DOI: https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-440-448

Поступила 12.05.2023
Поступила после рецензирования 27.10.2023
Принята в печать 01.11.2023
© Зинина О. В., Николина А. Д., Хвостов Д. В., Ребезов М. Б., Завьялов С. Н., Ахмедзянов Р. В., 2023

https://www.fsjour.com/jour
Научная статья
Open access

БЕЛКОВЫЙ ГИДРОЛИЗАТ КАК ИСТОЧНИК БИОАКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ В ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ ДИАБЕТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ

Зинина О. В.[1],* Николина А. Д.[1], Хвостов Д. В.[2], Ребезов М. Б.[2], Завьялов С. Н.[3], Ахмедзянов Р. В.[3]

[1] Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия
[2] Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия
[3] Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *молочная сыворотка, лабораторные животные, дипептидилпептидаза-4, диабет, белковый гидролизат, напиток*

АННОТАЦИЯ

Белковые гидролизаты являются перспективным активным компонентом в специализированных продуктах питания. Благодаря наличию в их составе биоактивных пептидов с ингибирующей ферменты активностью, белковые гидролизаты проявляют различные физиологические эффекты. Целью исследований является установление потенциальной гипогликемической активности белкового гидролизата желудков цыплят-бройлеров в молочной сыворотке, а также разработка на его основе напитка для больных сахарным диабетом. Методом УВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометрией была проведена оценка белковых гидролизатов, полученных из микробной ферментации мышечных желудков цыплят-бройлеров в молочной сыворотке. При помощи базы данных BioPep определялось молекулярно-массовое распределение пептидов в гидролизатах, а также были выявлены биоактивные пептиды, проявляющие ингибирующую активность в отношении ферментов дипептидилпептидазы-4 и амилазы. На основе полученных гидролизатов в программе Excel были смоделированы рецептуры напитков для пациентов с сахарным диабетом с учетом рекомендаций по питанию для данной группы населения. По полученным рецептурам в лабораторных условиях были изготовлены напитки и оценен их вкус. Исследовано влияние напитка на снижение глюкозы в крови у лабораторных животных при однократном введении дозировки 1,3 мл перорально перед основным приемом пищи. Результаты исследований пептидного состава белковых гидролизатов показали наличие в них биоактивных пептидов с подтвержденной по базе BioPep ингибирующей ферменты дипептидилпептидазу-4 и альфаглюкозидазу активностью — SY, VW, SW. В белковом гидролизате, полученном ферментацией сырья пропионовокислыми бактериями, суммарно оказалось наибольшее количество указанных биоактивных пептидов — 37,1 мг/100 г гидролизата. Напиток, изготовленный на основе белкового гидролизата и лимонного сока, оказался по вкусу более приемлемым для потребителей, чем напиток со вкусом какао. Результаты испытаний *in vivo* показали, что напиток на основе белкового гидролизата эффективен для снижения сахара в крови как здоровых, так и больных сахарным диабетом крыс. Уровень сахара в крови у здоровых животных в группе Г1 (без использования напитка) повышался на 151% относительно начальных значений, что является более высоким показателем по сравнению с группой Г2 (с использованием напитка), где повышение составило 87%. У больных животных в группе Г3 (без использования напитка) также наблюдался более значительный рост уровня сахара в крови — 61% относительно начальных значений, в то время как в группе Г4 (с использованием напитка) это повышение составило 46%. Таким образом, результаты исследований показали перспективность применения белковых гидролизатов из желудков цыплят-бройлеров в сыворотке в качестве активного гипергликемического компонента в напитках для людей, больных сахарным диабетом, однако необходимо проведение более глубоких исследований, в том числе на репрезентативной группе пациентов.

