11S globulin, Cruciferin, Cruciferin BnC1	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, Non-AHT, ACE inhibitor, Antioxidative, Antithrombotic, DPP IV inhibitor
4	DQYPILGRDR	616.82	Oleosin, Oleosin S3-1	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, Alpha-glucosidase inhibitor, Antioxidative, DPP IV inhibitor, neuropeptide
5	DQYPLLGRDR	616.82	BnaC08g11970D protein	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, Alpha-glucosidase inhibitor, DPP IV inhibitor, Antioxidative
6	VYKPNLGRVT	1146.66	11S globulin, Cruciferin CRU1,	Non-Toxin, Anticp, Non AntiBP, AHT, ACE inhibitor, Antioxidative, DPP IV inhibitor

*AntiCP – противоопухолевая активность, AntiBP – антибактериальная активность, AHT – антигипертензивные свойства, ACE inhibitor – ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), DPP IV inhibitor – ингибитор дипептидилпептидазы-4, Antioxidative – антиоксидантная активность, Antithrombotic – антитромботические свойства, alpha-glucosidase inhibitor – ингибитор альфа-глюкозидазы, Antithrombotic – антитромботические свойства.

Все представленные пептиды не являются токсичными. Для образца гидролизата белков рапса, полученного с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», было определено 4 пептида с противоопухолевой и антигипертензивной активностью, 3 пептида с антиоксидантной активностью, 4 пептида-ингибитора АПФ и с гипогликемической активностью. В образце гидролизата белков рапса, полученного с использованием ФП «Sqzyme PS», были предсказаны 3 пептида с противоопухолевой, антигипертензивной, антиоксидантной и гипогликемической активностями, 3 пептида-ингибитора АПФ и ингибитора α -глюкозидазы. Образец гидролизата белков рапса, полученный с использованием ФП «Sunson neutral», содержал 6 пептидов с наибольшими концентрациями, из которых для 6 пептидов характерны противоопухолевая и гипогликемическая

активности, для 5 пептидов антиоксидантная активность, для 4 пептидов антигипертензивная, для 2 пептидов антитромботическая активности, 6 ингибиторов АПФ, и 2 ингибитора α -глюкозидазы.

Ранее в научной литературе были описаны пептиды, идентифицированные в гидролизатах белков рапса. В работе [35] были получены пептиды LY, RALP и GHS, которые проявляют ингибирующую активность ангиотензин-превращающего фермента, что при преоральном введении вызывало снижение давления у крыс линии SHR (спонтанно-гипертензивные крысы). Исследование [36] подтвердило способность пептидов IPQVS и ELHQEEPL ингибировать фермент DPP-IV в ходе молекулярного докинга, которые были получены при гидролизе белка напина ФП «Alcalase 2.4 L FG» и «Трипсин». Для пептида рапса ASH, полученного с использованием ФП «Пепсин» и «Панкреатин» из круциферина, была продемонстрирована 50% цинк-хелатирующая способность в концентрации пептида 114.09 ± 0.98 мМ [37]. Пептиды FQW, FRW и CPF были определены *in silico* как потенциальные ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента [10].

Выбранные аминокислотные последовательности были исследованы на предмет аллергенности с использованием инструмента «Motif scan» в БД «AlgPred2.0» (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/algpred2>). В гидролизатах белков рапса, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», «Sqzyme PS» и «Sunson neutral» не было обнаружено потенциальных аллергенных пептидов.

Также провели расчет потенциальной горечи исследуемых пептидов с использованием БД «BitterDB». Для определения потенциальной горечи использовали библиотеку «Biopython», позволяющей проводить обработку FASTA-файлов, обработка табличных данных выполнялась с использованием «Pandas», а модель машинного обучения была построена с использованием «Scikit-learn». В «Python» была обучена модель на основе БД «BitterDB», содержащей информацию о горьких пептидах, в результате чего были извлечены аминокислотные мотивы, характерные для горьких пептидов. Горькими пептидами считались те аминокислотные последовательности, для которых расчетное значение горечи (Threshold) составляло ≥ 0.7 . Результаты предсказания потенциальной горечи пептидов представлены в таблице 5.

