

ТЕХНОЛОГИЯ ОБРАБОТКИ ГИДРОБИОНТОВ
TECHNOLOGY OF HYDROBIONTS PROCESSING

Научная статья

УДК 594-1.05

DOI: 10.26428/1606-9919-2022-202-692-705

EDN: GOPEZD

**АНТИРАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПЕПТИДОВ ГИДРОБИОНТОВ****Е.П. Караулова, Т.Н. Слуцкая, Е.В. Якуш***

Тихоокеанский филиал ВНИРО (ТИНРО),

690091, г. Владивосток, пер. Шевченко, 4

Аннотация. Исследована антирадикальная активность (АРА) водорастворимых компонентов тканей 26 видов гидробионтов из семи классов: двустворчатые и головоногие моллюски, высшие раки, голотурии, морские звезды, морские ежи и лучеперые рыбы. Высокая антирадикальная активность (мг аск. к-ты/г) установлена для морской звезды патирии гребешковой (5,21); двустворчатых моллюсков: корбикула японская, мерценария Стивенса, спизула сахалинская и глицемерис — соответственно 5,10; 1,15; 1,36 и 1,08; для гонад серого и черного морских ежей — соответственно 2,18 и 2,21. Достоверная корреляция была обнаружена между содержанием низкомолекулярных пептидов с молекулярной массой от 1 до 5 кДа и общей АРА ($r = 0,801$, $r^2 = 0,642$).

Ключевые слова: антирадикальная активность, дифенилпикрилгидразил, 2,2'-азинобис 3-этилбензотиазолин-6-сульфонат, низкомолекулярные пептиды, гидробионты

Для цитирования: Караулова Е.П., Слуцкая Т.Н., Якуш Е.В. Антирадикальные свойства пептидов гидробионтов // Изв. ТИНРО. — 2022. — Т. 202, вып. 3. — С. 692–705. DOI: 10.26428/1606-9919-2022-202-692-705. EDN: GOPEZD.

Original article

Antiradical properties of peptides from hydrobionts**Ekaterina P. Karaulova*, Tatiana N. Slutskaia**, Eugeny V. Yakush******, **, *** Pacific branch of VNIRO (TINRO), 4, Shevchenko Alley,
Vladivostok, 690091, Russia

* Ph.D., senior researcher, karaulova2002@yandex.ru, ORCID 0000-0001-8508-9603

** D.Tech., professor, tatyana.slutskaia@tinro-center.ru, ORCID 0000-0002-3228-3047

*** Ph.D., deputy director, evyakush@mail.ru, ORCID 0000-0001-7837-5943

Abstract. Antiradical activity of water-soluble components of tissues is investigated for 26 species of marine organisms belonged to 7 classes: Bivalvia, Cephalopoda, Malacostraca, Holothuroidea, Asteroidea, Echinoidea, and Actinopterygii. Molecular weight of the proteins and peptides was measured in the water extracts using the modular liquid chromatograph (Agilent Technologies 1260 Infinity, USA) with UV detection at 280 nm in TSK gel column G

* Караулова Екатерина Павловна, кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, karaulova2002@yandex.ru, ORCID 0000-0001-8508-9603; Слуцкая Татьяна Ноевна, доктор технических наук, профессор, tatyana.slutskaia@tinro-center.ru, ORCID 0000-0002-3228-3047; Якуш Евгений Валентинович, кандидат химических наук, первый заместитель руководителя филиала, evyakush@mail.ru, ORCID 0000-0001-7837-5943.

© Караулова Е.П., Слуцкая Т.Н., Якуш Е.В., 2022

3000PWL 7.8 mm I.D. × 30 cm (TOSOH Corporation, Japan) under flow rate of 0.3 mL/min and temperature of 25 °C. All samples were twice prepared and double measured. The mobile phase consisted of 0.1 N NaCl 20 mM Tris-HCl buffer with pH 7.8. The following standard protein samples were used as a reference for the molecular weight measurement: bovine serum albumin (MW 66.3 kDa), egg albumin (44.3 kDa), myoglobin (18.0 kDa), cytochrome C (12.4 kDa), aprotinin (6.5 kDa), and bacitracin (1.4 kDa) (Sigma-Aldrich Co., USA). All samples were filtered before injection through 0.2 µm syringe filter (Whatman, PVDF). Molecular weight of peptides was calculated by the elution time. Scavenging effect on DPPH free radical was measured by Molyneux method and on ABTS radical – by the method proposed by Re et al. The maximum antiradical activity (measured by mg of ascorbic acid per 1 g) was found for the tissue of *Patiria pectinifera* (5.21), its various values were determined for the tissue of bivalve mollusks (*Corbicula japonica*, *Mercenaria stimpsoni*, *Spisula sachalinensis*, and *Glycymeris yessoensis* — 5.10; 1.15; 1.36 and 1.08, respectively) and medium values — for gonads of *Strongylocentrotus intermedius* and *S. nudus* (2.18 and 2.21, respectively). The amount of proteins and peptides with low molecular weight (1–5 kDa) correlated well with the radical scavenging activity (Pearson correlation coefficient 0.801, $r^2 = 0.642$).

Keywords: antiradical activity, diphenylpicrylhydrazyl, 2,2'-azinobis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate, low molecular weight peptide, marine organism

For citation: Karaulova E.P., Slutskaia T.N., Yakush E.V. Antiradical properties of peptides from hydrobionts, *Izv. Tikhookean. Nauchno-Issled. Inst. Rybn. Khoz. Okeanogr.*, 2022, vol. 202, no. 3, pp. 692–705. (In Russ.). DOI: 10.26428/1606-9919-2022-202-692-705. EDN: GOPEZD.

Введение

В настоящее время известно, что большинство патологических состояний биологических систем живых организмов вызывает нарушение нормального уровня свободных радикалов в органах и тканях. Это относится к естественному процессу старения, сердечно-сосудистым заболеваниям, воспалительным явлениям, ожогам и прямо или косвенно к онкологическим заболеваниям [Alkadi, 2020]. Лекарственная или диетическая коррекция подобных нарушений введением экзогенных антиоксидантов стала ведущим направлением в современных фармакологических и клинических работах [Wan et al., 2006; Gairin et al., 2015]. Существует широкий спектр препаратов для подавления реакций свободнорадикального окисления. Но их использование зачастую сопряжено с побочными или кумулятивными эффектами, такими как токсичность некоторых антиоксидантов, например фенольных, а также возможное вытеснение эндогенных антиоксидантов [Zadák et al., 2009; Halliwell, 2013; Salehi et al., 2018; Wang et al., 2021]. При этом природные антиоксиданты обладают рядом преимуществ по сравнению с синтетическими, включая отсутствие побочных и суммарных эффектов, а также более низкую токсичность [Arias et al., 2022; Islam et al., 2022].

В связи с этим становится актуальным поиск новых антиоксидантных природных компонентов, особенно являющихся потенциально пищевыми.

Важность антиоксидантов признается Всемирной организацией здравоохранения, которая рекомендует пищевой путь поступления этих соединений в организм*.

Основными классами природных антиоксидантов являются каротиноиды, фосфолипиды, фенольные соединения и пептиды.