Received 12.05.2023
Accepted in revised 27.10.2023
Accepted for publication 01.11.2023
© Zinina O. V., Nikolina A. D., Khvostov D. V., Rebezov M. B., Zavyalov S. N., Akhmedzyanov R. V., 2023

Available online at https://www.fsjour.com/jour
Original scientific article
Open access

PROTEIN HYDROLYSATE AS A SOURCE OF BIOACTIVE PEPTIDES IN DIABETIC FOOD PRODUCTS

Oksana V. Zinina[1]*, Anna D. Nikolina[1], Daniil V. Khvostov[2], Maksim B. Rebezov[2], Sergey N. Zavyalov[3], Roman V. Akhmedzyanov[3]

[1] South Ural State University, Chelyabinsk, Russia
[2] V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia
[3] South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

KEY WORDS: *whey, laboratory animals, dipeptidyl peptidase-4, diabetes, protein hydrolysate, beverage*

ABSTRACT

Protein hydrolysates are a promising active component in specialized food products. Due to the presence of bioactive peptides with enzyme inhibiting activity in their composition, protein hydrolysates exert different physiological effects. The aim of the research was to establish the potential hypoglycemic activity of the protein hydrolysate of broiler chicken stomachs in whey and to develop a beverage on its basis for patients with diabetes mellitus. Protein hydrolysates obtained from microbial fermentation of muscular stomachs of broiler chickens in whey were assessed by UHPLC coupled to mass-spectrometry. Using the BioPEp database, the molecular weight distribution of peptides in the hydrolysates was determined. In addition, bioactive peptides showing the inhibitory activity toward enzymes dipeptidyl peptidase-4 and amylase were revealed. Based on the obtained hydrolysates, recipes of beverages for patients with diabetes mellitus were modeled in the Excel software program with regard to the recommendations for nutrition of this population group. According to the obtained recipes, beverages were produced in the laboratory conditions and their taste was assessed. An effect of the beverage on glucose reduction in the blood of laboratory animals was assessed upon single peroral administration with a dose of 1.3 ml before the main meal. The results of the investigation of the peptide composition of protein hydrolysates showed the presence of bioactive peptides (SY, VW, SW)

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: **Зинина, О. В., Николина, А. Д., Хвостов, Д. В., Ребезов, М. Б., Завьялов, С. Н., Ахмедзянов Р. В.** (2023). Исследование свойств белковых гидролизатов как потенциальной основы биоактивных пленочных покрытий. *Пищевые системы*, 6(4), 440-448. https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-440-448

FOR CITATION: **Zinina, O. V., Nikolina, A. D., Khvostov, D. V., Rebezov, M. B., Zavyalov, S. N., Akhmedzyanov, R. V.** (2023). Protein hydrolysate as a source of bioactive peptides in diabetic food products. *Food Systems*, 6(4), 440-448. https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-440-448

in them with the inhibitory activity toward enzymes dipeptidyl peptidase-4 and amylase confirmed by the BioPep database. The highest amount of the above indicated bioactive peptides (37.1 mg/100 g hydrolysate) was in the protein hydrolysate produced by fermentation of raw materials with propionic acid bacteria. The beverage produced on the basis of the protein hydrolysate and lemon juice was more acceptable for consumers in terms of taste than the beverage with the taste of cacao. The results of the *in vivo* trials showed that the beverage based on the protein hydrolysate was effective in reducing sugar in blood of both healthy rats and rats with diabetes mellitus. The blood sugar level in the healthy animals of the G1 group (without using the beverage) increased by 151% relative to the initial values, which was a higher value compared to the G2 group (with the use of the beverage), where an increase was 87%. A more significant growth in the blood sugar level (61% relative to the initial values) was also observed in the ill animals in the G3 group (without using the beverage), while this increase was 46% in the G4 group (with the use of the beverage). Thus, the results of the study show the prospects of using the protein hydrolysates from broiler chicken stomachs in whey as an active hypoglycemic component in beverages for patients with diabetes mellitus. However, more profound research is necessary including studies on the representative group of patients.

1. Введение

Проблема широкого распространения диабета и поиск новых методов и средств для лечения и контроля этого заболевания актуальны во всем мире [1,2].