Таблица 5. Прогнозирование потенциально горьких пептидов с использованием модели машинного обучения в «Python» на основе БД горьких пептидов «BitterDB»

№	Аминокислотная последовательность пептида	Уровень горечи (Threshold)	Характеристика
ФП «Alcalase 2.4 L FG»			
1	SVIRPPLRSQRPQ	0.65	Негорький
2	RVKGPQVVRPPLRQPYE	0.73	Горький
3	SVIRPPLRSQRPQEE	0.63	Негорький
4	VYKPNLGRVT	0.73	Горький
ФП «Sqzyme PS»			
1	VIRPPLRSQRPQ	0.74	Горький
2	VIRPPLRSQRPQEE	0.71	Горький
3	VIRPPLRQGQGGQQPQ	0.79	Горький
ФП «Sunson neutral»			
1	VQGPFSVIRPPL	0.86	Горький
2	VKGPQVVR	0.77	Горький
3	VQGPFSVIR	0.80	Горький
4	DQYPILGRDR	0.63	Негорький
5	DQYPLLGRDR	0.41	Негорький
6	VYKPNLGRVT	0.73	Горький

Для гидролизатов белков рапса, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», было определено 2 потенциальных горьких пептида из 4 – RVKGPQVVRPPLRQPYE и VYKPNLGRVT. В гидролизате, полученном с использованием ФП «Sqzyme PS», 3 из 3 пептидов были определены как горькие – VIRPPLRSQRPQ, VIRPPLRSQRPQEE и VIRPPLRQGQGGQQPQ. При использовании ФП «Sunson neutral» было спрогнозировано 4 горьких пептида из 6 – VQGPFSVIRPPL, VKGPQVVR, VQGPFSVIR и VYKPNLGRVT. При этом прогнозирование *in silico* не всегда коррелирует с экспериментальными данными. Подтверждение расчетной биологической активности, потенциальной аллергенности, токсичности и горечи необходимо осуществить в ходе экспериментов *in vivo* и *in vitro*.

Полученные гидролизаты белков рапса обладают комплексом улучшенных функционально-технологических свойств, включая лучшую растворимость, водо- и жиросвязывающую способности, что позволяет рассматривать их как перспективные ингредиенты для использования в различных отраслях пищевой

промышленности. С точки зрения биологической активности пептиды, входящие в состав гидролизатов белков рапса, были охарактеризованы как АПФ-, альфаглюкозидаза и DPP IV-ингибирующие, антиоксидантные, нетоксичные, антитромботические, онкостатические, антигипертензивные и нейропептиды. Это открывает возможность применения гидролизатов не только рецептурных компонентов пищевых продуктов, но и в качестве ингредиентов функциональных продуктов питания и нутрицевтиков, направленных на профилактику и укрепление здоровья человека. Таким образом, белковые гидролизаты рапса могут рассматриваться как многофункциональные компоненты, объединяющие в себе как технологические, так и физиологические свойства, востребованные в производстве продуктов питания с заданными потребительскими характеристиками.

Заключение

В рамках работы был исследован процесс ферментативного гидролиза с использованием коммерческих ферментных препаратов протеолитического действия. Наименьшая степень гидролиза достигается при использовании ФП «Sunson acid» – 7.39%, а наибольшая – 20.42% при использовании ФП «Alcalase 2.4 L FG». Наиболее интенсивно протеолиз осуществляется в течение 1-го ч. С использованием всех ФП были наработаны гидролизаты белков рапса при степени гидролиза белков $\approx 10\%$. В сравнении с исходным изолятом белков рапса значение ВСС было увеличено на 10% для образца с ФП «Alcalase 2.4 L FG», на 21% для образца с ФП «Sqzyme PS» и на 13% для образца с «Sunson neutral». Значение ЖСС для данных образцов было увеличено в среднем на 89%, увеличение ЖЭС составило в среднем 7%, а СЭ – 8%. Увеличение ПОС было в среднем на 47%, при этом снизилось значение СТП – на 10% для образца, полученного с ФП «Alcalase 2.4 L FG», на 15% для образца с ФП «Sqzyme PS» и на 50% для образца с ФП «Sunson acid».

