Известия ТИНРО

2015 **Том 182**

УДК 577.1:574.5

Е.П. Караулова, А.И. Чепкасова, Т.Н. Слуцкая, Л.В. Шульгина, Е.В. Якуш*

Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, 690091, г. Владивосток, пер. Шевченко, 4

АНТИРАДИКАЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ ЭКСТРАКТОВ И ГИДРОЛИЗАТОВ ТКАНЕЙ ГИДРОБИОНТОВ

Исследован молекулярно-массовый состав пептидов экстрактов и гидролизатов мягких тканей корбикулы японской, мерценарии и печени кеты. Определена антирадикальная активность в экстрактах и гидролизатах мягких тканей корбикулы японской, мерценарии и печени кеты. Обнаружена корреляция между содержанием пептидной фракции с молекулярной массой 3–4 кДа и величиной антирадикальной активности. В экстрактах антирадикальной активностью обладают низкомолекулярные пептиды, высокомолекулярные белки и свободные аминокислоты. Отмечено увеличение антирадикальной активности в гидролизатах по сравнению с экстрактами. Установлено, что в гидролизатах антирадикальной активностью обладают только пептидные фракции с молекулярной массой 2,5–4,5 кДа.

Ключевые слова: пептиды, антирадикальная активность, корбикула, мерценария, кета, гидролизаты, экстракты.

Karaulova E.P., Chepkasova A.I., Slutskaya T.N., Shulgina L.V., Yakush E.V. Antiradical effect of low-molecular peptides in extracts and hydrolyzates from tissues of water organisms // Izv. TINRO. — 2015. — Vol. 182. — P. 269–276.

Molecular-weight composition of peptides in extracts and hydrolyzates from soft tissues of the clams *Corbicula japonica* and *Mercenaria mercenaria* and liver of chum salmon is investigated. Antiradical activity is defined for low-molecular peptides, as well as for high-molecular proteins and free amino acids in the extracts. The maximum activity is detected for the extracts of salmon liver; all protein fractions in the water extract of the liver have antiradical activity. Low-molecular peptides and free amino acids have antiradical activity in all samples. The peptides with molecular weight 4.3 kDa have the highest activity in the water extract from *C. japonica* (43 units) and the peptides with molecular weight 4.7 kDa — in the water extract from *M. mercenaria* (5.6 units). After hydrolysis, the portion of low-molecular peptides increases

* *Караулова Екатерина Павловна, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, e-mail: karaulova@tinro.ru; Чепкасова Анна Ивановна, научный сотрудник, e-mail: chepkasova@tinro.ru; Слуцкая Татьяна Ноевна, доктор технических наук, профессор, заведующая отделом, e-mail: slutskaya@tinro.ru; Шульгина Лидия Васильевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией, e-mail: lvshulgina@tinro.ru; Якуш Евгений Валентинович, кандидат химических наук, заведующий научно-исследовательским отделением, e-mail: evyakush@mail.ru.*

Karaulova Ekaterina P., Ph.D., senior researcher, e-mail: karaulova@tinro.ru; Chepkasova Anna I., researcher, e-mail: chepkasova@mail.ru; Slutskaya Tatiana N., D.Sc., professor, head of department, e-mail: slutskaya@tinro.ru; Shulgina Lidia V., D.Sc., professor, head of laboratory, e-mail: lvshulgina@tinro.ru; Yakush Eugeny V., Ph.D., head of department, e-mail: evyakush@mail.ru.

for *C. japonica*, *M. mercenaria*, and salmon liver in 22.1, 14.5, and 11.1 %, respectively. Hence antiradical activity for hydrolyzates from *C. japonica* and *M. mercen*aria is in 1.9 times higher and for hydrolyzates from salmon liver — in 1.3 times higher than for water extracts from their tissues. Only the peptides with molecular weight 2.8–4.7 kDa have antiradical activity in the hydrolyzates; its value is 1–24 activity units for *M. mercenaria*; 13–76 units for *C. japonica* and about 40 units for the chum salmon liver. Correlation is found between the content of peptides with molecular weight 3–4 kDa in hydrolyzates and their antiradical activity.