Целью проводимых исследований является возможность разработки натуральных ингредиентов с выраженным терапевтическим эффектом и с минимальным побочным действием, а также перспектива создания продуктов питания нового поколения с данными ингредиентами [3–5].

Биоактивные пептиды и гидролизаты белков, получаемые в результате ферментации пищевого сырья, в последние годы являются объектом внимания многих ученых из-за широкого спектра биологических свойств: ингибирование ангиотензин-I-превращающего фермента (АПФ), антиоксидантное, антипролиферативное, противовоспалительное, цитомодулирующее, противомикробное, иммуномодулирующее свойства [6,7].

Белковые гидролизаты (БГ) содержат биоактивные пептиды — небольшие фрагменты белка, имеющие 2–20 аминокислотных остатков и молекулярные массы менее 6000 Da. От количества и последовательности аминокислот в пептидах зависит их биологическая активность. При этом различные факторы оказывают влияние на высвобождение определенных пептидов при гидролизе белка: состав исходного сырья и биологического агента, участвующего в расщеплении полипептидной цепи, пептидный и аминокислотный составы получаемых БГ, степень гидролиза сырья [8].

Биологически активные пептиды при высвобождении протеолитическими ферментами могут регулировать физиологические функции организма, проявляя антиоксидантные, антибактериальные, противогрибковые, и другие физиологические свойства [9].

Биоактивные гидролизаты получают при направленном ферментативном гидролизе белковых молекул. В качестве биологических агентов используют как отдельные виды протеолитических ферментов, так и микроорганизмы с высокой протеолитической активностью. Примером таких бактерий являются бифидобактерии и пропионовокислые бактерии, которые имеют способность к синтезу биологически активных веществ, ферментов, органических кислот, благодаря чему белковый субстрат преобразуется до низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот.

Белковые гидролизаты и биологически активные пептиды, выделенные из пищевых белков, благодаря своим биологическим свойствам широко применяются как биоактивный компонент в продуктах специализированного и функционального питания [10–12].

Сахарный диабет относится к группе метаболических заболеваний, характеризующихся гипергликемией вследствие нарушений секреции/действия инсулина.

Существует два преобладающих типа диабета: диабет 1-го типа (СД1, 10% пациентов) и диабет 2-го типа (СД2, 90% пациентов) [13].

Как основная форма диабета СД2 характеризуется гиперинсулинемией и резистентностью к инсулину, что связано с глубокими изменениями метаболизма глюкозы и липидов в организме. Развитию СД2 способствуют генетические параметры и факторы окружающей среды. В одних и тех же генетических условиях нездоровое питание, неправильный выбор продуктов питания и недостаток физической активности могут привести к возникновению данного заболевания. Пища и питание играют ключевую роль в лечении диабетических симптомов при СД2. Пациенту с сахарным диабетом необходимо легкоусвояемое, богатое витаминами питание, которое влечет за собой снижение уровня глюкозы в крови. Медицинские специалисты рекомендуют диеты с умеренно сниженной энергоценностью с целью сокращения потребления легкоусвояемых углеводов и животных жиров, с преобладанием в рационе продуктов растительного происхождения [14,15].