Была проведена идентификация пептидов в гидролизатах белков рапса, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», «Sqzyme PS» и «Sunson neutral» методом LC-MS/MS. Всего для образца гидролизата белков рапса, полученного с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», было идентифицировано 6667 пептидов, в образце, полученном с использованием ФП «Sqzyme PS», определено 7678 пептидов, а для образца гидролизата белков рапса, полученного с использованием ФП «Sunson acid», идентифицировано 9034 пептида. На основе отношения площади под пиком для каждого пептида к сумме площадей под пиком для всех пептидов было отобрано 4 мажорных пептида для гидролизатов, полученных с ФП «Alcalase 2.4 L FG», 3 мажорных пептида для образца с ФП «Sqzyme PS» и 6 мажорных пептидов для образцов с ФП «Sunson neutral».

В результате прогнозирования потенциальной биологической активности пептидов *in silico* в полученных гидролизатах было определено 13 пептидов-ингибиторов АПФ, с противоопухолевой и гипогликемической и активностями, 11 пептидов, обладающих потенциальной антиоксидантной и антигипертензивной активностями, 2 пептида с антитромботическими свойствами и 5 ингибиторов α -глюкозидазы. Потенциально аллергенных пептидов не обнаружено, а для гидролизатов, полученных с использованием ФП «Alcalase 2.4 L FG», было определено 2 потенциальных горьких пептида из 4, с использованием ФП «Sqzyme PS» 3 из 3 пептидов были определены как горькие, при использовании ФП «Sunson neutral» было спрогнозировано 4 горьких пептида из 6.

В дальнейших исследованиях целесообразно провести химический синтез отобранных пептидов и осуществить подтверждение их биологической активности в ходе эмпирических исследований. Синтез отдельных пептидов исключает посторонние примеси и вариативность с точки зрения качественного состава пептидов в гидролизатах, а также обеспечивает их чистоту и стабильность целевой биологической активности.