Key word: peptide, antiradical activity, *Corbicula japonica*, *Mercenaria mercenaria*, chum salmon, hydrolyzate, water extract.

Введение

В настоящее время пептиды гидробионтов привлекают внимание исследователей благодаря своим антиоксидантным, антиканцерогенным, иммуномодулирующим и другим биологически активным свойствам (Chalamaiah et al., 2012). Из литературы известно, что биологической активностью обладают пептиды, входящие в состав органов и тканей наземных животных (Хавинсон, Кветная, 2005). Установлено, что важнейшим их свойством является способность ингибировать перекисное окисление липидов (Морозов и др., 2000), что имеет большое значение при реализации противоопухолевой защиты, замедления процессов старения организма, а также при различных интоксикациях.

Широкий спектр пептидов, обладающих антиоксидантными свойствами, выделен из морских организмов. Например, показано, что гидролизат рыбы фугу имеет сильное антиоксидантное действие (Harada et al., 2010). Установлено, что пептидные фракции гидролизата мышечных белков лососей ингибируют окисление линолевой кислоты (Girgih et al., 2013). Гидролизат мышечной ткани камбалы также обладает сильным антиоксидантным действием in vitro (Ko et al., 2013). Октапептид, выделенный из пептидного гидролизата плавников лосося, обладает антиоксидантным действием (Ahn et al., 2014). Антиоксидантная активность обнаружена в пептидах гонад морского ежа (Qin et al., 2011), кожи кальмара (Mendis et al., 2005), внутренностей ставриды (Kumar et al., 2011), мышечной ткани трепанга (Zhou et al., 2012), кожи минтая (Jia et al., 2010).

Предполагается, что именно за счет наличия высокого количества компонентов пептидной природы различные гидробионты проявляют специфическую биологическую активность: снижение уровня холестерина (Chijimatsu et al., 2009), гепатопротекторный эффект (Hsu et al., 2010), антиканцерогенные свойства (Leng et al., 2005). Стоит также отметить, что по данным большинства литературных источников, биологически активные свойства в наибольшей степени проявляют пептиды с молекулярной массой от 1 до 10 кДа.

Целью нашей работы было исследование молекулярно-массового распределения пептидов из объектов морского промысла и определение биологической (антирадикальной) активности.

Материалы и методы

Материалы. Для получения экстрактов и гидролизатов использовали мягкие ткани двустворчатых моллюсков: корбикулы японской *Corbicula japonica* и мерценарии *Mercenaria mercenaria*, а также печень кеты *Oncorhynchus keta*.

Получение водных экстрактов и гидролизатов. Для получения экстрактов мышечную ткань и печень 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 пищевой протеолитический фермент Protamex 1,5 MG (Bacillus протеазный комплекс) (Biosis, Busan, South Korea). Гидролиз гомогенатов проводили при температуре 45 °С в течение 3,5 ч. 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. Полученные гидролизаты дополнительно фильтровали через микрофильтр Whatman (0,45 μm PVDF).

Оценка антирадикальной активности (АРА). Суммарную антирадикальную активность определяли с использованием 2,2-дифенил-1-пикрилгидразина (DPPH) (Nazeer et al., 2012). К 1 мл исследуемого раствора добавляли 2 мл 0,1 мМ DPPH в этаноле. Смесь оставляли в темноте при 23 °С на 30 мин. Оптическую плотность раствора определяли при 517 нм. Антирадикальную активность рассчитывали по формуле

$$APA\ \% = \frac{(A_{control} - A_{sample})}{A_{control}} \cdot 100.$$

Величину антирадикальной активности относили к количеству микрограммов аскорбиновой кислоты по результатам калибровочной кривой, построенной в зависимости от процента АРА от концентрации аскорбиновой кислоты. За единицу антирадикальной активности принимали количество микрограммов аскорбиновой кислоты, приходящейся на 1 г белка (ед. активности = мкг аскорбиновой кислоты/г белка).