В научной литературе описано более 100 антиоксидантных пептидов, обладающих биологической активностью, выделенных из различных источников, а также полученных при конверсии белков с использованием ферментов и/или микроорганизмов [Dziuba and Dorewicz, 2007; Sarmadi, 2010]. Особенностью пептидов гидробионтов является то, что они позволяют достаточно быстро повысить сопротивляемость организма к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды путем ослабления влияния свободных радикалов и играют существенную роль в поддержании антиоксидантного

* Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation (WHO Tech. Rep. Ser.; no. 916). Geneva: WHO, 2003. 149 p.

статуса живых систем [Jung et al., 2007; Qian et al., 2008; Chi et al., 2010; Kim et al., 2013; Liu et al., 2015].

Это позволяет отнести пептидные антиоксиданты из гидробионтов к биологически активным компонентам, способствующим замедлению возрастных и стресс-индуцированных изменений в организме. Таким образом, изучение и выделение природных пептидных антиоксидантов из гидробионтов представляется актуальным.

Целью данного исследования являлась сравнительная оценка антирадикальной активности (АРА) тканей гидробионтов для обоснования перспектив использования их как потенциальных источников биологически активных веществ.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали ткани двустворчатых моллюсков: анадара Броутона *Anadara broughtonii*, глицемерис приморский *Glycymeris yessoensis*, гребешок приморский *Patinopecten yessoensis*, дозиния японская *Dosinia japonica*, каллиста короткосифонная *Callista brevisiphonata*, корбикула японская *Corbicula japonica*, мактра китайская *Macra chinensis*, мерценария Стимпсона *Mercenaria stimpsoni*, мидия Грея *Crenomytilus grayanus*, серрипес гренландский *Serripes groenlandicus*, спизула сахалинская *Spisula sachalinensis*, устрица тихоокеанская *Crassostrea gigas*; головоногих моллюсков: кальмар тихоокеанский *Todarodes pacificus*; ракообразных: камчатский краб *Paralithodes camtschaticus*, краб-стригун *Chionoecetes opilio*; иглокожих: трепанг дальневосточный *Apostichopus japonicus*, гребешковая патирия *Patiria pectinifera*, амурская звезда *Asterias amurensis*, луидия двуиглая *Luidia quinaria bispinosa*; серый морской еж *Strongylocentrotus intermedius*, черный морской еж *Strongylocentrotus nudus*; лучеперых рыб: дальневосточный минтай *Theragra chalcogramma*, камбала Надежного *Acanthopsetta nadeshnyi*; в том числе осетровых — стерлядь *Acipenser ruthenus* и лососевых — кета *Oncorhynchus keta*, горбуша *Oncorhynchus gorbuscha*.

Образцы моллюсков для анализа заготавливали на НИС «Убежденный» в августе 2019–2021 гг. в подзоне Приморье. Образцы ракообразных — на НИС «Дмитрий Песков» в июле 2019 г. на шельфе Северо-Охотоморской подзоны. Образцы кеты и горбуши — на НИС «ТИНРО» в августе-сентябре 2021 г. в Камчатско-Курильской подзоне. Минтай и камбала были заготовлены на НИС «Дмитрий Песков» в июне 2021 г. на северных Курильских островах. Все гидробионты были половозрелые, промыслового размера. Образцы рыб, моллюсков и ракообразных замораживали при -18°C и доставляли в лабораторию для анализа. Морских звезд и морские ежи собирали в Уссурийском и Амурском заливах Японского моря в августе-сентябре 2021 г. и доставляли в лабораторию в живом виде.

Для получения экстрактов исследуемые ткани гомогенизировали с холодной дистиллированной водой в соотношении 1 : 1 10 мин, при 4°C , скорости 8,5 тыс. об./мин (Ika 25T basic, IKA Works Inc., Wilmington, N.C., USA). Полученные гомогенаты центрифугировали при 5 тыс. об./мин 15 мин при 4°C (Hitachi RX II series). Экстракты фильтровали через микрофильтр Whatman ($0,45\ \mu\text{m}$ PVDF).

Анализ молекулярно-массового состава белков и пептидов и фракционирование проводили с использованием жидкостного хроматографа высокого давления Agilent Technologies 1260, колонка TSKgel G 3000PWXL, подвижная фаза 0,1 N NaCl-20 mM Tris-HCl, pH 8,0, изократический режим элюирования. Образцы для анализа фильтровали через микрофильтр Whatman ($0,2\ \mu\text{m}$ PVDF) и наносили на колонку (объем 20–200 мкл). Скорость потока составляла 0,1–0,3 мл/мин, $\lambda = 280, 254\ \text{nm}$.

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

Содержание азота определяли на анализаторе «Kjeltec Auto 1030 Analyser».

Суммарную АРА определяли по методу Molyneux (Molyneux, 2004). К 200 мкл исследуемого раствора добавляли 200 мкл этанола и 100 мкл 0,1 mM дифенилпикрил-

гидразила (ДФПГ) в этаноле. Смесь оставляли в темноте при 18 °С на 30 мин. Оптическую плотность раствора определяли при 517 нм на планшетном спектрофотометре Polarstar Omega. Величину АРА выражали в единицах активности, равных количеству миллиграммов аскорбиновой кислоты на грамм сухого вещества (мг аск. к-ты/г).

Антирадикальную активность с 2,2'-азинобис 3-этилбензотиазолин-6-сульфонатом (АБТС) определяли по методу Re [Re et al., 1999]. В качестве стандартного антиоксиданта использовали 2,5 мМ Тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота). Катион-радикал АБТС получали реакцией между раствором, содержащим 7 мМ АБТС, и 2,45 мМ персульфатом калия в темноте при 4 °С в течение 12–16 ч. В ходе реакции к 15 мкл исследуемого раствора добавляли 280 мкл АБТС. Смесь оставляли в темноте при 18 °С на 5 мин. Оптическую плотность раствора определяли при 734 нм на планшетном спектрофотометре Polarstar Omega. Величину АРА выражали в единицах моль эквивалента Тролокса на грамм сухого вещества (моль Тролокс экв./г).

Полученные данные анализировали с помощью программного обеспечения Statistica 7, результаты выражены в виде среднего со стандартным отклонением, значения с 95 %-ным доверительным интервалом ($p < 0,05$) принимались как статистически значимые. Корреляционно-регрессионный анализ выполняли с использованием метода Пирсона.

Результаты и их обсуждение

Особенности химического состава исследуемых объектов позволяют разделить их на высокобелковые — с содержанием белка выше 18–20 %, к которым относятся головоногие моллюски, ракообразные (крабы) и большинство видов рыб; среднебелковые (двустворчатые моллюски, за исключением корбикулы) — с содержанием белка 15–18 % и низкобелковые (корбикула, морские звезды, трепанг, морские ежи) — с содержанием белка ниже 15 %. Исходя из того что антирадикальными свойствами обладают пептидные фрагменты, можно предположить, что наибольшей АРА будут обладать гидробионты, ткани которых характеризуются высоким содержанием белка. Тем не менее согласно литературным данным [Zhou et al., 2012; Ko et al., 2013] биологическая активность не всегда положительно коррелирует с общим содержанием белка в тканях. Антирадикальное действие больше зависит от фракционного и аминокислотного состава водорастворимых белков и пептидов [Adeoye et al., 2018].