Дополнительная информация

В электронном приложении к статье (DOI: <https://www.doi.org/10.14258/jcprm.20260317640s>) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 25-16-00178). Соглашение № 25-16-00178 подписано 29.05.2025.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы предоставите соответствующие ссылки на автора(ов), источник и Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Chakrabarti S., Guha S., Majumder K. Food-derived bioactive peptides in human health: Challenges and opportunities // *Nutrients*. 2018. Vol. 10, no. 11. 1738. <https://doi.org/10.3390/nu10111738>.
2. Görgüç A., Gençdağ E., Yılmaz F.M. Bioactive peptides derived from plant origin by-products: Biological activities and techno-functional utilizations in food developments – A review // *Food Research International*. 2020. Vol. 136. 109504. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109504>.
3. Bechaux J., Gatellier P., Le Page J.F., Drillet Y., Sante-Lhoutellier V. A comprehensive review of bioactive peptides obtained from animal byproducts and their applications // *Food & Function*. 2019. Vol. 10, no. 10. Pp. 6244–6266. <https://doi.org/10.1039/C9FO01546A>.
4. Mahgoub S., Alagawany M., Nader M. et al. Recent development in bioactive peptides from plant and animal products and their impact on the human health // *Food Reviews International*. 2023. Vol. 39, no. 1. Pp. 511–536. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1923027>.
5. Shazly A.B., He Z., Abd El-Aziz M., Zeng M., Zhang S., Qin F., Chen J. Fractionation and identification of novel antioxidant peptides from buffalo and bovine casein hydrolysates // *Food Chemistry*. 2017. Vol. 232. Pp. 753–762. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.071>.
6. Mohanty D.P., Tripathy P., Mohapatra S., Samantaray D.P. Bioactive potential assessment of antibacterial peptide produced by *Lactobacillus* isolated from milk and milk products // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2014. Vol. 3. Pp. 72–80.
7. Haque E., Chand R. Antihypertensive and antimicrobial bioactive peptides from milk proteins // *European Food Research and Technology*. 2008. Vol. 227. Pp. 7–15. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0689-6>.
8. Bielecka M., Cichosz G., Cieczot H. Antioxidant, antimicrobial and anticarcinogenic activities of bovine milk proteins and their hydrolysates – a review // *International Dairy Journal*. 2022. Vol. 127. 105208. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105208>.
9. Chalamaiah M., Ulug S.K., Hong H., Wu J. Regulatory requirements of bioactive peptides (protein hydrolysates) from food proteins // *Journal of Functional Foods*. 2019. Vol. 58. Pp. 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.050>.
10. Duan X., Dong Y., Zhang M., Li Z., Bu G., Chen F. Identification and molecular interactions of novel ACE inhibitory peptides from rapeseed protein // *Food Chemistry*. 2023. Vol. 422. 136085. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136085>.
11. You H., Zhang Y., Wu T., Li J., Wang L., Yu Z., Ding L. Identification of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides from rapeseed proteins // *LWT – Food Science and Technology*. 2022. Vol. 160. 113255. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113255>.
12. He R., Ju X., Yuan J., Wang L., Girgih A.T., Aluko R.E. Antioxidant activities of rapeseed peptides produced by solid state fermentation // *Food Research International*. 2012. Vol. 49, no. 1. Pp. 432–438. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.023>.
13. Ospina-Quiroga J.L., García-Moreno P.J., Guadix A., Guadix E.M., Almécija-Rodríguez M.D.C., Pérez-Gálvez R. Evaluation of plant protein hydrolysates as natural antioxidants in fish oil-in-water emulsions // *Antioxidants*. 2022. Vol. 11, no. 8. 1612. <https://doi.org/10.3390/antiox11081612>.
14. Hou J., Li Y.Q., Wang Z.S., Sun G.J., Mo H.Z. Applicative effect of glycinin basic polypeptide in fresh wet noodles and antifungal characteristics // *LWT – Food Science and Technology*. 2017. Vol. 83. Pp. 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.028>.
15. Garbacz K., Wawrzykowski J., Czelej M., Czernecki T., Waśko A. Recent trends in the application of oilseed-derived protein hydrolysates as functional foods // *Foods*. 2023. Vol. 12, no. 20. 3861. <https://doi.org/10.3390/foods12203861>.
16. Rauh M. LC-MS/MS for protein and peptide quantification in clinical chemistry // *Journal of Chromatography B*. 2012. Vol. 883. Pp. 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.09.030>.
17. Tu M., Cheng S., Lu W., Du M. Advancement and prospects of bioinformatics analysis for studying bioactive peptides from food-derived protein: Sequence, structure, and functions // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2018. Vol. 105. Pp. 7–17. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.04.005>.
18. Carrasco-Castilla J., Hernández-Álvarez A.J., Jiménez-Martínez C., Gutiérrez-López G.F., Dávila-Ortiz G. Use of proteomics and peptidomics methods in food bioactive peptide science and engineering // *Food Engineering Reviews*. 2012. Vol. 4. Pp. 224–243. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9058-8>.
19. Lata S., Mishra N.K., Raghava G.P. AntiBP2: Improved version of antibacterial peptide prediction // *BMC Bioinformatics*. 2010. Vol. 11. Pp. 1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-S1-S19>.