Одним из рекомендуемых компонентов питания для пациентов с сахарным диабетом являются белковые гидролизаты — источники биоактивных пептидов с ингибирующей ферменты активностью: дипептидилпептидазу-4, α-глюкозидазу и α-амилазу. Амилаза и глюкозидаза являются важнейшими ферментами в расщеплении углеводов. Сахар поступает в организм человека в основном с продуктами питания, а главным компонентом углеводов в рационе является крахмал. Однако молекулярные сегменты крахмала и дисахарида велики и не способны напрямую всасываться в кровоток человека — они должны проходить через воздействие амилазы и ворсинок тонкого кишечника. Альфа-глюкозидаза производит моносахариды (глюкозу и фруктозу) синергетическим образом до их абсорбции. Следовательно, количество глюкозы можно уменьшить, контролируя две ферментативные реакции α-амилазы и α-глюкозидазы [16]. Дипептидилпептидаза-4 присутствует на мембранах всех клеток в организме, и она связана с гормонами, способствующими выделению инсулина — глюкозозависимым инсулинотропным полипептидом и глюкагоноподобным пептидом-1. Дипептидилпептидаза-4 регулирует выделение этих гормонов и при сахарном диабете выделяется в излишнем количестве, что снижает секрецию инсулина. Следовательно, ингибирование этих ферментов может иметь решающее значение для уменьшения количества глюкозы, выделяющейся в организме, и оказывать влияние на желудочно-кишечный тракт [17]. Ингибирование гидролизующих углеводы ферментов рекомендовано в качестве практического подхода к регулированию уровня сахара в крови [18]. Окислительный стресс как результат гипергликемии может вызывать повреждение печени при диабете, и гидролизаты белков с антидиабетическими и антиоксидантными свойствами используются в качестве потенциальной терапии [19]. Отмечено, что биоактивные пептиды в настоящее время являются одним из наиболее широко изученных потенциальных терапевтических средств при лечении СД2 [20].

В качестве составляющих рецептуры напитка были выбраны следующие компоненты: белковый гидролизат как источник биоактивных пептидов, сироп лактулозы как эффективный пребиотик и вкусовой компонент, а также лимонный сок и какао в качестве вкусовых компонентов и источников витаминов.

Гиповитаминоз С часто встречается при диабете. Причиной этого являются диетические факторы, окислительный стресс и воспалительные процессы [21].

Поэтому в диабетическом питании обосновано увеличение доз витамина С либо путем корректировки рациона, либо при помощи добавок.

Обширный обзор научной литературы выявил данные, подтверждающие способность лактулозы стимулировать рост бифидобактерий и улучшать состояние микробиоты кишечника, проявлять антитоксический и антиканцерогенный эффекты, положительно влиять на усвоение минеральных веществ. Обозначена возможность применения лактулозы в диабетическом питании для снижения содержания глюкозы в крови [22].

Таким образом, специализированное питание — неотъемлемая часть лечения и возможность поддержания физиологического состояния организма как при СД2, так и при СД1. В связи с этим актуальным является разработка и внедрение в промышленное производство специализированных продуктов заданного состава с исключением из рецептуры сахара, содержащих не только дефицитные при данном заболевании витамины и минеральные вещества, но и биоактивные вещества [23].

Целью исследований является установление потенциальной гипогликемической активности белкового гидролизата желудков цыплят-бройлеров в молочной сыворотке и разработка на его основе напитка для пациентов с сахарным диабетом.

2. Объекты и методы

Объектом исследований являются:

- белковые гидролизаты (БГ), полученные микробной ферментацией желудков цыплят-бройлеров в молочной сыворотке;
- напитки на основе белкового гидролизата.

Технологическая схема получения БГ представлена на Рисунке 1, оптимальные параметры процесса гидролиза (температура, продолжительность, количество закваски) были установлены при проведении многофакторного эксперимента в ранее опубликованной научной статье [24].

Для ферментации сырья и получения белковых гидролизатов использовали закваски пробиотических бактерий с высокой протеолитической активностью: жидкий концентрат бифидобактерий (опытный образец БГ, ферментированный BLC) и концентрат пропионовокислых бактерий «Пропионикс» (опытный образец БГ, ферментированный Propionix LCSC) («Пропионикс», Москва, Россия). При получении контрольного образца БГ при сыворотку ферментировали без введения бактериальных концентратов.

Количество вводимых бактериальных препаратов составляло $1 \cdot 10^8$ КОЕ/см^3.