При характеристике антиоксидантных свойств пептидных композиций целесообразно оперировать понятием антиоксидантной емкости, обычно выражаемой числом эквивалентов стандарта на единицу массы или объема материала [Huang et al., 2005; Prior et al., 2005; Moon, Shibamoto, 2009]. Выражение АРА в стандартизованных единицах необходимо для сравнения антиоксидантных свойств различных соединений и композиций, а также для сопоставления полученных результатов.

В качестве стандартов в международной практике используется водорастворимый аналог витамина Е — Тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота), аскорбиновая или галловая кислоты [Somogyi et al., 2007]. В качестве свободных радикалов используются ДФПГ [Molyneux, 2004] или АБТС [Re et al., 1999]. Степень нейтрализации свободных радикалов изучаемым антиоксидантом сравнивают с эффектом известного количества стандартного антиоксиданта.

Полученные данные по АРА водорастворимых компонентов тканей исследуемых гидробионтов приведены в табл. 1.

При анализе результатов установлено, что корреляция между двумя примененными методами оценки АРА высокая, коэффициент корреляции Пирсона составляет 0,88, связь между исследуемыми признаками прямая, сила связи по шкале Чеддока высокая, зависимость признаков статистически значима ($p < 0,0005$), коэффициент детерминации r^2 превышает 0,8. Сделано заключение, что объективно оценить величину АРА водорастворимых компонентов экстрактов тканей гидробионтов и учесть

Характеристика водорастворимых компонентов тканей гидробионтов
Table 1
Characteristics of water-soluble components of tissues of hydrobionts

Образец	Антирадикальная активность		Доля сарко- плазматических белков, % от общего содержания белка
	Мг аск. к-ты/г	ММ Тролокс экв./г	
Двустворчатые моллюски			
Анадара Броутона <i>A. broughtonii</i>	0,46 ± 0,01	0,031 ± 0,001	21,3 ± 0,1
Глицемерис приморский <i>G. yessoensis</i>	1,08 ± 0,04	0,072 ± 0,001	32,9 ± 0,3
Гребешок приморский <i>P. yessoensis</i>	0,41 ± 0,01	0,064 ± 0,001	25,6 ± 0,4
Дозиния японская <i>D. japonica</i>	0,47 ± 0,01	0,061 ± 0,001	31,4 ± 0,4
Каллиста короткосифонная <i>C. brevisiphonata</i>	7,30 ± 0,85	0,195 ± 0,010	53,5 ± 0,7
Корбикула японская <i>C. japonica</i>	5,10 ± 0,74	0,112 ± 0,002	20,3 ± 0,5
Мактра китайская <i>M. chinensis</i>	0,36 ± 0,02	0,061 ± 0,001	29,5 ± 0,1
Мерценария Стимпсона <i>M. stimpsoni</i>	1,15 ± 0,08	0,083 ± 0,002	68,9 ± 0,4
Мидия Грея <i>G. grayanus</i>	0,61 ± 0,02	0,069 ± 0,002	16,9 ± 0,1
Серрипес гренландский <i>S. groenlandicus</i>	0,49 ± 0,01	0,058 ± 0,001	24,3 ± 0,9
Спизула сахалинская <i>S. sachalinensis</i>	1,36 ± 0,12	0,081 ± 0,003	27,6 ± 0,4
Устрица тихоокеанская <i>C. gigas</i>	0,46 ± 0,01	0,059 ± 0,001	19,8 ± 0,1
Головоногие моллюски			
Кальмар тихоокеанский <i>T. pacificus</i> , мантия	0,35 ± 0,01	0,061 ± 0,002	31,8 ± 0,2
Голотурии			
Трепанг <i>A. japonicus</i>	2,70 ± 0,59	0,112 ± 0,009	25,1 ± 0,3
Морские звезды			
Гребешковая патирия <i>P. pectinifera</i> : целиком внутренности	0,79 ± 0,05 5,21 ± 0,04	0,041 ± 0,001 0,184 ± 0,007	32,6 ± 0,4 21,3 ± 0,7
	Амурская звезда <i>A. amurensis</i> : целиком внутренности	0,43 ± 0,02 1,14 ± 0,08	0,040 ± 0,001 0,091 ± 0,010
Луидия двуйглая <i>L. quinaria bispinosa</i> : целиком внутренности	0,38 ± 0,01 1,57 ± 0,08	0,042 ± 0,001 0,105 ± 0,021	34,7 ± 0,7 23,4 ± 0,1
	Морские ежи		
Серый морской еж <i>S. intermedius</i> : внутренности гонады	0,34 ± 0,01 2,18 ± 0,94	0,030 ± 0,001 0,120 ± 0,007	19,8 ± 0,5 18,5 ± 0,4
	Черный морской еж <i>S. nudus</i> : внутренности гонады	2,89 ± 0,72 2,21 ± 0,09	0,120 ± 0,001 0,120 ± 0,001
Членистоногие			
Краб камчатский <i>P. camtschaticus</i> , мышечная ткань	0,83 ± 0,01	0,090 ± 0,001	45,6 ± 0,7
Краб опилио <i>Ch. opilio</i> , мышечная ткань	2,67 ± 0,56	0,120 ± 0,001	51,2 ± 0,1
Лучеперые рыбы			
Минтай дальневосточный <i>Th. chalcogramma</i> : мышечная ткань внутренности	0,37 ± 0,01 0,22 ± 0,01	0,020 ± 0,001 0,020 ± 0,001	43,8 ± 0,8 32,1 ± 0,3
	Камбала Надежного <i>A. nadeshnyi</i> : мышечная ткань внутренности	0,91 ± 0,01 1,12 ± 0,04	0,060 ± 0,001 0,080 ± 0,002

Окончание табл. 1
Table 1 finished

Образец	Антирадикальная активность		Доля сарко- плазматических белков, % от общего содержания белка
	Мг аск. к-ты/г	ММ Тролокс экв./г	
Стерлядь <i>A. ruthenus</i> : мышечная ткань внутренности	0,35 ± 0,01 3,25 ± 0,75	0,030 ± 0,001 0,130 ± 0,001	39,7 ± 0,3 23,1 ± 0,9
Кета <i>O. keta</i> : мышечная ткань печень внутренности	1,20 ± 0,05 3,60 ± 0,12 1,91 ± 0,09	0,080 ± 0,001 0,120 ± 0,001 0,090 ± 0,002	41,3 ± 0,5 65,7 ± 0,1 32,4 ± 0,1
Горбуша <i>O. gorbuscha</i> : мышечная ткань печень	0,95 ± 0,01 0,71 ± 0,01	0,070 ± 0,003 0,050 ± 0,001	47,8 ± 0,4 54,3 ± 0,5

возможные эффекты взаимного влияния между веществами, входящими в состав многокомпонентных смесей, можно любым из указанных методов.

Как видно из данных табл. 1, АРА водорастворимых компонентов мягких тканей двустворчатых моллюсков находится в широких пределах: от 0,36 мг аск. к-ты/г для мактры китайской до 7,30 мг аск. к-ты/г для каллисты короткосифонной. Высокими значениями АРА характеризуются мягкие ткани корбикулы японской, мерценарии стимпсона, спизулы сахалинской и глицемериса: соответственно 5,10; 1,15; 1,36 и 1,08 мг аск. к-ты/г. Следует отметить высокую АРА внутренностей морской звезды патирии (5,21 мг аск. к-ты/г). Также высокой АРА характеризуются гонады морских ежей (2,18 и 2,21 мг аск. к-ты/г для серого и черного морских ежей) и внутренности черного морского ежа (2,89 мг аск. к-ты/г). Что же касается рыб, то установлена довольно высокая АРА мышечной ткани кеты (1,20 мг аск. к-ты/г). Мышечные ткани остальных исследуемых видов рыб, включая пресноводных, существенной АРА не обладали. При этом следует отметить достаточно высокую АРА внутренностей стерляди (3,25 мг аск. к-ты/г), а также печени кеты (3,60 мг аск. к-ты/г).

