

УДК 577.112.5:594–1.05

Е.П. Караулова, А.И. Чепкасова*

Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр,
690091, г. Владивосток, пер. Шевченко, 4**ПЕПТИДЫ МОРСКИХ ОБЪЕКТОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ
ИСТОЧНИК ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ**

Исследована антиоксидантная активность тканей двустворчатых моллюсков; показано, что антиоксидантная активность мягких тканей корбикулы японской *Corbicula japonica*, мерценарии Стивенса *Mercenaria stimpsoni*, каллисты короткосифонной *Callista brevisiphonata*, глицемериса приморского *Glycymeris yessoensis* и мидии Грея *Crenomytilus grayanus* составляет соответственно 86,3; 68,7; 72,3; 90,2 и 67,5 мкг аскорбиновой кислоты/г ткани, что достоверно ($P \leq 0,05$) выше антиоксидантной активности тканей других исследованных моллюсков. Высокая антиоксидантная активность соответствует высокой (50–60 %) доле саркоплазматических белков в мягких тканях. Гидролиз протеиназным комплексом «Protamex» приводит к увеличению антиоксидантной активности тканей всех исследуемых образцов моллюсков ($P < 0,001$). Максимальное увеличение активности наблюдалось для тканей серрипеса гренландского *Serripes groenlandicus* (в 4,9 раза), минимальное — для каллисты короткосифонной (в 1,5 раза). При гидролизе снизилась доля высокомолекулярных (более 10 кДа) водорастворимых компонентов на 5–15 % для корбикулы японской, мерценарии Стивенса и гребешка приморского *Patinopecten yessoensis*. Для таких объектов, как анадара Броутона *Anadara broughtoni*, спизула сахалинская *Spisula sachalinensis*, мидия Грея, мактра китайская *Maktra chinensis* и дозиния японская *Dosinia japonica*, наблюдали увеличение относительного количества высокомолекулярных водорастворимых белков на 5–20 %. В целом при гидролизе всех объектов происходило снижение на 5–30 % доли белковых компонентов с молекулярной массой от 1 до 10 кДа. Доля низкомолекулярных пептидов (менее 1 кДа) в исследуемых образцах увеличилась на 4–14 %. Установлено, что с увеличением доли низкомолекулярных пептидов наблюдается увеличение антиоксидантной активности мягких тканей.

Ключевые слова: двустворчатые моллюски, гидролизат, антиоксиданты, антиоксидантная активность, низкомолекулярные пептиды.

Karaulova E.P., Chepkasova A.I. Peptides of marine animals as a potential source of natural antioxidants // *Izv. TINRO*. — 2017. — Vol. 189. — P. 192–203.

Peptides extracted from tissues of 11 shellfish species (*Corbicula japonica*, *Mercenaria stimpsoni*, *Anadara broughtoni*, *Patinopecten yessoensis*, *Crenomytilus grayanus*, *Spisula sachalinensis*, *Maktra chinensis*, *Serripes groenlandicus*, *Glycymeris yessoensis*, *Callista brevisiphonata*, *Dosinia japonica*) are tested for their antioxidant properties in different in vitro conditions. Frozen muscles and viscera of the shellfish were minced and subjected to water extraction of proteins and to hydrolysis with Protamex 1.5 MG. The peptides antioxidant activity was evaluated by assessing of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity on free radicals

* Караулова Екатерина Павловна, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, e-mail: karaulova@tinro.ru; Чепкасова Анна Ивановна, кандидат технических наук, научный сотрудник, e-mail: anna.chepkasova@mail.ru.

Karaulova Ekaterina P., Ph.D., senior researcher, e-mail: karaulova@tinro.ru; Chepkasova Anna I., Ph.D., researcher, e-mail: anna.chepkasova@mail.ru.

generated in oxidative systems. In the experiment, the high performance liquid chromatography (HPLC) system (Agilent Technologies 1260) included the frame TSKgel G 3000PWXL, the flow rate was 0.1 mL/min (0.1 N NaCl-20 mM Tris-HCl, pH 8.0), the detection was made under 280 nm. Molecular weight of the proteins was determined by comparison of their retention time with pure protein standards. The enzyme activity was high in conditions of pH in the range of 5.5–8.0, with the maximum under pH 7.0. Among 11 shellfish species, the highest antioxidant activity in water extract was observed for *C. japonica*, *M. stimpsoni*, *C. brevisiphonata*, *G. yessoensis*, and *C. grayanus*: 86.3, 68.7, 72.3, 90.2, and 67.5 µg of ascorbic acid/g, respectively. The DPPH radical scavenging activity increased with increasing of the hydrolysis degree. The 1-step hydrolysis with Protamex enhanced the DPPH scavenging activity for all samples, with the highest value for the protein hydrolysate of *M. stimpsoni* tissues (215 µg of ascorbic acid/g). Size of generated peptides is important for the antioxidant activity therefore molecular weight distribution of the peptides during the proteolysis was investigated using HPLC. Portion of the low molecular weight peptides (≤ 1 kDa) in the protein hydrolysate was increased in 4–14 % as compared with the starting protein. The antioxidant activity correlated positively with the number of low molecular weight peptides in protein hydrolysates.

Key words: shellfish, hydrolysate, antioxidant, antioxidant activity, low molecular weight peptide.

Введение

Для защиты от повреждающего действия кислорода, особенно его активных форм и свободных радикалов, все аэробные организмы вынуждены создавать многоступенчатые защитные системы, состоящие из веществ, проявляющих антиоксидантные свойства. В настоящее время доказано, что большинство патологических состояний биологических систем (растений, животных и человека) либо вызывается нарушением нормального уровня свободных радикалов в их органах и тканях, либо такое нарушение возникает как следствие развития патологии. Это в полной мере относится к естественному процессу старения, сердечно-сосудистым заболеваниям, воспалительным явлениям и ожогам и, прямо или косвенно, к онкологическим заболеваниям. Лекарственное или диетическое корректирование подобных нарушений введением экзогенных антиоксидантов стало ведущим направлением в современных фармакологических и клинических разработках. Существует широкий спектр синтетических препаратов для подавления реакций свободнорадикального окисления. Но их использование зачастую сопряжено с побочными и кумулятивными эффектами, такими как токсичность некоторых фенольных антиоксидантов, вытеснение эндогенных антиоксидантов. Кроме того, синтетические антиоксиданты зачастую разрушаются под действием пищеварительных ферментов и теряют свою биологическую активность.