У полученных белковых гидролизатов исследовали молекулярно-массовое распределение пептидов методом УВЭЖХ, совмещенной с масс-спектрометрией, с последующей идентификацией полученных пептидов и с установлением их биологической активности методом *in silico*. Хроматографическое разделение исследуемых пептидов проводили с использованием системы УВЭЖХ 1290 Infinity (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США), аналитической колонки AdvanceBio Peptide Mapping 120Å (2,1×250 мм, размер частиц 2,7 мкм (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США)) и аналитической защитной колонки ZORBAX Extend-C18 (4,6×12,5 мм, 5 мкм) (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США). Подвижную фазу — H_2O (A) и ACN (B), приготовленные с 0,1% муравьиной кислотой (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Германия) v/v, — прокачивали со скоростью 0,2 мл/мин, объем впрыска составлял 10 мкл.

Хроматографию проводили в линейном градиенте следующим образом: 2% растворитель Б — 5 мин, от 2% до 43% растворитель Б — 165 мин, от 43% до 100% растворитель Б — 1 мин, 100% растворитель Б — 6 мин. После этого градиент вернулся к начальному значению 98% А через 7 мин. Общее время анализа составило 184 мин.

Времяпролетный масс-спектрометрический детектор Agilent 6545XT AdvanceBio LC/QTOF (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США), оснащенный DuoJet Stream ESI (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США) и ионной воронкой, установленный в режиме положительной ионизации, соединены с системой УВЭЖХ.

Были заданы следующие основные рабочие параметры квадрупольно-времяпролетной МС:

- капиллярное напряжение 4000 В; напряжение сопла 500 В;
- поток газа-осушителя 13 л/мин при 325 °C;
- расход газа через кожух 12 л/мин при 275 °C;
- давление распылителя 35 фунтов на квадратный дюйм.

Ионная воронка высокого давления работала при высокой частоте (ВЧ) 150 В, воронка низкого давления — при 65 В ВЧ, а октополь — при 750 В. Анализы проводились в режиме полного сканирования МС и в автоматическом режиме МС/МС с полным сканированием от 150 до 2100 м/з. Спектры фрагментов были получены для каждой массы с использованием энергии столкновения, заданной программным алгоритмом получения ионов MS2 [25].

В экспериментах МС/МС в качестве газа для столкновений применялся азот. Пурин ([M + H]+ = 121,0509) и соединение Agilent HP0921 ([M + H]+ = 922,0098) задействовались в качестве эталонного раствора для калибровки внутренней массы на протяжении всего анализа.

Обнаруженные соединения (более 300) идентифицировали методом МС-фрагментации с использованием программного обеспечения MSDIAL (версия 5.1, RIKEN CSRS, Yokohama City, Japan) с точным допуском по массе MS1 (0,01 Да) и MS2 (0,05 Да) [26]. Содержание пептидов определяли по стандартной кривой с применением «Лейтрагина®» в диапазоне концентраций 1–1000 нг/мл; коэффициент регрессии > 0,990. Значения для каждого пептида выражали в мг-экв. Лейтрагин/100 г гидролизатов [27].

Каждое измерение проводили троекратно. Значения вероятности $p \leq 0,05$ были приняты для указания статистической значимости. Данные были проанализированы с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA по критерию Тьюки [https://housseinassaad.shinyapps.io/TableReport/].

Идентифицированные пептиды анализировали с использованием баз данных BioPep [28] и PeptideRanker [29].

На основе полученных БГ были смоделированы рецептуры напитков с учетом рекомендаций по диабетическому питанию в программе Excel Solver (Microsoft, США). В качестве компонентов напитка приняты следующие ингредиенты вода — X_1, БГ — X_2, лимонный сок (или какао) — X_3, сироп лактулозы — X_4.

По оптимизированной рецептуре изготовлены напитки по технологии, представленной на Рисунке 2. Методом парного сравнения согласно ГОСТ ISO 6658–2016[1] выбран наиболее приемлемый образец напитка по вкусу неподготовленными испытателями (потенциальными потребителями напитка).