Определение молекулярно-массового распределения пептидов в гомогенатах и гидролизатах. Анализ фракционного состава белков и пептидов проводили с использованием жидкостного хроматографа (ВЭЖХ системы) на колонке Superdex peptide (1,0 × 30,0 см), буфер 0,1 N NaCI-20 mM Tris-HCI (pH 8,0).

Образцы фильтровали через микрофильтр Whatman (0,45 μm PVDF) и наносили на колонку (объем 1000 мкл). Скорость потока составляла 2 мл/мин, λ = 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), используя сравнение времен удерживания.

Определение содержания белка. Концентрацию белка определяли по методу Фолина-Чекольте, используя в качестве стандарта овальбумин (Sigma Aldrich).

Статистический анализ. Эксперименты повторялись трижды, данные анализировали с помощью программного обеспечения Statistica release 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

Было исследовано два вида двустворчатых моллюсков — корбикула японская и мерценария, а также печень кеты. Для корректного сравнения величину антирадикальной активности относили к общему количеству белка в образце.

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 вследствие выделения низкомолекулярных пептидов из высокомолекулярных белков подтверждено и современными исследованиями (Korhonen et al., 1998; Hartman, Meisel, 2007).

Нами было установлено (рис. 1), что максимальная активность экстрактов была обнаружена в экстракте печени кеты (15,60 ± 0,52 ед.). При ферментативном гидролизе исследуемых мягких тканей наблюдалось достоверное ($P < 0,001$) увеличение антирадикальной активности для всех исследуемых образцов. После гидролиза антирадикальная активность в экстрактах корбикулы и мерценарии возросла в 1,9 раза, активность экстрактов печени кеты — в 1,3 раза.

Для оценки вклада отдельных пептидных компонентов с различными молекулярными массами, входящими в состав пептидных композиций, было проведено их фракционирование методом гель-фильтрации с последующим анализом антирадикальной активности полученных фракций.

Как видно из данных табл. 1, в водных экстрактах корбикулы преобладающей является фракция с молекулярной массой выше 9 кДа. Водные экстракты мягких

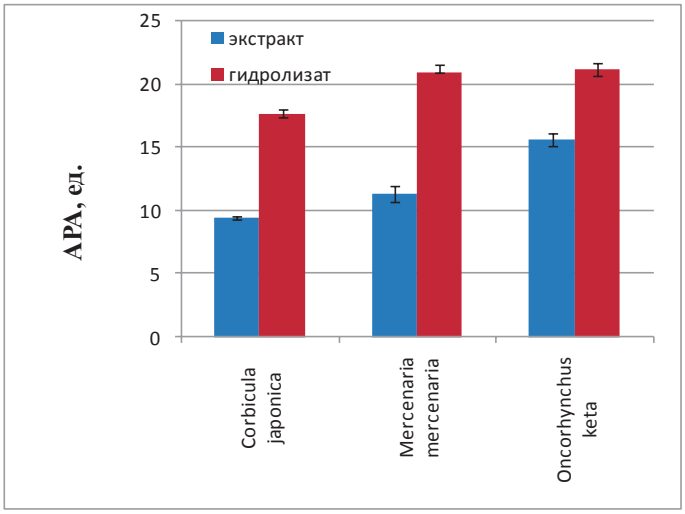


Рис. 1. Антирадикальная активность экстрактов и гидролизатов корбикулы, мерценарии и кеты, ед.