20. Rauf A., Kiran A., Hassan M.T., Mahmood S., Mustafa G., Jeon M. Boosted prediction of antihypertensive peptides using deep learning // *Applied Sciences*. 2021. Vol. 11, no. 5. 2316. <https://doi.org/10.3390/app11052316>.
21. Manavalan B., Basith S., Shin T.H., Wei L., Lee G. AtbPpred: A robust sequence-based prediction of anti-tubercular peptides using extremely randomized trees // *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2019. Vol. 17. Pp. 972–981. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.06.024>.
22. Agrawal P., Bhagat D., Mahalwal M., Sharma N., Raghava G.P. AntiCP 2.0: An updated model for predicting anti-cancer peptides // *Briefings in Bioinformatics*. 2021. Vol. 22, no. 3. bbaa153. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa153>.
23. Патент № 2815553 (РФ). Способ получения изолята белка из жмыха рапса / И.А. Дегтярев, И.А. Фоменко, Л.А. Иванова, А.А. Мижева, В.В. Фоменко, Н.Г. Машенцева. – 2024.
24. Shuai X., Gao L., Geng Q., Li T., He X., Chen J., Liu J., Dai T. Effects of moderate enzymatic hydrolysis on structure and functional properties of pea protein // *Foods*. 2022. Vol. 11, no. 15. 2368. <https://doi.org/10.3390/foods11152368>.
25. Zhang Y., Sharan S., Rinnan A., Orlén V. Survey on methods for investigating protein functionality and related molecular characteristics // *Foods*. 2021. Vol. 10, no. 11. 2848. <https://doi.org/10.3390/foods10112848>.
26. Akharume F.U., Aluko R.E., Adediji A.A. Modification of plant proteins for improved functionality: A review // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021. Vol. 20, no. 1. Pp. 198–224. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12688>.
27. Dhiman A., Thakur K., Parmar V., Sharma S., Sharma R., Kaur G., Suhag R. New insights into tailoring physicochemical and techno-functional properties of plant proteins using conventional and emerging technologies // *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2023. Vol. 17, no. 4. Pp. 3845–3873. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-01919-3>.
28. Zhang R., Fang X., Feng Z., Chen M., Qiu X., Sun J., He J. Protein from rapeseed for food applications: Extraction, sensory quality, functional and nutritional properties // *Food Chemistry*. 2024. Vol. 439. 138109. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138109>.
29. Vioque J., Sánchez-Vioque R., Clemente A., Pedroche J., Millán F. Partially hydrolyzed rapeseed protein isolates with improved functional properties // *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2000. Vol. 77. Pp. 447–450. <https://doi.org/10.1007/s11746-000-0072-y>.
30. Chabanon G., Chevalot I., Framboisier X., Chenu S., Marc I. Hydrolysis of rapeseed protein isolates: Kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates // *Process Biochemistry*. 2007. Vol. 42, no. 10. Pp. 1419–1428. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.07.009>.
31. Du Z., Li Y. Review and perspective on bioactive peptides: A roadmap for research, development, and future opportunities // *Journal of Agriculture and Food Research*. 2022. Vol. 9. 100353. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100353>.
32. Sun S., Gao Y., Chen J., Liu R. Identification and release kinetics of peptides from tilapia skin collagen during alcalase hydrolysis // *Food Chemistry*. 2022. Vol. 378. 132089. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132089>.
33. Lin K., Zhang L.W., Han X., Xin L., Meng Z.X., Gong P.M., Cheng D.Y. Yak milk casein as potential precursor of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides based on in silico proteolysis // *Food Chemistry*. 2018. Vol. 254. Pp. 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.051>.
34. Khatun S., Hasan M., Kurata H. Efficient computational model for identification of antitubercular peptides by integrating amino acid patterns and properties // *FEBS Letters*. 2019. Vol. 593, no. 21. Pp. 3029–3039. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13536>.
35. He R., Yang Y.J., Wang Z., Xing C.R., Yuan J., Wang L.F., Ju X.R. Rapeseed protein-derived peptides, LY, RALP, and GHS, modulate key enzymes and intermediate products of renin–angiotensin system pathway in spontaneously hypertensive rat // *NPJ Science of Food*. 2019. Vol. 3, no. 1. 1. <https://doi.org/10.1038/s41538-018-0033-5>.
36. Xu F., Yao Y., Xu X. et al. Identification and quantification of DPP-IV-inhibitory peptides from hydrolyzed-rapeseed-protein-derived napin with analysis of the interactions between key residues and protein domains // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019. Vol. 67, no. 13. Pp. 3679–3690. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01069>.
37. Wang H., Huang J., Yang M., Zhou Y., Yin J., Yan Y., Xie N. A novel zinc-chelating peptide identified from rapeseed (*Brassica napus*) protein hydrolysate: Insights into its zinc-binding sites by density functional theory // *International Journal of Food Science and Technology*. 2023. Vol. 58, no. 10. Pp. 5203–5213. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16622>.