Оценку эффективности влияния полученного напитка на снижение уровня глюкозы в крови проводили методом *in vivo* с использованием половозрелых (3 месяца от рождения) белых лабораторных крыс-самцов линии Wistar (ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», Россия). Животные были разделены на 2 экспериментальные группы: контрольная группа, включающая интактных крыс (n = 5, m = 411,2 ± 21,3 г), опытная группа, включающая животных с экспериментальным сахарным диабетом 1 типа (n = 5, m = 418,4 ± 21,1 г).

[1] ГОСТ ISO 6658–2016 «Органолептический анализ. Методология. Общее руководство». М.: Стандартинформ, 2016. — 26 с.

Рисунок 1. **Технологическая схема получения белковых гидролизатов (создано с помощью программного обеспечения Visma (Осло, Норвегия))**

Figure 1. **Technological scheme of protein hydrolysate production (created with the use of the Visma software (Oslo, Norway))**

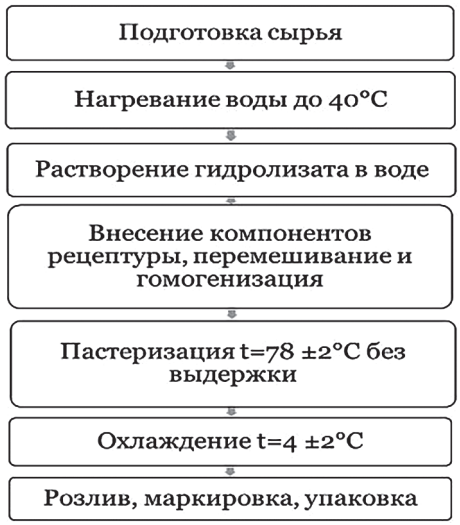


Рисунок 2. **Технологическая схема изготовления напитка**
Figure 2. **Technological scheme of beverage production**

Группы животных обозначены следующим образом:
- Г1 — контрольная группа животных с углеводной нагрузкой;
- Г2 — контрольная группа животных с углеводной нагрузкой и напитком;
- Г3 — опытная группа животных с углеводной нагрузкой;
- Г4 — опытная группа животных с углеводной нагрузкой и напитком.

Моделирование сахарного диабета производили по общепринятой методике с использованием диабетогенного вещества — аллоксана тригидрата (РЕАХИМ, Москва, Россия) в 0,4 мл раствора цитратного буфера. Вещество вводили внутрибрюшинно однократно в дозировке 163 мг/кг [30].

Верификацию модели осуществляли путем измерения уровня глюкозы в крови натощак по истечении недели после инъекции аллоксана. Исследование показало, что уровень измеряемого показателя составил 3,2 ± 0,31 ммоль/л у животных контрольной группы и 22,1 ± 1,6 ммоль/л у крыс с экспериментальной патологией.

После выведения животных из эксперимента верификация модели проводилась повторно с использованием морфологического исследования серийных срезов поджелудочной железы животных (кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск, Россия).

Работа с лабораторными животными проводилась в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целях»[2] и согласно Федеральному закону Российской Федерации от 27.12.2018 № 498-ФЗ[3].

Все исследуемые лабораторные животные содержались в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники (вивария) ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России в соответствии с требованиями ГОСТ 33216–2014[4] и пункта 3 РД-АПК 3.10.07.02–09[5]. Животные содержались в индивидуальных клетках размером 460 × 300 × 160 мм со сплошным дном со стандартным подстилочным материалом в виде гранулированных древесных опилок. Клетки размещались в специализированной приточно-вытяжной вентиляционной установке с автоматическим регулированием светового режима (12 часов «дневного режима»). Режим кормления был составлен с учетом особенностей питания и содержания лабораторных животных. Кормление осуществляли полнорационным гранулированным кормом «Дельта Фидс» («БиоПро», Россия).

Для оценки потенциальной гипогликемической активности белкового гидролизата спустя 2 недели после инъекции аллоксана экспериментальным животным проводили глюкозотолерантный тест без использования напитка и с его применением.

Для этого в первой серии экспериментов натощак после суточного голодания опытным животным внутрижелудочно вводили раствор глюкозы («Мосфарм», пгт Богородское, Сергиево-Посадский р-н, Московская область, Россия) в дозировке 2 г/кг живой массы.