Fig. 1. Antiradical activity of extracts and hydrolyzates from corbicula, mercenaria and chum salmon, activity units

тканей мерценарии содержат 40 % белков с молекулярной массой менее 9,5 кДа, а преобладающей является фракция пептидов с молекулярной массой 3,2–4,8 кДа. В экстракте печени кеты основной является фракция пептидов с молекулярной массой от 3,0 до 4,7 кДа, содержание которых в экстракте составило 54 %.

Таблица 1

Молекулярно-массовое распределение белков и пептидов в водных экстрактах мягких тканей корбикулы, мерценарии и печени кеты

Table 1

Molecular weight (MW) of proteins and peptides in water extracts from soft tissues of corbicula and mercenaria and liver of chum salmon

Объект	Молекулярная масса, Да	Относительное содержание, %
C. japonica	≥ 9500	48,35
	3400–4700	29,75
	≤ 2200	21,89
M. mercenaria	≥ 9500	40,74
	3200–4800	55,02
	≤ 600	4,16
O. keta	9794,5	25,52
	3000–4700	54,41
	≤ 600	19,42

Анализ относительного вклада пептидных фракций в антирадикальную активность водных экстрактов показал, что максимальной АРА водных экстрактов корбикулы и мерценарии обладают фракции пептидов с молекулярной массой от 3,2 до 4,8 кДа (рис. 2, 3). Фракция белков с молекулярной массой выше 8 кДа также обладает антирадикальной активностью, но ее величина значительно ниже и составляет 3–5 ед. для мерценарии и 6–8 ед. для корбикулы. Максимальной активностью — 55,6 ед. — в водном экстракте мерценарии обладает пептидная фракция с молекулярной массой около 4,7 кДа. Максимальной активностью — 43 ед. — в водном экстракте корбикулы обладает фракция с молекулярной массой 4,3 кДа. Содержание пептидов фракции, обладающей антирадикальной активностью, составило 55,02 и 29,75 % общего количества пептидов соответственно для мерценарии и корбикулы (табл. 1). Фракция пептидов с молекулярной массой ниже 3 кДа, включающая низкомолекулярные пептиды и свободные аминокислоты, антирадикальной активностью не обладает. Фракционный состав водного экстракта печени кеты характеризуется тремя группами белковых и пептидных фракций. Можно четко выделить фракцию высокомолекулярных белков с молекулярной массой выше 8,0 кДа, фракцию пептидов с молекулярной массой от 3,0 до 4,5 кДа и низкомолекулярную фракцию пептидов и свободных аминокислот. Все

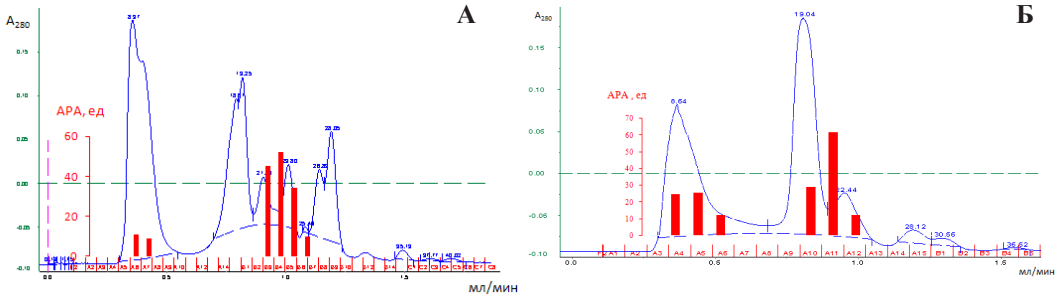


Рис. 2. Фракционный состав белков и пептидов водного экстракта мягких тканей корбикулы (**А**) и мерценарии (**Б**) и величина антирадикальной активности отдельных фракций (■)

Fig. 2. Molecular weight composition of proteins and peptides in water extracts from soft tissues of corbicula (**А**) and mercenaria (**Б**) and antiradical activity of certain weight fractions (■)