В связи с этим становится актуальным поиск природных антиоксидантных веществ, являющихся потенциально пищевыми ингредиентами для укрепления здоровья человека. В настоящее время проводятся интенсивные исследования по поиску и изучению биологической активности таких антиоксидантов, поэтому возможность предварительной оценки их эффективности с учетом выбранной модельной системы и влияния различных физико-химических факторов представляется весьма актуальной.

Одним из возможных источников веществ белкового происхождения, проявляющих антиоксидантную активность, являются моллюски (Jung et al., 2007; Qian et al., 2008; Liu et al., 2015). В дальневосточных морях обитает более 200 видов и подвидов двустворчатых моллюсков. Многие из них, такие как корбикула, спизула, анадара, мерценария и др., являются промысловыми. Ткани двустворчатых моллюсков богаты белками, микро-, макроэлементами и аминокислотами. Показано, что постоянное употребление моллюсков позволяет достаточно быстро восполнить дефицит эссенциальных веществ, повысить сопротивляемость организма к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды путем ослабления влияния свободных радикалов (Лебедев, 1974; Оводова и др., 1990; Аюшин и др., 1997; Пашенко и др., 2002; Chi et al., 2010; Kim, 2013).

Целью настоящей работы было исследование антиоксидантной активности (АОА) тканей двустворчатых моллюсков и определение факторов, влияющих на величину АОА.

Материалы и методы

Материалы. В качестве сырья для получения экстрактов и гидролизатов использовали мягкие ткани и внутривнутреннюю жидкость следующих двусторчатых моллюсков: корбикула японская *Corbicula japonica*, мерценария *Mercenaria stimpsoni*, анадара Броутона *Anadara broughtoni*, гребешок приморский *Patinopecten yessoensis*, мидия Грея *Crenomytilus grayanus*, спизула сахалинская *Spisula sachalinensis*, мактра китайская *Maktra chinensis*, серрипес гренландский *Serripes groenlandicus*, глицемерис приморский *Glycymeris yessoensis*, каллиста короткосифонная *Callista brevisiphonata*, дозиния японская *Dosinia japonica*.

Получение водных экстрактов и гидролизатов. Для получения экстрактов исследуемые ткани гомогенизировали с холодной дистиллированной водой в соотношении 1 : 1, 10 мин, 4 °С, скорость 8,5 тыс. об/мин, используя гомогенизатор Ika 25T basic, IKA Works Inc., Wilmington, N.C., USA. Полученные гомогенаты центрифугировали при 5 тыс. об/мин 15 мин при 4 °С на микроцентрифуге Hitachi CT 15RE. Полученные водные экстракты дополнительно фильтровали через микрофильтр Whatman (0,45 µm PVDF). Для получения гидролизатов использовали ферментный препарат «Protamex» (Biosis, Busan, South Korea).

Гидролиз гомогенатов проводили при температуре 50 °С в течение 3 ч при pH 7. Гидролиз останавливали нагреванием смеси до 80 °С в течение 15 мин. Затем смесь центрифугировали при 5 тыс. об/мин 15 мин при 4 °С на микроцентрифуге Hitachi CT 15RE. Гидролизаты дополнительно фильтровали через микрофильтр Whatman (0,45 µm PVDF).

Определение степени гидролиза. Степень гидролиза (DH) определяли по известному методу (Hoyle, Merritt, 1994). К гидролизату прибавляли 20 %-ную трихлоруксусную кислоту (ТХУ) в соотношении 1 : 1, смесь оставляли на 30 мин для полного осаждения высокомолекулярных белков, затем центрифугировали при 3 тыс. об/мин в течение 10 мин. В супернатанте и исходном гидролизате определяли общее содержание белка. Степень гидролиза рассчитывали по формуле

$$DH = \frac{\text{кол-во ТХУ растворимого белка}}{\text{общее количество белка}} \cdot 100 \%$$

Определение молекулярно-массового распределения пептидов в экстрактах и гидролизатах. Анализ фракционного состава белков и пептидов проводили с использованием хроматографии высокого давления (ВЭЖХ) на приборе Agilent Technologies 1260, колонка TSK gel G 3000PWXL, буфер 0,1 N NaCl-20 mM Tris-HCl, pH 8,0.

Образцы фильтровали через микрофильтр Whatman (0,45 µm PVDF) и наносили на колонку (объем 20–200 мкл). Скорость потока составляла 0,1–0,3 мл/мин, $\lambda = 280$ нм.

Молекулярную массу белков и пептидов рассчитывали с помощью маркеров молекулярной массы (Sigma-Aldrich): карнозин (226 Да), бацитрацин (1422 Да), апротинин (6500 Да), цитохром (12500 Да), миоглобин (18000 Да), используя сравнение времени удерживания.

Определение содержания белка. Содержание общего азота определяли на анализаторе «Kjeltec Auto 1030 Analyser». Для расчета содержания белка использовали коэффициент 6,25.

Оценка антиоксидантной активности. Суммарную АОА определяли по известному методу (Moluneux, 2004) с использованием 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH). К 200 мкл исследуемого раствора добавляли 200 мкл этанола и 100 мкл 0,1 mM DPPH в этаноле. Смесь оставляли в темноте при 18 °С на 30 мин. Оптическую плотность раствора определяли при 517 нм на планшетном спектрофотометре Polarstar Omega.

Антиоксидантную активность рассчитывали по формуле

$$AOA = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \cdot 100 \%$$

где $A_{control}$ — величина оптической плотности раствора сравнения (вместо исследуемого образца 200 мкл дистиллированной воды); A_{sample} — оптическая плотность исследуемого раствора.

Величину АОА относили к количеству микрограммов аскорбиновой кислоты по результатам калибровочной кривой, построенной в зависимости АОА (в процентах) от концентрации аскорбиновой кислоты.