При сравнении представленных данных корреляции между АРА и общим содержанием белка в тканях исследуемых гидробионтов не установлено. Так, ткани анадары Броутона, характеризующиеся высокой долей общего белка (73,4 г/100 г сухих веществ), обладали достаточно низкой АРА (0,46 мг аск. к-ты/г), ткани корбикулы, напротив, при общем низком содержании белка (48,7 г/100 г сухих веществ), имели достаточно высокую АРА (5,10 мг аск. к-ты/г). Как было упомянуто выше, высокая АРА была определена для внутренностей морской звезды патирии гребешковой (5,21 мг аск. к-ты/г), хотя содержание белка в них было сопоставимо с содержанием белка во внутренностях других исследованных морских звезд.

Все исследуемые гидробионты можно условно разделить на три группы: с высокой АРА (более 2 мг аск. к-ты/г), средним уровнем (от 1 до 2 мг аск. к-ты/г) и с низкой АРА (менее 1 мг аск. к-ты/г). К объектам с высокой АРА относятся каллиста короткосифонная, корбикула японская, трепанг, гонады серого и черного морских ежей, внутренности морских звезд и черных морских ежей и некоторых рыб (кета, стерлядь, камбала).

Исследование взаимосвязи АРА и количества саркоплазматических белков мягких тканей гидробионтов не показало зависимости (рис. 1): коэффициент корреляции Пирсона — 0,495, коэффициент детерминации r^2 — 0,245.

Таким образом, опираясь на полученные результаты и учитывая данные литературы [Zhou et al., 2012; Ko et al., 2013; Adeoye et al., 2018], установили, что существуют отдельные водорастворимые компоненты системы, вносящие наибольший вклад в АРА исследуемой системы.

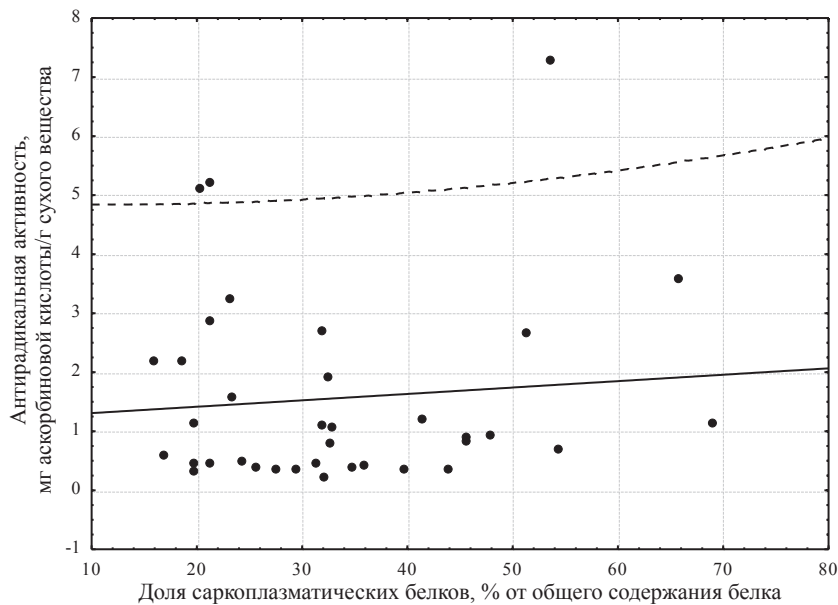


Рис. 1. Зависимость АРА (по ДФПГ радикалу) от общего содержания водорастворимых белковых компонентов мягких тканей гидробионтов

Fig. 1. Antiradical activity (DPPH radical) dependence on total content of water-soluble proteins in soft tissues of marine organisms

В связи с этим был выполнен ряд экспериментов по оценке взаимосвязи между фракционным молекулярно-массовым распределением водорастворимых белковых компонентов и АРА мягких тканей гидробионтов.

Эксперименты по хроматографическому разделению водных экстрактов тканей исследуемых гидробионтов методом гель-фильтрационной хроматографии позволили разделить все белковые и пептидные компоненты исследуемых экстрактов на четыре группы: с молекулярной массой более 10 кДа (группа I), от 5 до 10 кДа (группа II), от 1 до 5 кДа (группа III), с молекулярной массой менее 1 кДа (группа IV). Полученные данные по содержанию белковых и пептидных компонентов каждой молекулярной фракции были сопоставлены с АРА водных экстрактов тканей исследуемых гидробионтов (табл. 2).

Таблица 2

Корреляционная зависимость между количеством отдельных водорастворимых белковых компонентов и АРА водных экстрактов тканей гидробионтов

Table 2

Correlation coefficients between the amount of certain water-soluble proteins and total radical scavenging activity in water extracts of tissues of marine organisms

Группа белков	Коэффициент корреляции Пирсона	Сила связи по шкале Чеддока	Достоверность (p)	Коэффициент детерминации r^2
I	-0,483	Умеренная	< 0,005	0,234
II	-0,472	Умеренная	< 0,005	0,222
III	0,801	Высокая	< 0,0001	0,642
IV	0,060	Слабая	> 0,05	0,004

Как видно из данных табл. 2, АРА водорастворимых компонентов тканей исследуемых гидробионтов коррелирует с молекулярно-массовым распределением. Наблюдается обратная корреляция между долей белков групп I и II с АРА. При этом для I и II групп белков рассчитанный коэффициент корреляции был значимым, достоверность $p < 0,005$, коэффициент корреляции Пирсона — соответственно -0,483 и -0,472.

Высокая прямая достоверная корреляция между содержанием белковых компонентов и АРА была обнаружена для низкомолекулярных пептидов с молекулярной массой от 1 до 5 кДа ($p < 0,0001$). Полученные данные хорошо согласуются с литературными данными, которые свидетельствуют о том, что АРА обладают низкомолекулярные пептиды с молекулярной массой от 1 до 5 кДа [Ren et al., 2008; Hsu et al., 2009; You et al., 2009; Bougatef et al., 2010; Sarmadi, Ismail, 2010; Samaranayaka, Li-Chan, 2011; Николаев, 2012].

Графические зависимости АРА водных экстрактов тканей гидробионтов от доли белков и пептидов с определенной молекулярной массой приведены на рис. 2. Полученные данные показывают, что наиболее высокие значения АРА установлены для низкомолекулярных фракций с молекулярной массой от 1 до 5 кДа.