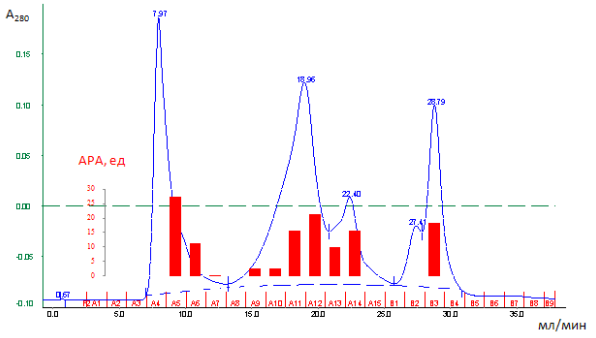


Рис. 3. Фракционный состав белков и пептидов водного экстракта печени кеты и величина антирадикальной активности отдельных фракций

Fig. 3. Molecular weight composition of proteins and peptides in water extract from liver of chum salmon and antiradical activity of certain weight fractions

три фракции водного экстракта печени кеты обладают АРА (рис. 3). Максимальная активность установлена для низкомолекулярной фракции пептидов и свободных аминокислот с молекулярной массой менее 0,6 кДа. Активность этой фракции составила 41 ед., что ниже максимальной активности отдельных пептидных фракций водных экстрактов мерценарии и корбикулы. Активность пептидов водного экстракта печени кеты с молекулярной массой от 3,0 до 4,5 кДа изменялась от 7 до 29 ед. Активность высокомолекулярной фракции составила в среднем 4,5 ед. (от 1 до 7 ед. для разных фракций).

Гидролиз белков исследуемых объектов приводит к достоверному увеличению фракции низкомолекулярных пептидов с молекулярной массой 3,0–4,5 кДа на 22,1, 14,5 и 11,1 % соответственно для корбикулы, мерценарии и печени кеты. При ферментативном гидролизе белков наблюдается снижение относительной доли высокомолекулярных белков с 48,35 до 17,14 % для корбикулы и с 40,74 до 10,73 % для мерценарии (табл.

Таблица 2

Молекулярно-массовое распределение белков и пептидов в ферментных гидролизатах мягких тканей корбикулы, мерценарии и печени кеты

Table 2

Molecular weights of proteins and peptides in enzyme hydrolyzates from soft tissues of corbicula and mercenaria and liver of chum salmon

Объект	Молекулярная масса, Да	Относительное содержание, %
C. japonica	≥ 8 000	17,14
	2800–4700	51,88
	≤ 500	30,98
M. mercenaria	≥ 8000	10,73
	3000–4600	69,68
	≤ 500	19,29
O. keta	≥ 8000	3,99
	2900–4400	65,52
	≤ 5 00	30,33

2). Доля низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот возросла на 9,09 и 15,13 % соответственно для корбикулы и мерценарии. Увеличение содержания пептидной фракции в гидролизате приводит к достоверному увеличению антирадикальной активности гидролизатов по сравнению с антирадикальной активностью водных экстрактов.

Была обнаружена корреляция между увеличением содержания пептидной фракции с молекулярной массой 3–4 кДа и увеличением АРА (рис. 4). При гидролизе тканей во всех исследуемых объектах происходит высвобождение пептидов с молекулярной массой 3–4 кДа. Одновременно происходит рост величины АРА. Также наблюдается прямая корреляция между содержанием низкомолекулярных пептидов и общей антирадикальной активностью гидролизата (рис. 4).