Поступила в редакцию 12 июля 2025 г.

После переработки 26 февраля 2026 г.

Принята к публикации 1 марта 2026 г.

Chernukha I.M.^{1,2}, Degtyarev I.A.^{1*}, Fomenko I.A.¹, Mashentseva N.G.¹ BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES AND FUNCTIONAL AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF RAPESEED PROTEIN HYDROLYSATES

¹ Russian Biotechnological University, Volokolamskoye Highway, 11, Moscow, 125080, Russia, Ivand152@yandex.ru

² Gorbato Federal Research Center for Food Systems, st. Talalikhina, 26, Moscow, 109316, Russia

Biologically active peptides with a given activity can be obtained by directed enzymatic hydrolysis of proteins. There is a large amount of information in scientific literature on the production of biologically active peptides from animal raw materials, while plant sources are almost not considered. Among oilseeds and legumes, rapeseed has one of the greatest potentials in protein production, which amounts to about 13.8 million tons per year, as well as in the production of biologically active peptides based on it. The aim of the work was to study the patterns of hydrolysis of rapeseed protein isolate under the action of commercial enzyme preparations (AF) proteases to form peptides with predicted biological activity. It was shown that, in comparison with the rapeseed protein isolate, the FCS was most significantly increased in samples of hydrolysates with a protein hydrolysis rate of 10% obtained using Alcalase 2.4 L FG, SQzyme PS and Sunson neutral. The increase in moisture-binding capacity averaged 14%, fat-binding capacity 89%, fat-emulsifying properties 7%, and emulsion resistance 8%. The foaming capacity increased by an average of 47%, while the foam resistance decreased by 25%. By the LC-MS/MS method, 6667 peptides were determined in hydrolysates obtained using Alcalase 2.4 L FG, of which 4 were major, 7678 peptides in a sample of hydrolysate obtained using SQzyme PS, among which 3 were major, and 9034 peptides in a sample with Sunson neutral for which 6 major peptides were selected. Using bioinformatic database tools, 13 ACE inhibitor peptides with antitumor and hypoglycemic activities, 11 peptides with potential antioxidant and antihypertensive activities, 2 peptides with antithrombotic properties, and 5 alpha-glucosidase inhibitors were identified among the major peptides. No potentially allergenic peptides were found. For the gillrolysates obtained using the drug "Alcalase 2.4 L FG", 2 potential bitter peptides out of 4 were identified, using the drug "SQzyme PS", 3 of the 3 peptides were identified as bitter, using the drug "Sunson neutral", 4 bitter peptides out of 6 were predicted.

The selected peptides can then be obtained synthetically and examined for targeted biological activity during empirical studies. The synthesis of individual peptides eliminates impurities and variability in terms of the qualitative composition of peptides in hydrolysates, as well as ensures their purity and stability of the target biological activity.