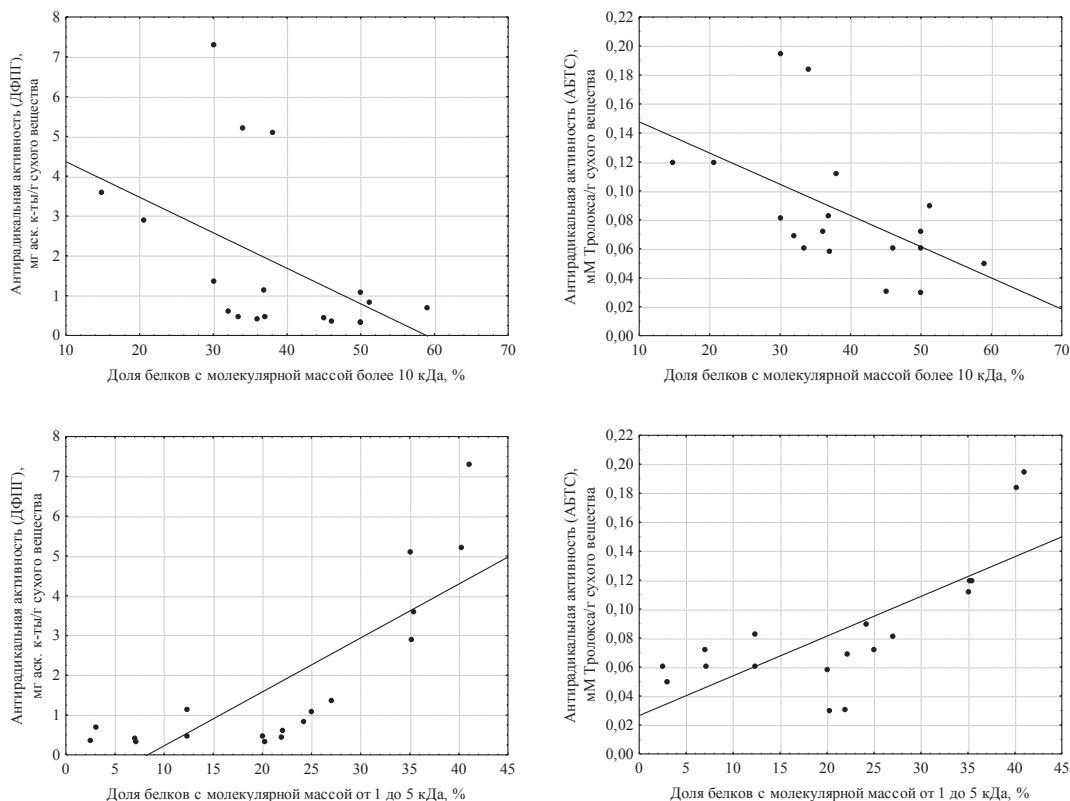


Рис. 2. Зависимость общей АРА водорастворимых фракций тканей гидробионтов от молекулярно-массового распределения белков и пептидов

Fig. 2. Dependence between total antiradical activity for water-soluble fractions of tissues of marine organisms and distribution of molecular weight for proteins and peptides

Анализ относительного вклада пептидных фракций в АРА на примере водных экстрактов корбикулы и мерценарии показал, что максимальной АРА обладают фракции пептидов с молекулярной массой от 1 до 5 кДа (рис. 3, А, Б). Фракция белков с молекулярной массой более 10 кДа также обладает АРА, ее величина составляет 4–7 % от общей АРА исследуемого экстракта. Максимальной активностью в водном экстракте мерценарии обладает пептидная фракция с молекулярной массой около 4,7 кДа, величина активности достигает 39 % от суммарной антирадикальной активности. Суммарная АРА пептидов корбикулы с молекулярной массой от 1 до 5 кДа превышает 90 % от всей активности экстракта, и, по всей видимости, именно эта фракция и определяет общую высокую АРА водорастворимых белков и пептидов тканей этого двусторчатого моллюска. Фракционный состав водного экстракта мидии содержит четыре группы белковых и пептидных фракций (рис. 3, В). Можно выделить фракцию

белков с молекулярной массой выше 10 кДа, фракцию белков с молекулярной массой от 5 до 10 кДа, группу пептидов с молекулярной массой от 1 до 5 кДа и низкомолекулярную фракцию пептидов и свободных аминокислот с молекулярной массой менее 1 кДа. Все четыре фракции водного экстракта мидии обладают АРА (рис. 3, В). При этом высокой АРА характеризуются пептидные фракции с молекулярной массой менее 5 кДа (низкомолекулярные пептиды и свободные аминокислоты). Антирадикальная активность белковых компонентов водного экстракта тканей мидии с молекулярной массой от 1 до 5 кДа составила 38 %. Суммарная активность пептидов с молекулярной массой менее 1 кДа составила 52 % от общей активности экстракта мидии.

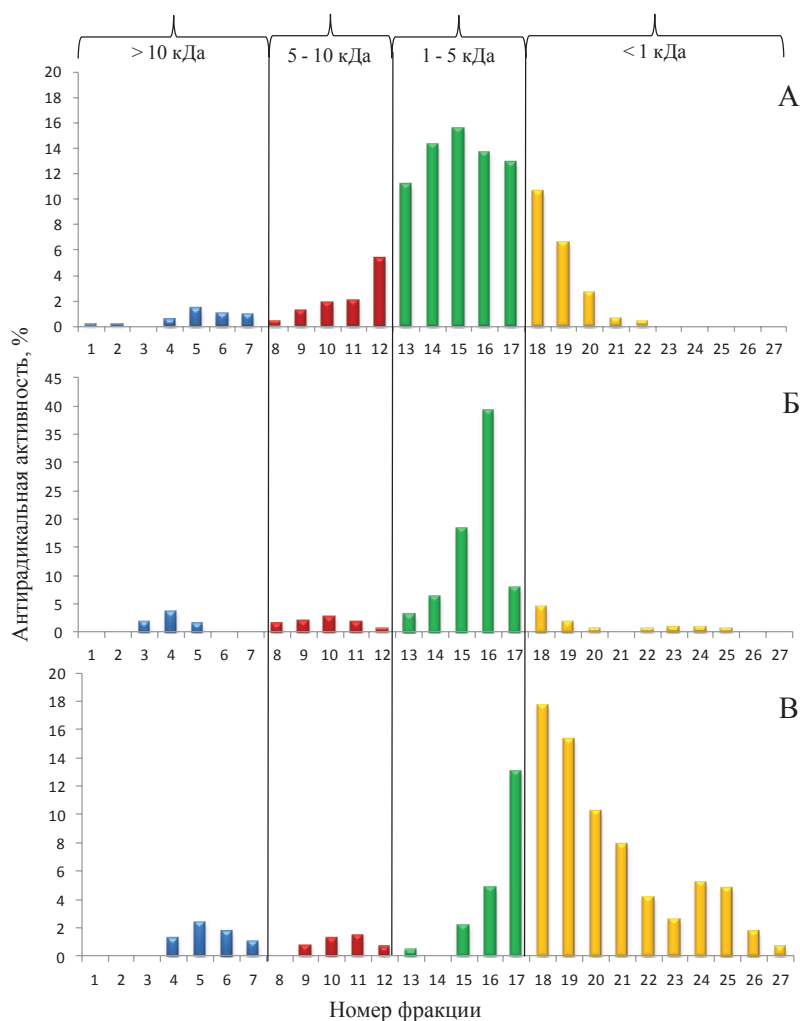


Рис. 3. Анализ вклада компонентов с различными молекулярными массами в антиоксидантную емкость белково-пептидных композиций водных экстрактов мягких тканей корбикулы (А), мерценарии (Б) и мидии Грея (В)

Fig. 3. Contribution of components with different molecular weight to the antioxidant capacity of protein-peptide compositions in water extracts of tissues of *Corbicula japonica* (A), *Mercenaria stimpsoni* (B), and *Crenomytilus grayanus* (V)

Таким образом, сопоставляя данные табл. 2 и рис. 2, 3, можно говорить о том, что высокая АРА водорастворимых компонентов экстрактов тканей исследуемых видов гидробионтов определяется в основном низкомолекулярными белковыми компонентами с молекулярной массой менее 5 кДа, что подтверждается данными литературы [Sila, Bougatef, 2016; Wong et al., 2019].