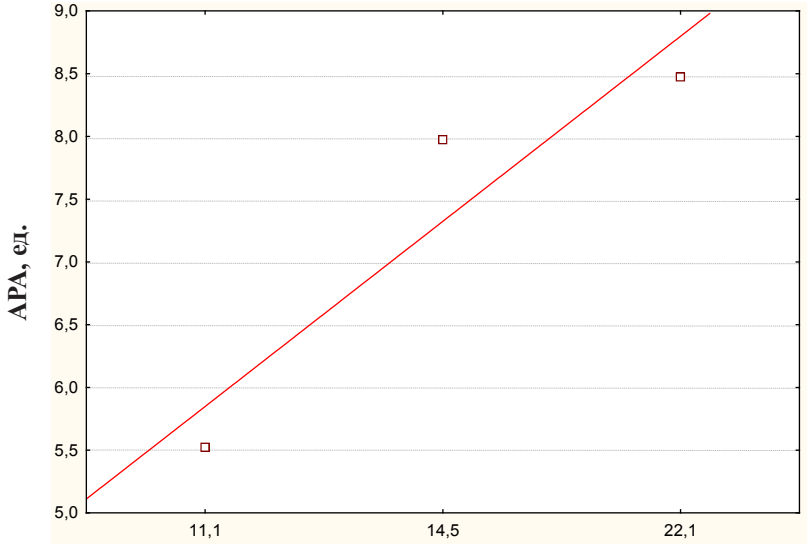


Рис. 4. Зависимость антирадикальной активности от доли пептидов с молекулярной массой 3–4 кДа

Fig. 4. Dependence of antiradical activity on portion of peptides with molecular weight 3–4 kDa

Проведен анализ относительного вклада пептидных фракций в антирадикальную активность ферментных гидролизатов. Антирадикальной активностью в гидролизатах обладают только пептиды с молекулярной массой в диапазоне 2,8–4,7 кДа для корбикулы и 3,0–4,6 кДа для мерценарии (рис. 5).

Активность изменялась от 1 до 24 ед. для пептидной фракции гидролизата мерценарии, что ниже максимальной активности отдельных пептидных фракций водного экстракта тканей мерценарии (где активность достигала 55 ед.). Для гидролизата корбикулы активность изменялась от 13 до 76 ед., что превышает максимальную активность отдельных пептидных фракций водного экстракта корбикулы, в которых максимальная активность достигала 52 ед.

Результаты анализа антирадикальной активности отдельных фракций гидролизатов печени кеты приведены на рис. 6.

Как и в случае гидролизатов мягких тканей двустворчатых моллюсков, в гидролизате печени кеты АРА обладала только фракция низкомолекулярных пептидов с молекулярной массой 2,7–4,5 кДа. Максимальная АРА отдельных фракций гидролизата печени кеты достигала 40 ед. Это согласуется с литературными данными (Чепкасова и др., 2014), где было показано, что только пептидная фракция печени кеты с молекулярной массой 1–10 кДа обладает АРА.

Рис. 5. Фракционный состав белков и пептидов гидролизата мягких тканей корбикулы (**А**) и мерценарии (**Б**) и величина антирадикальной активности отдельных фракций

Fig. 5. Molecular weight composition of proteins and peptides in enzyme hydrolyzate from soft tissues of corbicula (**А**) and mercenaria (**Б**) and antiradical activity of certain weight fractions