Через 7 суток после первой серии экспериментов, во второй серии животным натощак после суточного голодания сначала вводили 1,3 мл напитка внутрижелудочно, а через 15 минут крысы получали углеводную нагрузку в той же дозе, что и в первой серии экспериментов. Аналогичная схема была использована по отношению к контрольным животным. Средняя дозировка напитка 1,3 мл рассчитана на среднюю массу животных с учетом опыта построения плана эксперимента группой зарубежных ученых [31].

Уровень гликемии определяли до углеводной нагрузки, а также спустя 30, 60, 90 и 120 мин после нее [32]. Концентрацию глюкозы выявляли в цельной крови с применением глюкометра Contour TS® (Ascensia Diabetes Care Holdings AG, Япония). Для этого медицинской иглой делали прокол по ходу хвостовой вены животного, далее подносили глюкометр со вставленной тест-полоской (Ascensia Diabetes Care Holdings AG, Япония), прибор автоматически отбирал нужное количество крови (15 мкл) для измерения глюкозы и выдавал результат на электронное табло исследовательского оборудования.

Статистическую обработку полученных данных производили с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 23 (Армонк, штат Нью-Йорк, США) (данные представлены в виде среднего значения и его стандартного отклонения). Учитывая небольшую выборку животных, достоверность полученных данных определяли при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни. Результаты считали статистически значимыми при $p \leqslant 0,05$. Для оценки статистической значимости изменений во времени внутри группы применяли критерий Фридмана.

Таблица 1. **Биоактивные пептиды в белковых гидролизатах**
Table 1. **Bioactive peptides in protein hydrolysates**

Пептид	Активность (по базе BioPep)	Содержание, мг/100 г гидролизата		
		Опытный образец, ферментированный BLC	Контрольный образец	Опытный образец, ферментированный Propionix LCSC
SY	ингибитор АПФ	10,6000 ± 0,0872[b]	20,4000 ± 0,0583[a]	9,7600 ± 0,0600[c]
	ингибитор дипептидилпептидазы-4			
VW	ингибитор АПФ	1,3800 ± 0,0735[c]	7,5000 ± 0,0447[b]	20,1000 ± 0,0600[a]
	антиоксидант			
	ингибитор дипептидилпептидазы-4			
	ингибитор альфаглюкозидазы			
SW	ингибитор дипептидилпептидазы-4	1,1200 ± 0,0800[c]	3,0200 ± 0,0970[b]	7,2000 ± 0,0447[a]
Общее содержание выявленных активных пептидов		13,1000 ± 0,1720[c]	30,9000 ± 0,1520[b]	37,1000 ± 0,0775[a]

Примечание: средние значения в строке без общего надстрочного индекса имеют достоверные различия ($p < 0,05$) при анализе с помощью однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

[2] Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Электронный ресурс: https://rm.coe.int/168007a6a8 Дата доступа 14.04.2023

[3] Федеральный закон Российской Федерации от 27.12.2018 № 498-ФЗ «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации». Электронный ресурс: https://docs.cntd.ru/document/552045936 Дата доступа 14.04.2023

[4] ГОСТ 33216–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». М.: Стандартинформ, 2019. — 15 с.

[5] РД-АПК 3.10.07.02–09 «Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в виварии научно-исследовательских институтов и учебных заведений» Электронный ресурс https://docs.cntd.ru/document/1200088317 Дата доступа 14.04.2023

3. Результаты и обсуждение

В исследуемом белковом гидролизате выявлено 3 биоактивных пептида с подтвержденной по базе BioPep ингибирующей ферменты дипептидилпептидазу-4 и альфаглюкозидазу активностью — SY (серин-тирозин), VW (валин-триптофан), SW (серин-триптофан).