Выводы

Как было показано нами ранее, АРА коррелирует с различными типами общей биологической активности [Караулова и др., 2018]. Доказательства подобной зависимости приводятся во многих исследованиях [Chi et al., 2010; Najafian, Babji, 2012; Ahn et al., 2015; Dakrory et al., 2015; Yu et al., 2018].

Полученные данные об АРА внутренностей морских звезд, гонад морских ежей, внутренностей некоторых видов рыб позволяют с высокой степенью уверенности предполагать наличие и других типов биологической активности в органах и тканях этих объектов.

Разнообразие форм биологической активности, выявленных в гидробионтах, свидетельствует о высоком потенциале этих объектов для разработки БАД и продуктов функционального питания. Полученные результаты являются основанием для исследования комплексного воздействия биологически активных компонентов разной направленности на физиологический статус организма.

Расширение спектра гидробионтов за счет включения таких объектов, как морские звезды, гонады и внутренности черного морского ежа, внутренности некоторых видов рыб, позволит, с одной стороны, снизить негативную нагрузку на окружающую среду за счет уменьшения невозвратных отходов рыбоперерабатывающих производств, а с другой — предложить новые источники биологически активных веществ, позволяющих существенно улучшить качество жизни населения за счет включения в рацион природных безопасных регуляторов физиологических процессов.

Благодарности (ACKNOWLEDGEMENTS)

Коллектив авторов выражает глубокую благодарность сотрудникам Тихоокеанского филиала ВНИРО (ТИНРО), принимавшим участие в сборе образцов гидробионтов, использованных в подготовке материалов для данной статьи.

The authors are deeply grateful to their colleagues in TINRO for collecting samples of marine organisms used in the study.

Финансирование работы (FUNDING)

Исследование не имело спонсорской поддержки.

The study had no sponsor funding.

Соблюдение этических стандартов (COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS)

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с животными в качестве объектов.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

The article does not concern to animal studies.

The authors declare that they have no conflict of interest.

Информация о вкладе авторов (AUTHOR CONTRIBUTIONS)

Концепция исследования — Е.П. Караулова, Т.Н. Слущкая, Е.В. Якуш; проведение экспериментов, обработка данных, написание и редактирование статьи — Е.П. Караулова; редакторская правка Т.Н. Слущкая, Е.В. Якуш.

Research concept — E.P. Karaulova, T.N. Slutskaya, and E.V. Yakush; all experiments, data processing and analysis, text writing — E.P. Karaulova; editorial editing — T.N. Slutskaya and E.V. Yakush.

Список литературы

Караулова Е.П., Юн Х.Д., Ким Д.Г. и др. Исследование биологической активности тканей двусторчатых моллюсков // Изв. ТИНРО. — 2018. — Т. 195. — С. 253–264. DOI: 10.26428/1606-9919-2018-195-253-264.

- Николаев И.В.** Изучение механизмов антиоксидантного действия пептидов и их композиций : автореф. дис. ... канд. хим. наук. — М., 2012. — 26 с.
- Adeoye O., Olawumi J., Opeyemi A., Christiania O.** Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility // JBRA Assist. Reprod. — 2018. — Vol. 22, № 1. — P. 61–66. DOI: 10.5935/1518-0557.20180003.
- Ahn C.B., Cho Y.S., Je J.Y.** Purification and anti-inflammatory action of tripeptide from salmon pectoral fin byproduct protein hydrolysate // Food Chem. — 2015. — Vol. 168. — P. 151–156. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.05.112.
- Alkadi H.** A Review on Free Radicals and Antioxidants // Infect Disord Drug Targets. — 2020. — Vol. 20, Iss. 1. — P. 16–26. DOI: 10.2174/1871526518666180628124323.
- Arias A., Feijoo G., Moreira M.T.** Exploring the potential of antioxidants from fruits and vegetables and strategies for their recovery // Innovative Food Science and Emerging Technologies. — 2022. — Vol. 77. — 102974. DOI: 10.1016/j.ifset.2022.102974.
- 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 Chem. — 2010. — Vol. 118, Iss. 3. — P. 559–565. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.05.021.
- 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, № 6. — P. 1193–1205. DOI: 10.1142/S0192415X10008561.
- Dakrory A.I., Fahmy S.R., Soliman A.M. et al.** Protective and curative effects of the sea cucumber *Holothuria atra* extract against DMBA-induced hepatorenal diseases in rats // Biomed Res. Int. — 2015. — Vol. 2015. — 563652. DOI: 10.1155/2015/563652.
- Dziuba M. and Darewicz M.** Food proteins as precursors of bioactive peptides — classification into families // Food Sci. Tech. Int. — 2007. — Vol. 13, Iss. 6. — P. 393–404. DOI: 10.1177/1082013208085933.
- Gairin C.A., Frau J.G., Hadi N.H., Peiró A.G.** Chapter 35. Antioxidant Treatment and Prevention of Human Sperm DNA Fragmentation: Role in Health and Fertility // Handbook of Fertility. — San Diego : Acad. Press, 2015. — P. 397–410.
- Halliwell B.** The antioxidant paradox: less paradoxical now? // Br. J. Clin. Pharmacol. — 2013. — Vol. 75, Iss. 3. — P. 637–644. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2012.04272.x.
- Hsu K.-C., Lu G.-H., Jao C.-L.** Antioxidative properties of peptides prepared from tuna cooking juice hydrolysates with orientase (*Bacillus subtilis*) // Food Res. Int. — 2009. — Vol. 42, Iss. 5–6. — P. 647–652. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.02.014.
- Huang D., Ou B., Prior R.L.** The chemistry behind antioxidant capacity assay // J. Agric. Food Chem. — 2005. — Vol. 53. — P. 1841–1856. DOI: 10.1021/jf030723c.
- Islam M.S., Wang H., Admassu H. et al.** Health benefits of bioactive peptides produced from muscle proteins: Antioxidant, anti-cancer, and anti-diabetic activities // Process Biochemistry. — 2022. — Vol. 116. — P. 116–125. DOI: 10.1016/j.procbio.2022.03.007.
- 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. DOI: 10.1089/jmf.2006.101.
- Kim E.-K., Hwang J.-W., Kim Y.-S. et al.** A novel bioactive peptide derived from enzymatic hydrolysis of *Ruditapes philippinarum*: Purification and investigation of its free-radical quenching potential // Process Biochemistry. — 2013. — Vol. 48, Iss. 2. — P. 325–330. DOI: 10.1016/j.procbio.2012.10.016.
- 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 Chem. Toxicol. — 2013. — Vol. 52. — P. 113–120. DOI: 10.1016/j.fct.2012.10.058.
- Liu R., Zheng W., Li J. et al.** Rapid identification of bioactive peptides with antioxidant activity from the enzymatic hydrolysate of *Macrura veneriformis* by UHPLC-Q-TOF mass spectrometry // Food Chem. — 2015. — Vol. 167. — P. 484–489. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.06.113.
- 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.
- Moon J.-K., Shibamoto T.** Antioxidant assays for plant and food components // J. Agric. Food Chem. — 2009. — Vol. 57, Iss. 5. — P. 1655–1666. DOI: 10.1021/jf803537k.
- Najafian L., Babji A.S.** A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: their production, assessment, and applications // Peptides. — 2012. — Vol. 33, Iss. 1. — P. 178–185. DOI: 10.1016/j.peptides.2011.11.013.
- Prior R.L., Wu X., Schaich K.** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements // J. Agric. Food Chem. — 2005. — Vol. 53, Iss. 10. — P. 4290–4302. DOI: 10.1021/jf0502698.