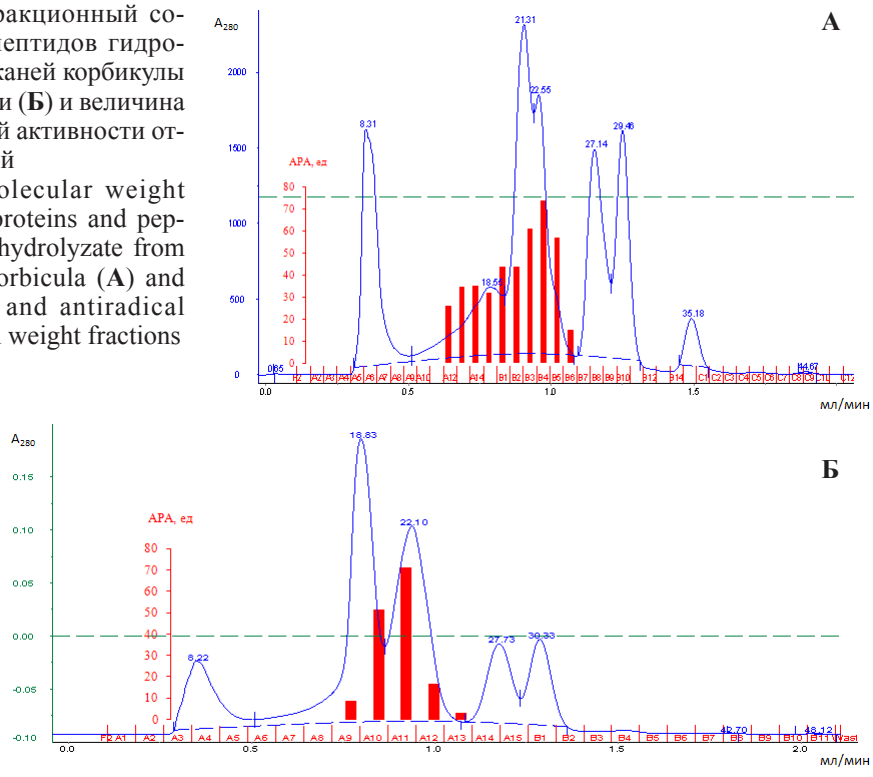
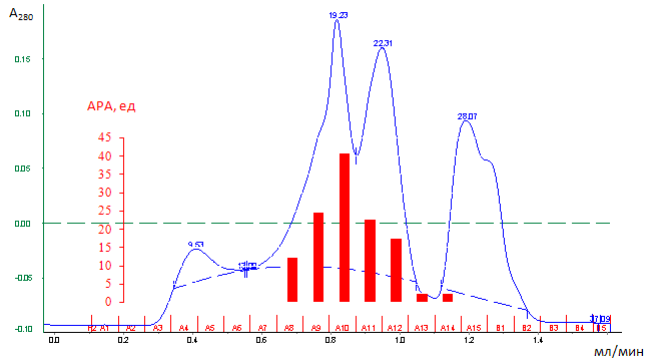


Рис. 6. Фракционный состав белков и пептидов гидролизата печени кеты и величина антирадикальной активности отдельных фракций

Fig. 6 Molecular weight composition of proteins and peptides in enzyme hydrolyzate from liver of chum salmon and antiradical activity of certain weight fractions



Заключение

Исследования показали, что белковые композиции экстрактов исследуемых объектов различаются по молекулярно-массовому распределению белков, пептидов и свободных аминокислот. Ферментативный гидролиз способствует увеличению антирадикальной активности. Увеличение активности связно с повышением количества низкомолекулярных пептидных фракций. Это подтверждает целесообразность применения процесса ферментативного гидролиза при разработке технологии получения биологически активных добавок к пище.

Показана зависимость антирадикальной активности от количества пептидов. В гидролизатах исследуемых двустворчатых моллюсков антирадикальной активностью обладает только фракция пептидов с молекулярной массой 2,5–4,5 кДа. В экстракте печени кеты АРА обладают фракции низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот с молекулярной массой ниже 4 кДа.

Список литературы

Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Пептидные тимомиметики : моногр. — СПб. : Наука, 2000. — 158 с.

Хавинсон В.Х., Кветная Т.В. Регуляторные пептиды и гомеостаз // Журн. российского хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. — 2005. — Т. 49, № 1. — С. 112–117.

Чепкасова А.И., Аюшин Н.Б., Якуш Е.В. Состав и свойства водорастворимого препарата из печени лососей // Изв. ТИНРО. — 2014. — Т. 178. — С. 253–260.

Ahn Chang-Bum, Kim Jeong-Gyun, Je Jae-Young. Purification and antioxidant properties of octapeptide from salmon byproduct protein hydrolysate by gastrointestinal digestion // Food Chemistry. — 2014. — Vol. 147. — P. 78–83.