Статистический анализ. Эксперименты повторялись трижды, данные анализировали с помощью программного обеспечения Statistica 7. Результаты выражены в виде среднего значения со стандартным отклонением. Значения с 95 %-ным доверительным интервалом ($P < 0,05$) считались статистически значимыми.

Результаты и их обсуждение

Биологическая активность белков и пептидов базируется на специфическом аминокислотном составе и последовательности аминокислот. В настоящее время установлена тесная взаимосвязь между структурой некоторых белков и их антиоксидантными характеристиками (Roche et al., 2008; De Castro, Sato, 2014).

Нами было проведено комплексное сравнительное исследование белковых компонентов тканей моллюсков и их взаимосвязь с АОА. Достоверной корреляции антиоксидантной активности с общим количеством белка в тканях моллюсков обнаружено не было. Как видно из данных таблицы, мышечные ткани корбикулы японской характеризуются довольно высокой АОА (86 ед.) при минимальном из исследованных моллюсков содержании общего белка в тканях. При этом мышечные ткани мактры китайской характеризовались низкой АОА (29 ед.) при высокой доле белковых компонентов (более 8 %).

Содержание белков и общая антиоксидантная активность тканей исследуемых моллюсков
Proteins content and total antioxidant activity of shellfish tissues

Образец	Белок общий, %	АОА, мкг аскорбиновой кислоты/г ткани	Доля СПБ, % от общего содержания белка
Дозиния японская	6,69 ± 0,02	31,8 ± 1,5	32,3 ± 0,3
Гребешок приморский	8,79 ± 0,01	35,8 ± 1,9	38,5 ± 0,5
Мидия Грея	8,66 ± 0,01	67,5 ± 2,1	48,5 ± 0,5
Мерценария Стивенса	6,56 ± 0,02	68,7 ± 1,8	40,2 ± 0,4
Мактра китайская	8,31 ± 0,01	29,8 ± 1,1	29,5 ± 0,7
Корбикула японская	4,50 ± 0,02	86,3 ± 3,1	52,3 ± 0,6
Спизула сахалинская	6,65 ± 0,03	50,3 ± 2,4	46,3 ± 0,3
Анадара Броутона	9,96 ± 0,02	50,2 ± 2,5	21,3 ± 0,4
Каллиста короткосифонная	5,91 ± 0,01	72,1 ± 3,8	62,5 ± 0,8
Серипес гренландский	4,12 ± 0,03	20,1 ± 1,1	31,3 ± 0,5
Глицемерис приморский	8,34 ± 0,02	90,2 ± 2,9	55,3 ± 0,8

Примечание. СПБ — саркоплазматические белки.

Исследование взаимосвязи антиоксидантной активности и количества саркоплазматических белков мягких тканей моллюсков показало, что при увеличении доли саркоплазматических белков величина АОА пропорционально увеличивается (рис. 1). По всей вероятности, одним из факторов, определяющих АОА, являются водорастворимые белковые компоненты, в том числе, возможно, низкомолекулярные пептиды и ферменты. Ткани таких моллюсков, как анадара, мактра, спизула, характеризующиеся низкой долей водорастворимых белков, обладают относительно низкой АОА: от 20 до 50 ед. Ткани мерценарии, корбикулы, каллисты, характеризующиеся высоким содержанием саркоплазматических белков (50–60 %), отличаются высокой АОА, значения которой достигают соответственно 68, 86 и 72 ед.

В 80-е гг. прошлого века установлено, что при воздействии протеолитических ферментов на белок выделяются низкомолекулярные пептиды, обладающие биологической активностью (Lee et al., 1983; Maruyama et al., 1985; Yashiro et al., 1985). Повышение биологической активности исследуемого субстрата при выделении низкомолекулярных пептидов из высокомолекулярных белков подтверждено и современными исследованиями (Korhonen et al., 1998; Hartmann, Meisel, 2007).

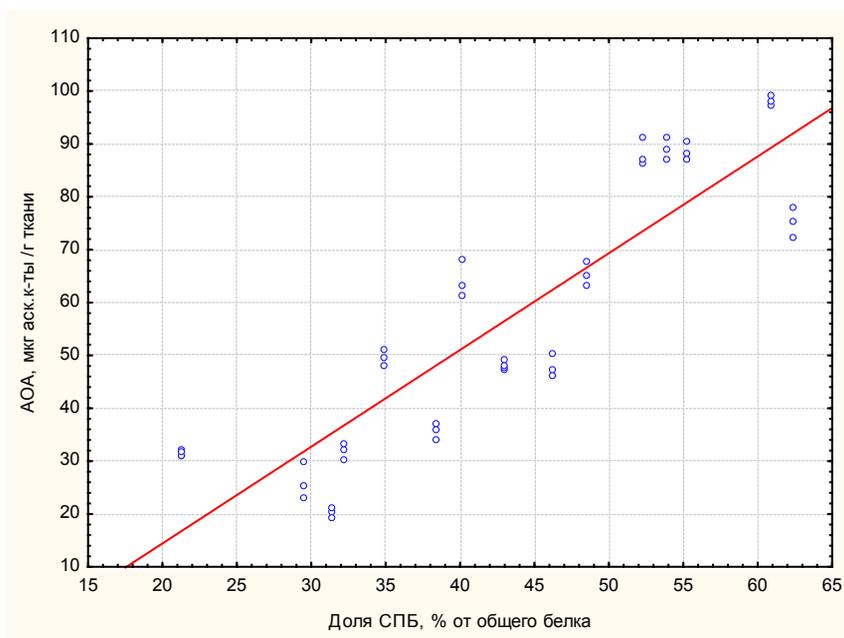


Рис. 1. Зависимость антиоксидантной активности тканей двустворчатых моллюсков от доли саркоплазматических белков (СПБ)

Fig. 1. Effects of the sarcoplasmic proteins concentration on antioxidant activity of shellfish tissues