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, Iss. 9. — P. 3365–3371. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.08.018.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay // *Free Radic. Biol. Med.* — 1999. — Vol. 26, Iss. 9–10. — P. 1231–1237. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.

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 Chem.* — 2008. — Vol. 108, Iss. 2. — P. 727–736. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.11.010.

Salehi B., Martorell M., Arbiser J.L. et al. Antioxidants: Positive or Negative Actors? // *Biomolecules.* — 2018. — Vol. 8, Iss. 4. — 124. DOI: 10.3390/biom8040124.

Samaranayaka A.G.P., Li-Chan E.C.Y. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications // *J. Functional Foods.* — 2011. — Vol. 3, Iss. 4. — P. 229–254. DOI: 10.1016/j.jff.2011.05.006.

Sarmadi B.H., Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: a review // *Peptides.* — 2010. — Vol. 31, Iss. 10. — P. 1949–1956. DOI: 10.1016/j.peptides.2010.06.020.

Sila A., Bougatef A. Antioxidant peptides from marine by-products: Isolation, identification and application in food systems. A review // *J. Functional Foods.* — 2016. — Vol. 21. — P. 10–26. DOI: 10.1016/j.jff.2015.11.007.

Somogyi A., Rosta K., Pusztai P. et al. Antioxidant measurements // *Physiol. Meas.* — 2007. — Vol. 28, Iss. 4. — R41–55. DOI: 10.1088/0967-3334/28/4/R01.

Wan X.S., Ware J.H., Zhou Z. et al. Protection against radiation-induced oxidative stress in cultured human epithelial cells by treatment with antioxidant agents // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2006. — Vol. 64, Iss. 5. — P. 1475–1481. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2005.11.024.

Wang W., Xiong P., Zhang H. et al. Analysis, occurrence, toxicity and environmental health risks of synthetic phenolic antioxidants: A review // *Environ. Res.* — 2021. — Vol. 201. — 111531. DOI: 10.1016/j.envres.2021.111531.

Wong F.-C., Xiao J., Ong M.G. et al. Identification and characterization of antioxidant peptides from hydrolysate of blue-spotted stingray and their stability against thermal, pH and simulated gastrointestinal digestion treatments // *Food Chem.* — 2019. — Vol. 271. — P. 614–622. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.07.206.

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, Iss. 2. — P. 235–240. DOI: 10.1016/j.ifset.2008.08.007.

Yu Y., Fan F., Wu D. et al. Antioxidant and ACE Inhibitory Activity of Enzymatic Hydrolysates from *Ruditapes philippinarum* // *Molecules.* — 2018. — Vol. 23, Iss. 5. — 1189. DOI: 10.3390/molecules23051189.

Zadák Z., Hyšpler R., Tichá A. et al. Antioxidants and vitamins in clinical conditions // *Physiol. Res.* — 2009. — Vol. 58, Suppl. 1. — S13–S17. DOI: 10.33549/physiolres.931861.

Zhou X., Wang C., Jiang A. Antioxidant peptides isolated from sea cucumber *Stichopus Japonicus* // *European Food Research and Technology.* — 2012. — Vol. 234, Iss. 3. — P. 441–447. DOI: 10.1007/s00217-011-1610-x.

References

Karaulova, E.P., Yoon, H.D., Kim, J.G., Park, S.H., Slutskaya, T.N., and Yakush, E.V. Study on biological activity of tissues from Bivalve Mollusks, *Izv. Tikhookean. Nauchno-Issled. Inst. Rybn. Khoz. Okeanogr.*, 2018, vol. 195, pp. 253–264. doi 10.26428/1606-9919-2018-195-253-264

Nikolayev, I.V. Study of the features of the antioxidant action of peptides and their compositions, *Extended Abstract of Cand. Sci. (Chem.) Dissertation*, Moscow, 2012.

Aeoye, O., Olawumi, J., Opeyemi, A., and Christiania, O. Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility, *JBRA Assist. Reprod.*, 2018, vol. 22, no. 1, pp. 61–66. doi 10.5935/1518-0557.20180003

Ahn, C.B., Cho, Y.S., and Je, J.Y. Purification and anti-inflammatory action of tripeptide from salmon pectoral fin byproduct protein hydrolysate, *Food Chem.*, 2015, vol. 68, pp 151–156. doi 10.1016/j.foodchem.2014.05.112

Alkadi, H. A Review on Free Radicals and Antioxidants, *Infect Disord Drug Targets*, 2020, vol. 20, no. 1, pp. 16–26. doi 10.2174/1871526518666180628124323