Chalamaiah M., Kumar D., Hemalatha R., Jyothirmayi T. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications // Review. Food Chem. — 2012. — Vol. 135. — P. 3020–3038.

Chijimatsu T., Tatsuguchi I., Oda H., Mochizuki S. Freshwater clam (*Corbicula fluminea*) extract reduces cholesterol level and hepatic lipids in normal rats and xenobiotics-induced hypercholesterolemic rats // J. Agric. Food. Chem. — 2009. — Vol. 57. — P. 3108–3112.

Girgih A.T., Udenigwe C.C., Hasan F.M. et al. Antioxidant properties of Salmon (*Salmo salar*) protein hydrolysate and peptide fractions isolated by reverse-phase HPLC // Food Research International. — 2013. — Vol. 52, № 1. — P. 315–322.

Harada K., Maeda T., Hasegawa Y. et al. Antioxidant activity of fish sauces including puffer (*Lagocephalus wheeleri*) fish sauce measured by the oxygen radical absorbance capacity method // Molecular Medicine Reports. — 2010. — Vol. 3, № 4. — P. 663–668.

Hartman R., Meisel H. Food derived peptides with biological activity: From research to food applications // Current Opinion in Biotechnology. — 2007. — Vol. 18. — P. 163–169.

Hsu C.L., Hsu C.C., Yen G.C. Hepatoprotection by freshwater clam extract against CCl4-induced hepatic damage in rats // Am. J. Chin. Med. — 2010. — Vol. 38. — P. 881–894.

Jia J., Zhou Y., Lu J. et al. Enzymatic hydrolysis of Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin and antioxidant activity of the resulting hydrolysate // J. Sci. Food and Agriculture. — 2010. — Vol. 90. — P. 635–640.

Ko J.Y., Lee J.H., Samarakoon K. et al. Purification and determination of two novel antioxidant peptides from flounder fish (*Paralichthys olivaceus*) using digestive proteases // Food and Chemical Toxicology. — 2013. — Vol. 52. — P. 113–120.

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.

Kumar N.S.S., Nazeer R.A., Jaiganesh R. Purification and biochemical characterization of antioxidant peptide from horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) viscera protein // Peptides. — 2011. — Vol. 32. — P. 1496–1501.

Lee Y.S., Noguchi T., Naito H. Intestinal absorption of calcium in rats given diets containing casein: the role of casein phosphopeptides // Br. J. Nutr. — 1983. — Vol. 49. — P. 67–76.

Leng B., Liu X.D., Chen Q.X. et al. Inhibitory effects of anticancer peptide from Mercenaria on the BGC-823 cells and several enzymes // FEBS Lett. — 2005. — Vol. 579(5). — P. 1187–1190.

Maruyama S., Nakagomi K., Tomizuka N., Suzuki H. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein // Agric Biol. Chem. — 1985. — Vol. 49. — P. 1405–1409.

Mendis E., Rajapakse N., Byun H.G., Kim S.K. Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their in vitro antioxidant effects // Life Sci. — 2005. — Vol. 17. — P. 2166–2178.

Nazeer R.A., Sampath Kumar N.S., Jai Ganesh R. In vitro and in vivo studies on the antioxidant activity of fish peptide isolated from the croaker (*Otolithes ruber*) muscle protein hydrolysate // Peptide. — 2012. — Vol. 35. — P. 261–268.

Qin L., Zhu B.W., Zhou D.Y. et al. Preparation and antioxidant activity of enzymatic hydrolysates from purple sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*) gonad // LWT-Food Sci. Technol. — 2011. — Vol. 44. — P. 1113–1118.

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

Zhou X., Wang C., Jiang A. Antioxiant peptides isolated from sea cucumber *Stichopus japonicus* // Eur. Food Res. Technol. — 2012. — Vol. 234. — P. 441–447.

Поступила в редакцию 22.05.15 г.