В наших исследованиях было показано (рис. 2), что при ферментативном гидролизе исследуемых мягких тканей двустворчатых моллюсков наблюдается достоверное ($P < 0,001$) увеличение АОА для всех исследуемых образцов. Гидролиз проводили в оптимальных условиях протеиназным комплексом «Protamex», продуцируемым микроорганизмами рода *Bacillus*. После гидролиза АОА мягких тканей увеличилась в среднем в 3 раза для большинства исследуемых образцов. Максимальное увеличение активности наблюдалось для серрипеса гренландского (в 4,9 раза), минимальное — для каллисты короткосифонной (в 1,5 раза). По всей вероятности, при воздействии протеолитических ферментов на белок выделяются низкомолекулярные пептиды и свободные аминокислоты, повышающие биологическую активность исследуемого субстрата. Это подтверждает и обнаруженная корреляция между антиоксидантной активностью и степенью гидролиза белков, определяемая по количеству ТХУ осаждаемых белковых компонентов (рис. 3). Вероятно, АОА определяется как общим количеством гидролизованных пептидов, так и качественным составом получаемых белково-пептидных смесей. Известно, что гидролизаты, получаемые с помощью ферментативных процессов, представляют собой многокомпонентные смеси, содержащие олигопептиды различных размеров, смеси пептидов с различными аминокислотными последовательностями, свободные аминокислоты. Антиоксидантный потенциал белковых гидролизатов зависит от аминокислотного состава и от третичной структуры нативного белка, разрушаемой под действием ферментов с высвобождением лабильных аминокислотных остатков. В то же время более глубокий ферментативный гидролиз зачастую приводит к снижению АОА за счет высвобождения свободных аминокислот. Исследования некоторых ученых подтверждают, что потенциальная АОА пептидов выше, чем антиоксидантная активность свободных аминокислот, входящих в их состав (Elias et al., 2008). Кроме того, показано, что антиоксидантной активностью характеризуются низкомолекулярные пептиды, имеющие определенную аминокислотную последовательность (Ren et al., 2008; Hsu et al., 2009; You et al., 2009; Bougateg et al., 2010; Sarmadi, Ismail, 2010; Samaranayaka, Li-chan, 2011).

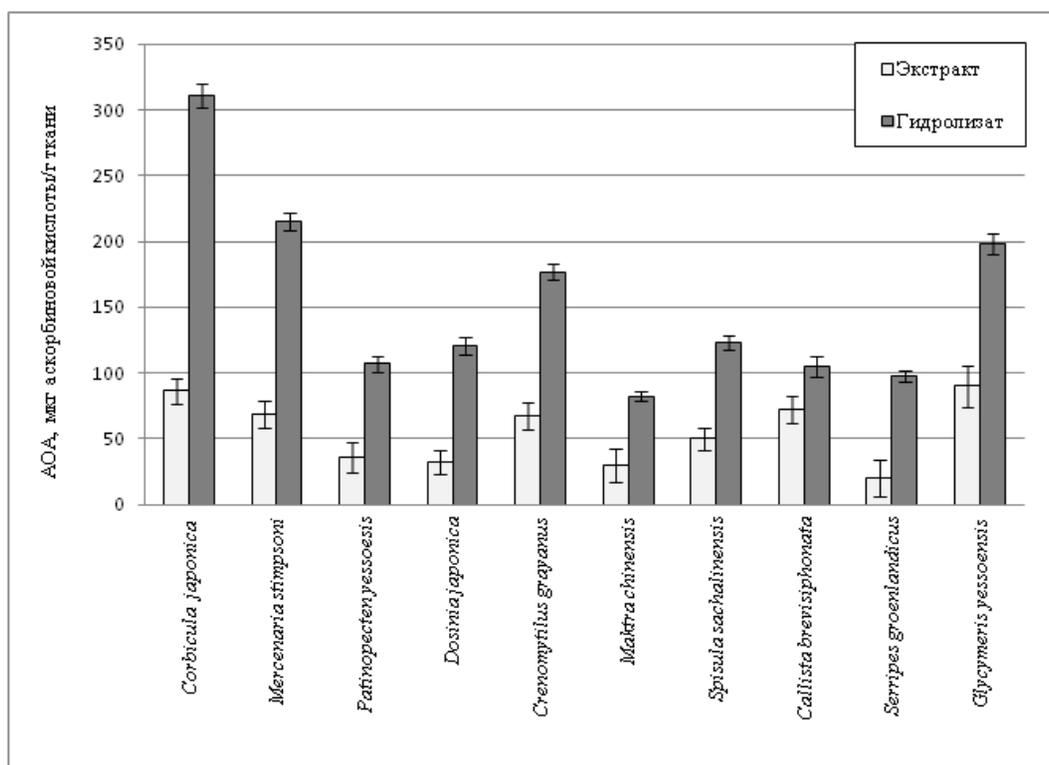


Рис. 2. Изменение антиоксидантной активности мягких тканей исследуемых видов двустворчатых моллюсков при ферментативном гидролизе
 Fig. 2. Changes of antioxidant activity of shellfish tissues under enzymic hydrolysis

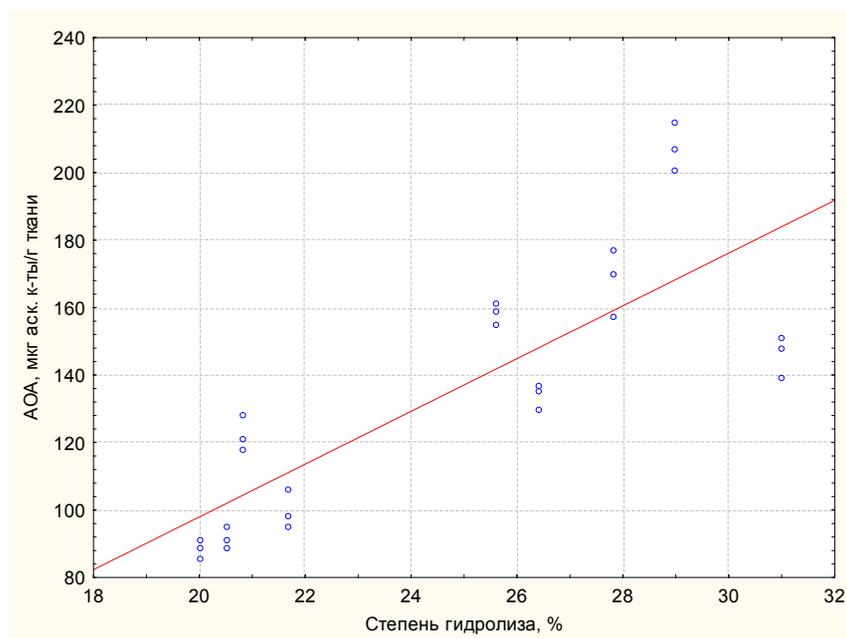


Рис. 3. Зависимость антиоксидантной активности от степени гидролиза белков мягких тканей двустворчатых моллюсков
 Fig. 3. Effects of the shellfish proteins hydrolysis degree on their antioxidant activity