Keywords: hydrolysates, peptides, biological activity, rapeseed protein isolate, proteolysis, functional and technological properties, bioinformatics.

For citing: Chernukha I.M., Degtyarev I.A., Fomenko I.A., Mashentseva N.G. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2026, no. 3, Online First. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20260317640>.

References

1. Chakrabarti S., Guha S., Majumder K. *Nutrients*, 2018, vol. 10, no. 11, 1738. <https://doi.org/10.3390/nu10111738>.
2. Görgüç A., Gençdağ E., Yılmaz F.M. *Food Research International*, 2020, vol. 136, 109504. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109504>.
3. Bechaux J., Gatellier P., Le Page J.F., Drillet Y., Sante-Lhoutellier V. *Food & Function*, 2019, vol. 10, no. 10, pp. 6244–6266. <https://doi.org/10.1039/C9FO01546A>.
4. Mahgoub S., Alagawany M., Nader M. et al. *Food Reviews International*, 2023, vol. 39, no. 1, pp. 511–536. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1923027>.
5. Shazly A.B., He Z., Abd El-Aziz M., Zeng M., Zhang S., Qin F., Chen J. *Food Chemistry*, 2017, vol. 232, pp. 753–762. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.071>.
6. Mohanty D.P., Tripathy P., Mohapatra S., Samantaray D.P. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2014, vol. 3, pp. 72–80.
7. Haque E., Chand R. *European Food Research and Technology*, 2008, vol. 227, pp. 7–15. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0689-6>.
8. Bielecka M., Cichosz G., Cieczot H. *International Dairy Journal*, 2022, vol. 127, 105208. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105208>.
9. Chalamaiah M., Ulug S.K., Hong H., Wu J. *Journal of Functional Foods*, 2019, vol. 58, pp. 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.050>.
10. Duan X., Dong Y., Zhang M., Li Z., Bu G., Chen F. *Food Chemistry*, 2023, vol. 422, 136085. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136085>.
11. You H., Zhang Y., Wu T., Li J., Wang L., Yu Z., Ding L. *LWT – Food Science and Technology*, 2022, vol. 160, 113255. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113255>.
12. He R., Ju X., Yuan J., Wang L., Girgih A.T., Aluko R.E. *Food Research International*, 2012, vol. 49, no. 1, pp. 432–438. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.023>.
13. Ospina-Quiroga J.L., García-Moreno P.J., Guadix A., Guadix E.M., Almécija-Rodríguez M.D.C., Pérez-Gálvez R. *Antioxidants*, 2022, vol. 11, no. 8, 1612. <https://doi.org/10.3390/antiox11081612>.
14. Hou J., Li Y.Q., Wang Z.S., Sun G.J., Mo H.Z. *LWT – Food Science and Technology*, 2017, vol. 83, pp. 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.028>.
15. Garbacz K., Wawrzykowski J., Czelej M., Czernecki T., Waśko A. *Foods*, 2023, vol. 12, no. 20, 3861. <https://doi.org/10.3390/foods12203861>.
16. Rauh M. *Journal of Chromatography B*, 2012, vol. 883, pp. 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.09.030>.

* Corresponding author.