- Arias, A., Feijoo, G., and Moreira, M.T., Exploring the potential of antioxidants from fruits and vegetables and strategies for their recovery, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2022, vol. 77, 102974. doi 10.1016/j.ifset.2022.102974
- Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Manni, L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon, D., and Nasri, M., Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins, *Food Chem.*, 2010, vol. 118, no. 3, pp. 559–565. doi 10.1016/j.foodchem.2009.05.021
- Chi, H.M., Chou, S.T., Lin, S.C., Su, Z.Y., and Sheen, L.Y., 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, no. 6, pp. 1193–1205. doi 10.1142/S0192415X10008561
- Dakrory, A.I., Fahmy, S.R., Soliman, A.M., Mohamed, A.S., and Amer, S.A., Protective and curative effects of the sea cucumber *Holothuria atra* extract against DMBA-induced hepatorenal diseases in rats, *Biomed Res. Int.*, 2015, vol. 2015, 563652. doi 10.1155/2015/563652
- Dziuba, M. and Darewicz, M., Food proteins as precursors of bioactive peptides — classification into families, *Food Sci. Tech. Int.*, 2007, vol. 13, no. 6, pp. 393–404. doi 10.1177/1082013208085933
- Gairín, C.A., Frau, J.G., Hadi, N.H., and Peiró, A.G., Chapter 35. Antioxidant Treatment and Prevention of Human Sperm DNA Fragmentation: Role in Health and Fertility, *Handbook of Fertility*, San Diego: Acad. Press, 2015, pp. 397–410.
- Halliwell, B., The antioxidant paradox: less paradoxical now?, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2013, vol. 75, no. 3, pp. 637–644. doi 10.1111/j.1365-2125.2012.04272.x
- Hsu, K.-C., Lu, G.-H., and Jao, C.-L., Antioxidative properties of peptides prepared from tuna cooking juice hydrolysates with orientase (*Bacillus subtilis*), *Food Res. Int.*, 2009, vol. 42, no. 5–6, pp. 647–652. doi 10.1016/j.foodres.2009.02.014
- Huang, D., Ou, B., and Prior, R.L., The chemistry behind antioxidant capacity assay, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, vol. 53, pp. 1841–1856. doi 10.1021/jf030723c
- Islam, M.S., Wang, H., Admassu, H., Sulieman, A.A., and Wei, F.A., Health benefits of bioactive peptides produced from muscle proteins: Antioxidant, anti-cancer, and anti-diabetic activities, *Process Biochemistry*, 2022, vol. 116, pp. 116–125. doi 10.1016/j.procbio.2022.03.007
- Jung, W.-K., Qian, Z.-J., Lee, S.-H., Choi, S.-Y., Sung, N.-J., Byun, H.-G., and Kim, S.-K., Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide isolated from *in vitro* gastrointestinal digests of *Mytilus coruscus*, *J. Med. Food*, 2007, vol. 10, no. 1, pp. 197–202. doi 10.1089/jmf.2006.101
- Kim, E.-K., Hwang, J.-W., Kim, Y.-S., Ahn, C.-B., Jeon, Y.-J., Kweon, H.J., Bahk, Y.Y., Moon, S.-H., Jeon, B.-T., and Park, P.-J., A novel bioactive peptide derived from enzymatic hydrolysis of *Ruditapes philippinarum*: Purification and investigation of its free-radical quenching potential, *Process Biochemistry*, 2013, vol. 48, no. 2, pp. 325–330. doi 10.1016/j.procbio.2012.10.016
- Ko, J.-Y., Lee, J.-H., Samarakoon, K., Kim, J.-S., and Jeon, Y.-J., Purification and determination of two novel antioxidant peptides from flounder fish (*Paralichthys olivaceus*) using digestive proteases, *Food Chem. Toxicol.*, 2013, vol. 52, pp. 113–120. doi 10.1016/j.fct.2012.10.058
- Liu, R., Zheng, W., Li, J., Wang, L., Wu, H., Wang, X., and Shi, L., 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, pp. 484–489. doi 10.1016/j.foodchem.2014.06.113
- Molyneux, P., The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 2004, vol. 26, no. 2, pp. 211–219.
- Moon, J.-K. and Shibamoto, T., Antioxidant assays for plant and food components, *J. Agric. Food Chem.*, 2009, vol. 57, no. 5, pp. 1655–1666. doi 10.1021/jf803537k
- Najafian, L. and Babji, A.S., A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: their production, assessment, and applications, *Peptides*, 2012, vol. 33, no. 1, pp. 178–185. doi 10.1016/j.peptides.2011.11.013
- Prior, R.L., Wu, X., and Schaich, K., Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, vol. 53, no. 10, pp. 4290–4302. doi 10.1021/jf0502698
- Qian, Z.-J., Jung, W.-K., Byun, H.-G., and 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, no. 9, pp. 3365–3371. doi 10.1016/j.biortech.2007.08.018
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, vol. 26, no. 9–10, pp. 1231–1237. doi 10.1016/s0891-5849(98)00315-3

Ren, J., Zhao, M., Shi, J., Wang, J., Jiang, Y., Cui, C., Kakuda, Y., and Xue, S.J., Purification and identification of antioxidant peptides from grass carp muscle hydrolysates by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry, *Food Chem.*, 2008, vol. 108, no. 2, pp. 727–736. doi 10.1016/j.foodchem.2007.11.010

Salehi, B., Martorell, M., Arbiser, J.L., Sureda, A., Martins, N., Maurya, P.K., Sharifi-Rad, M., Kumar, P., and Sharifi-Rad, J., Antioxidants: Positive or Negative Actors?, *Biomolecules*, 2018, vol. 8, no. 4, 124. doi 10.3390/biom8040124

Samaranayaka, A.G.P. and Li-Chan, E.C.Y., Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications, *J. Functional Foods*, 2011, vol. 3, no. 4, pp. 229–254. doi 10.1016/j.jff.2011.05.006

Sarmadi, B.H. and Ismail, A., Antioxidative peptides from food proteins: a review, *Peptides*, 2010, vol. 3, no. 10, pp. 1949–1956. doi 10.1016/j.peptides.2010.06.020

Sila, A. and Bougatef, A., Antioxidant peptides from marine by-products: Isolation, identification and application in food systems. A review, *J. Functional Foods*, 2016, vol. 21, pp. 10–26. doi 10.1016/j.jff.2015.11.007

Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., and Nagy, G., Antioxidant measurements, *Physiol. Meas.*, 2007, vol. 28, no. 4, R41–55. doi 10.1088/0967-3334/28/4/R01

Wan, X.S., Ware, J.H., Zhou, Z., Donahue, J.J., Guan, J., and Kennedy, A.R., Protection against radiation-induced oxidative stress in cultured human epithelial cells by treatment with antioxidant agents, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2006, vol. 64, no. 5, pp. 1475–1481. doi 10.1016/j.ijrobp.2005.11.024

Wang, W., Xiong, P., Zhang, H., Zhu, Q., Liao, C., and Jiang, G., Analysis, occurrence, toxicity and environmental health risks of synthetic phenolic antioxidants: A review, *Environ. Res.*, 2021, vol. 201, 111531. doi 10.1016/j.envres.2021.111531

Wong, F.C., Xiao, J., Ong, M.G., Pang, M.-J., Wong, S.-J., Teh, L.-K., and Chai, T.-T., Identification and characterization of antioxidant peptides from hydrolysate of blue-spotted stingray and their stability against thermal, pH and simulated gastrointestinal digestion treatments, *Food Chem.*, 2019, vol. 271, pp. 614–622. doi 10.1016/j.foodchem.2018.07.206

You, L., Zhao, M., Cui, C., Zhao, H., and Yang, B., Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2009, vol. 10, no. 2, pp. 235–240. doi 10.1016/j.ifset.2008.08.007

Yu, Y., Fan, F., Wu, D., Yu, C., Wang, Z., and Du, M., Antioxidant and ACE Inhibitory Activity of Enzymatic Hydrolysates from *Ruditapes philippinarum*, *Molecules*, 2018, vol. 23, no. 5. doi 10.3390/molecules23051189

Zadák, Z., Hyšpler, R., Tichá, A., Hronek, M., Fikrová, P., Rathouská, J., Hrnčiariková, D., and Štětina, R., Antioxidants and vitamins in clinical conditions, *Physiol. Res.*, 2009, vol. 58, no. 1, S13–S17. doi 10.33549/physiolres.931861

Zhou, X., Wang, C., and Jiang, A., Antioxidant peptides isolated from sea cucumber *Stichopus Japonicus*, *European Food Research and Technology*, 2012, vol. 234, no. 3, pp. 441–447. doi 10.1007/s00217-011-1610-x

Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases, Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation (WHO Tech. Rep. Ser.; no. 916), Geneva: WHO, 2003.

Поступила в редакцию 13.07.2022 г.

После доработки 22.07.2022 г.

Принята к публикации 1.09.2022 г.

The article was submitted 13.07.2022; approved after reviewing 22.07.2022; accepted for publication 1.09.2022