Фракционный состав водорастворимых белков и пептидов экстрактов и гидролизатов мягких тканей моллюсков был исследован с использованием гель-проникающей жидкостной хроматографии высокого давления (HPLC). На представленных хроматограммах (рис. 4, 5) видно увеличение относительной доли низкомолекулярных белков

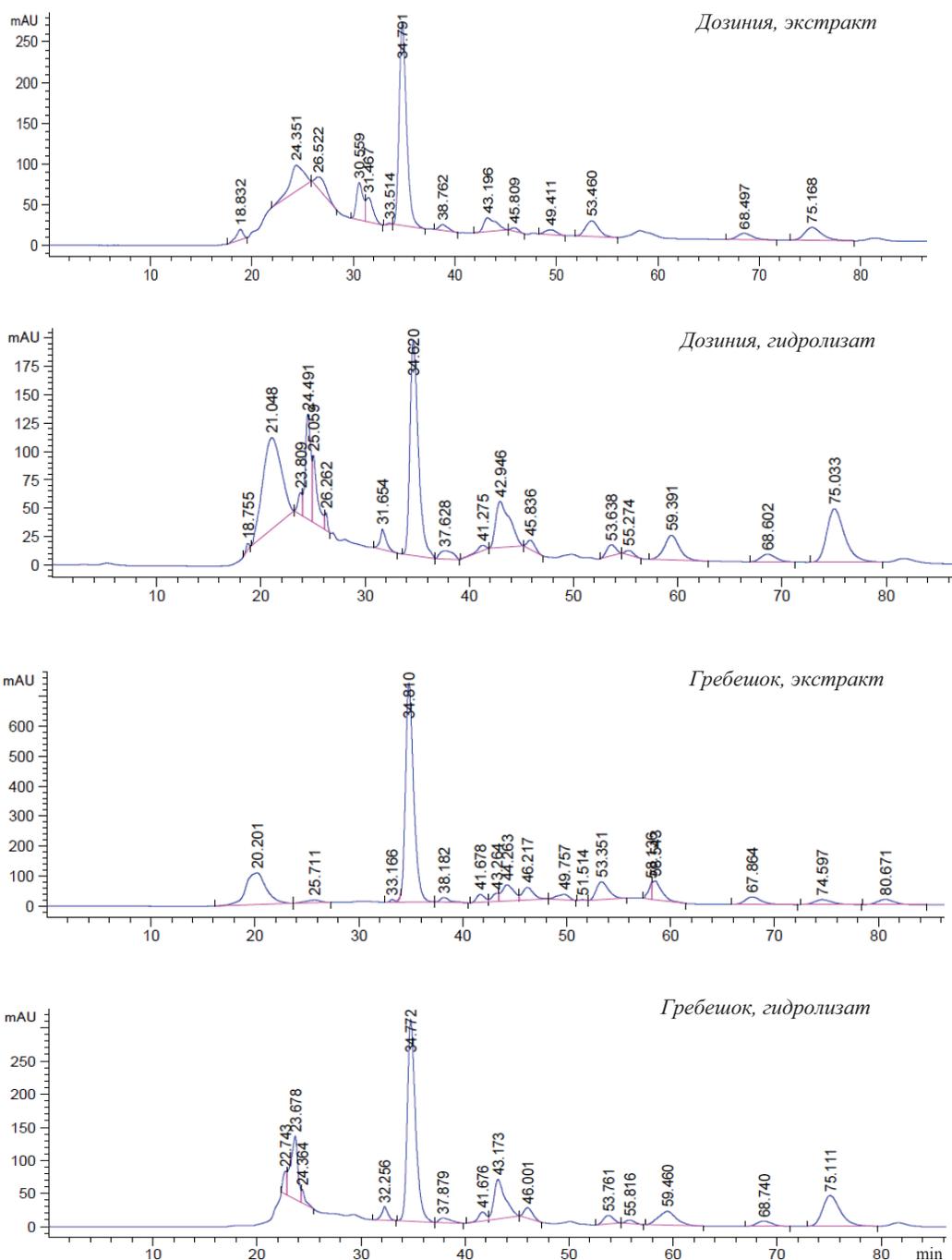


Рис. 4. Распределение водорастворимой белковой фракции мягких тканей двустворчатых моллюсков дозии и гребешка приморского до и после ферментативного гидролиза методом ВЭЖХ

Fig. 4. Elution profile of *Dosinia japonica* and *Patinopecten yessoesi* tissues water extract and hydrolysate of proteins by HPLC

и пептидов после ферментативного гидролиза тканей некоторых видов исследуемых моллюсков. Количественное изменение доли основных белковых фракций до и после гидролиза в заданных условиях приведено на рис. 6.

Как видно на рис. 6, перераспределение белковых фракций в применяемых условиях гидролиза не всегда однозначно и протекает различно для разных объектов. Так, после гидролиза наблюдалось увеличение доли высокомолекулярных