17. Tu M., Cheng S., Lu W., Du M. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2018, vol. 105, pp. 7–17. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.04.005>.
18. Carrasco-Castilla J., Hernández-Álvarez A.J., Jiménez-Martínez C., Gutiérrez-López G.F., Dávila-Ortiz G. *Food Engineering Reviews*, 2012, vol. 4, pp. 224–243. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9058-8>.
19. Lata S., Mishra N.K., Raghava G.P. *BMC Bioinformatics*, 2010, vol. 11, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-S1-S19>.
20. Rauf A., Kiran A., Hassan M.T., Mahmood S., Mustafa G., Jeon M. *Applied Sciences*, 2021, vol. 11, no. 5, 2316. <https://doi.org/10.3390/app11052316>.
21. Manavalan B., Basith S., Shin T.H., Wei L., Lee G. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2019, vol. 17, pp. 972–981. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.06.024>.
22. Agrawal P., Bhagat D., Mahalwal M., Sharma N., Raghava G.P. *Briefings in Bioinformatics*, 2021, vol. 22, no. 3, bbaa153. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa153>.
23. Patent 2815553 (RU). 2024. (in Russ.).
24. Shuai X., Gao L., Geng Q., Li T., He X., Chen J., Liu J., Dai T. *Foods*, 2022, vol. 11, no. 15, 2368. <https://doi.org/10.3390/foods11152368>.
25. Zhang Y., Sharan S., Rinnan Å., Orlén V. *Foods*, 2021, vol. 10, no. 11, 2848. <https://doi.org/10.3390/foods10112848>.
26. Akharume F.U., Aluko R.E., Adedeji A.A. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, vol. 20, no. 1, pp. 198–224. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12688>.
27. Dhiman A., Thakur K., Parmar V., Sharma S., Sharma R., Kaur G., Suhag R. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2023, vol. 17, no. 4, pp. 3845–3873. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-01919-3>.
28. Zhang R., Fang X., Feng Z., Chen M., Qiu X., Sun J., He J. *Food Chemistry*, 2024, vol. 439, 138109. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138109>.
29. Vioque J., Sánchez-Vioque R., Clemente A., Pedroche J., Millán F. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2000, vol. 77, pp. 447–450. <https://doi.org/10.1007/s11746-000-0072-y>.
30. Chabanon G., Chevalot I., Framboisier X., Chenu S., Marc I. *Process Biochemistry*, 2007, vol. 42, no. 10, pp. 1419–1428. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.07.009>.
31. Du Z., Li Y. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2022, vol. 9, 100353. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100353>.
32. Sun S., Gao Y., Chen J., Liu R. *Food Chemistry*, 2022, vol. 378, 132089. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132089>.
33. Lin K., Zhang L.W., Han X., Xin L., Meng Z.X., Gong P.M., Cheng D.Y. *Food Chemistry*, 2018, vol. 254, pp. 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.051>.
34. Khatun S., Hasan M., Kurata H. *FEBS Letters*, 2019, vol. 593, no. 21, pp. 3029–3039. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13536>.
35. He R., Yang Y.J., Wang Z., Xing C.R., Yuan J., Wang L.F., Ju X.R. *NPJ Science of Food*, 2019, vol. 3, no. 1, 1. <https://doi.org/10.1038/s41538-018-0033-5>.
36. Xu F., Yao Y., Xu X. et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, vol. 67, no. 13, pp. 3679–3690. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01069>.
37. Wang H., Huang J., Yang M., Zhou Y., Yin J., Yan Y., Xie N. *International Journal of Food Science and Technology*, 2023, vol. 58, no. 10, pp. 5203–5213. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16622>.

Received July 12, 2025

Revised February 26, 2026

Accepted March 1, 2026

Сведения об авторах

Чернуха Ирина Михайловна – доктор технических наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, imcher@inbox.ru

Дегтярев Иван Александрович – аспирант, Ivand152@yandex.ru

Фоменко Иван Андреевич – кандидат технических наук, доцент, iv.fomenko@mail.ru

Машенцева Наталья Геннадьевна – доктор технических наук, профессор, natali-mng@yandex.ru

Information about authors

Chernukha Irina Mikhailovna – Doctor of Technical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher, imcher@inbox.ru

Degtyarev Ivan Alexandrovich – Postgraduate Student, Ivand152@yandex.ru

Fomenko Ivan Andreevich – Candidate of Technical Sciences, Associate Professor, iv.fomenko@mail.ru

Mashentseva Natalia Gennadyevna – Doctor of Technical Sciences, Professor, natali-mng@yandex.ru