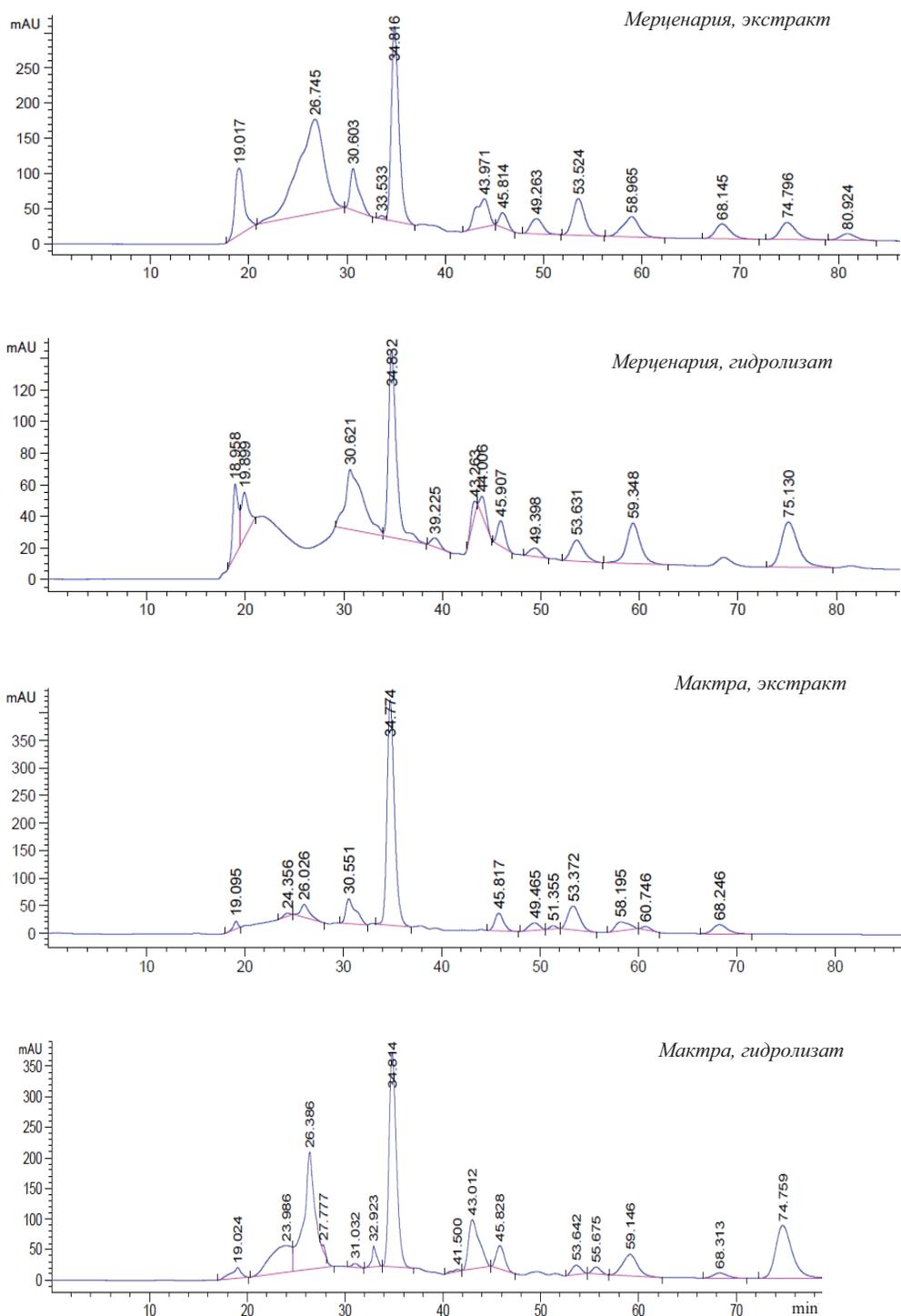


Рис. 5. Распределение водорастворимой белковой фракции мягких тканей двустворчатых моллюсков мерценарии и мактры китайской до и после ферментативного гидролиза методом ВЭЖХ

Fig. 5. Elution profile of *Mercenaria stipponi* and *Maktra chinensis* tissues water extract and hydrolysate of proteins by HPLC

водорастворимых белков с молекулярной массой выше 10 кДа для таких объектов, как анадара, спизула, мидия, мактра и дозиния. Надо отметить, что ткани этих моллюсков характеризуются низким содержанием водорастворимой белковой фракции

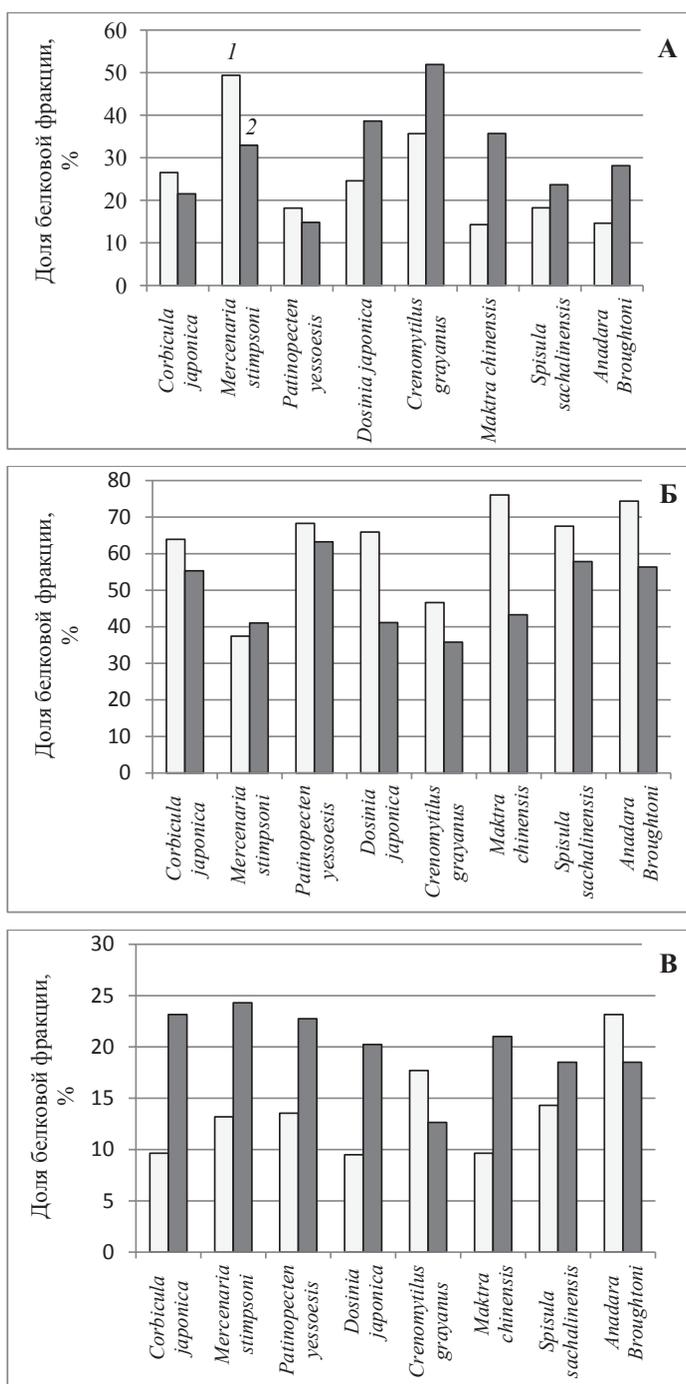


Рис. 6. Молекулярно-массовое распределение белков и пептидов до и после ферментативного гидролиза мягких тканей двустворчатых моллюсков: 1 — экстракт водорастворимой белковой фракции; 2 — гидролизат мягких тканей. **А** — доля белковой фракции с молекулярной массой больше 10 кДа; **Б** — доля белковой фракции с молекулярной массой от 1 до 10 кДа; **В** — доля белковой фракции с молекулярной массой ниже 1 кДа

Fig. 6. Molecular weight distribution for proteins and peptides in water extract and enzymic hydrolysates of shellfish tissue proteins: 1 — water extract; 2 — enzymic hydrolysate. **A** — protein fraction with molecular weight > 10 kDa; **Б** — protein fraction with molecular weight 1–10 kDa; **В** — protein fraction with molecular weight < 1 kDa

в нативном состоянии (от 20 до 30 %). Доля саркоплазматических белков корбикулы, мерценарии и гребешка в исходных нативных тканях превышает 40 %, при гидролизе наблюдается снижение доли высокомолекулярных водорастворимых компонентов соответственно на 3, 15 и 5 %. Вероятно, при протеолитическом гидролизе тканей некоторых двустворчатых моллюсков происходит расщепление миофибриллярных и щелочерастворимых компонентов с отделением водорастворимых фрагментов. При гидролизе мягких тканей наблюдалось снижение доли белковых компонентов с молекулярной массой от 1 до 10 кДа для всех исследуемых двустворчатых моллюсков, за исключением мерценарии (рис. 6, Б). Количество низкомолекулярных белков и пептидов уменьшилось на 10–30 % для исследуемых двустворчатых моллюсков. Это

связано с естественными гидролитическими процессами, обуславливающими расщепление саркоплазматических белков под действием протеаз. Процесс уменьшения количества низкомолекулярных белков и пептидов идет параллельно с накоплением низкомолекулярных пептидов для всех исследуемых образцов, за исключением анадары и мидии (рис. 6, В). Доля низкомолекулярных белков и пептидов в исследуемых образцах увеличилась на 4–14 %. Максимальное увеличение количества пептидов наблюдалось для мерценарии и корбикулы, соответственно на 11 и 14 %. Для анадары и мидии наблюдали снижение количества низкомолекулярных пептидов на 5 % по сравнению с негидролизованной нативной тканью.

По данным колориметрических исследований и определения АОА установлена корреляция количества низкомолекулярной белковой фракции и антиоксидантной активности. Так, с увеличением доли низкомолекулярных пептидов наблюдается увеличение АОА мягких тканей исследуемых двустворчатых моллюсков (рис. 7). Это хорошо коррелирует с полученными данными о прямолинейной зависимости АОА от степени гидролиза белков (см. рис. 3).

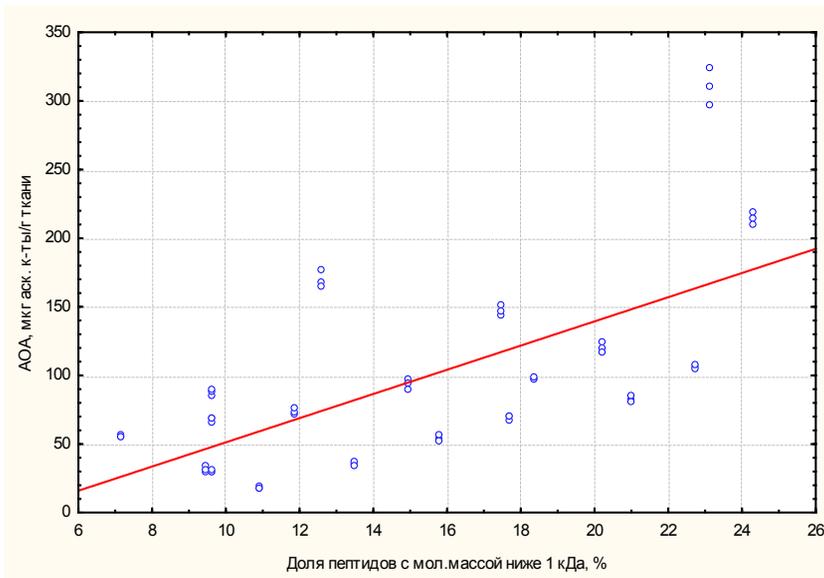


Рис. 7. Зависимость антиоксидантной активности тканей двустворчатых моллюсков от доли низкомолекулярных пептидов

Fig. 7. Antioxidant activity dependence on portion of peptides with molecular weight ≤ 1 kDa

Таким образом, полученные результаты показывают, что одним из факторов, определяющих величину АОА исследуемых тканей двустворчатых моллюсков, является фракционный состав белков и пептидов. Установлено, что большему количеству низкомолекулярных белковых компонентов соответствует более высокий уровень АОА. Антиоксидантная активность также напрямую зависит от степени гидролиза белков в том случае, если степень гидролиза не превышает 30–35 %. Это объясняется тем, что более глубокий гидролиз приводит к высвобождению свободных аминокислот, обладающих более низкой, в сравнении с низкомолекулярными пептидами, биологической активностью.

Заключение

Проведенные исследования антиоксидантной активности мягких тканей двустворчатых моллюсков показали, что из всех рассмотренных видов корбикула японская, мерценария Стимпсона и каллиста короткосифонная характеризуются максимальной АОА — соответственно 86, 68 и 72 ед.

Моллюски, ткани которых характеризуются более высокой долей саркоплазматических белков, обладают и более высокой АОА. Установлена прямая зависимость величины

АОА от доли низкомолекулярных пептидов с молекулярной массой ниже 1 кДа как нативных, так и гидролизованных тканей.

Совокупность полученных данных позволяет с уверенностью выделить объекты, обладающие наибольшей антиоксидантной активностью, — корбикулу японскую и мерцenersарию Стимпсона. Вероятно, в этих объектах высокая АОА обеспечивается сочетанием нескольких факторов, наиболее важный из которых — высокое содержание низкомолекулярных пептидов.

Список литературы

- Аюшин Н.Б., Петрова И.П., Эпштейн Л.М.** Таурин и карнозин в тканях тихоокеанских моллюсков // *Вопр. питания.* — 1997. — № 6. — С. 6–8.
- Лебедев А.В.** Азотистые экстрактивные вещества мышечной ткани беспозвоночных // *Журн. эволюц. биохимии и физиологии.* — 1974. — Т. 10, № 3. — С. 232–242.
- Оводова Р.Г., Молчанова В.И., Михайская Л.В., Оводов Ю.С.** Общая характеристика биогликанов-иммуномодуляторов из беспозвоночных Японского моря // *Химия природ. соединений.* — 1990. — № 6. — С. 738–742.
- Пашенко Л.П., Жаркова И.М., Булгакова Н.Н. и др.** Биологически активные добавки в питании человека // *Пищ. пром-сть.* — 2002. — № 7. — С. 82–83.
- Bougatef A., Nedjar-Arroume N., Manni L. et al.** Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins // *Food Chemistry.* — 2010. — Vol. 118, Iss. 3. — P. 559–565.
- Chi H.M., Chou S.T., Lin S.C. et al.** Protective effects of water extract of clam on normal and CCl₄-induced damage in primary cultured rat hepatocytes // *Am. J. Chin. Med.* — 2010. — Vol. 38, Iss. 6. — P. 1193–1205.
- De Castro R.J.H., Sato H.H.** Comparison and synergistic effects of intact proteins and their hydrolysates on the functional properties and antioxidant activities in a simultaneous process of enzymatic hydrolysis // *Food and Bioproducts Proc.* — 2014. — Vol. 92, № 1. — P. 80–88.
- Elias R.J., Kellerby S.S., Decker E.A.** Antioxidant activity of proteins and peptides // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* — 2008. — Vol. 48(5). — P. 430–441.
- Hartmann R., Meisel H.** Food derived peptides with biological activity: from research to food applications // *Curr. Opin. Biotechnol.* — 2007. — Vol. 18(2). — P. 163–169.
- Hoyle N.T., Merritt J.H.** Quality of fish protein hydrolysate from Herring (*Clupea harengus*) // *J. Food Sci.* — 1994. — Vol. 59(1). — P. 76–79.
- Hsu K., Lu G., Jao C.** Antioxidative properties of peptides prepared from tuna cooking juice hydrolysates with orientase (*Bacillus subtilis*) // *Food Research International.* — 2009. — Vol. 42(5–6). — P. 647–652.
- Jung W.K., Qian Z.J., Lee S.H. et al.** Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide isolated from in vitro gastrointestinal digests of *Mytilus coruscus* // *J. Med. Food.* — 2007. — Vol. 10(1). — P. 197–202.
- Kim S.K.** *Marine Proteins and Peptides: Biological Activities and Applications.* — N.Y.: A John Wiley & Sons, Ltd, 2013. — 816 p.
- Korhonen H., Pihlanto-Leppala A., Rantamaki P., Tupasela T.** Impact of processing on bioactive proteins and peptides // *Trends in Food Science and Technology.* — 1998. — Vol. 9. — P. 307–319.
- Lee Y.S., Noguchi T., Naito H.** Intestinal absorption of calcium in rats given diets containing casein or amino acid mixture: the role of casein phosphopeptides // *Br. J. Nutr.* — 1983. — Vol. 49(1). — P. 67–76.
- Liu R., Zheng W., Li J. et al.** Rapid identification of bioactive peptides with antioxidant activity from the enzymatic hydrolysate of *Mactra veneriformis* by UHPLC-Q-TOF mass spectrometry // *Food Chem.* — 2015. — Vol. 167. — P. 484–489.
- Maruyama S., Nakagomi K., Tomizuka N., Suzuki H.** Angiotensin I-converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. II. Isolation and bradykinin-potentiating activity on the uterus and the ileum of rats // *Agric. Biol. Chem.* — 1985. — Vol. 49, № 5. — P. 1405–1409.
- Molyneux P.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity // *Songklanakarin J. Sci. Technol.* — 2004. — Vol. 26, Iss. 2. — P. 211–219.
- Qian Z.J., Jung W.K., Byun H.G., Kim S.K.** Protective effect of an antioxidative peptide purified from gastrointestinal digests of oyster, *Crassostrea gigas* against free radical induced DNA damage // *Bioresour. Technol.* — 2008. — Vol. 99(9). — P. 3365–3371.

Ren J., Zhao M., Shi J. et al. Purification and identification of antioxidant peptides from grass carp muscle hydrolysates by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry // Food Chemistry. — 2008. — Vol. 108, Iss. 2. — P. 727–736.

Roche M., Rondeau Ph., Singh N.R. et al. The antioxidant properties of serum albumin // FEBS Lett. — 2008. — Vol. 582, Iss. 13. — P. 1783–1787.

Samaranayaka A.G.P., Li-Chan E.C.Y. Food derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications // J. of Functional Foods. — 2011. — Vol. 3, Iss. 4. — P. 229–254.

Sarmadi B.H., Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: a review // Peptides. — 2010. — Vol. 31(10). — P. 1949–1956.

Yashiro A., Oda S., Sugano M. Hypocholesterolemic effect of soybean protein in rats and mice after peptic digestion // J. Nutr. — 1985. — Vol. 115(10). — P. 1325–1336.

You L., Zhao M., Cui C. et al. Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates // Innovative Food Science and Emerging Technologies. — 2009. — Vol. 10(2). — P. 235–240.

Поступила в редакцию 10.03.17 г.

Принята в печать 7.04.17 г.