Результаты оценки молекулярно-массового распределения пептидов в гидролизатах показали, что суммарно более высокое содержание пептидов наблюдалось с ингибирующей дипептидилпептидазу-4 активностью в гидролизате, полученном ферментацией желудков цыплят-бройлеров в сыворотке с добавлением пропионовокислых бактерий (Таблица 1), что составило на 20% больше, чем у контрольного образца гидролизата.

Содержание данных активных пептидов в гидролизате, полученном ферментацией бифидобактериями, оказалось примерно в 3 раза меньше, чем в контрольном образце и образце с пропионовокислыми бактериями.

В связи с этим для дальнейшего моделирования рецептуры напитка использовали белковый гидролизат, полученный ферментацией пропионовокислыми бактериями.

Для проведения оптимизации и моделирования рецептуры напитка составлена база данных о компонентах рецептуры и получены балансовые уравнения (Таблица 2).

Таблица 2. **Балансовые уравнения для моделирования рецептуры напитка**

Table 2. **Balance equations for modeling recipes of the beverage**

Показатель	Уравнение
Содержание белка	$24{,}3 \cdot X_2 + 52 \cdot X_3 \leqslant 27$
Содержание жиров	$15 \cdot X_2 + 5{,}5 \cdot X_3$
Содержание углеводов	$10{,}2 \cdot X_2 + 12{,}5 \cdot X_3 + 3{,}5 \cdot X_4$
Содержание сухих веществ	$30 \cdot X_2 + 92 \cdot X_3 + 92 \cdot X_4 \leqslant 12$
Себестоимость продукта (функция цели)	$5 \cdot X_1 + 179 \cdot X_2 + 1200 \cdot X_3 + 800 \cdot X_4 \rightarrow \min$
Формирование единицы продукта	$X_1 + X_2 + X_3 + X_4 = 1$

В результате получены две рецептуры напитка (Таблица 3).

Таблица 3. **Рецептуры напитка**

Table 3. **Recipes of the beverage**

Компонент	Содержание компонента, кг /100 кг	
	Рецептура 1	Рецептура 2
Вода питьевая	69	56
Гидролизат белка	15	15
Сироп лактулозы	15	15
Какао-порошок	1	0
Лимонный сок	0	14

По полученным рецептурам в лабораторных условиях изготовлены напитки по технологии, представленной на схеме (Рисунок 2), и проведена их органолептическая оценка для выявления предпочтений потребителей по вкусу напитка, так как белковый гидролизат в обозначенной концентрации придает напитку горький привкус.

Для установления оптимального образца напитка по вкусу проводилась дегустация неподготовленными испытателями (потенциальными потребителями напитка), и при парном сравнении двух напитков испытателям необходимо было выбрать напиток с наиболее приемлемым вкусом (в связи с тем, что гидролизат белка в такой высокой дозировке придает напитку горький привкус). Из 24 испытателей 19 отдали предпочтение напитку с добавлением лимонного сока. В связи с этим для проведения последующего опыта на лабораторных животных принят напиток с лимонным соком как более приемлемый с точки зрения вкуса.

По результатам проведения глюкозотолерантного теста у животных контрольной и опытной групп в случае с применением напитка, а также без его использования, были построены графики, характеризующие различные этапы метаболизма глюкозы у здоровых животных и у крыс с экспериментальной патологией (Рисунки 3 и 4).

В контрольной группе животных при внутрижелудочном введении глюкозы в дозировке 2 г/кг без использования напитка наблюдалась классическая картина проведения глюкозотолерантного теста: резкое повышение уровня глюкозы в крови в 2,5 раза на 30 минуте исследования и постепенное снижение показателя вплоть до 120 минуты (Рисунок 3). Однако обращает на себя внимание тот факт, что значения гликемии натощак и к концу проведения теста не были идентичными, разница между ними составила 1,9 ммоль/л.

Повышение уровня глюкозы в крови на 30 минуте эксперимента незначительно отличалось между группами Г1 и Г2 ($p \geqslant 0{,}05$), так же, как и в начале эксперимента ($p \geqslant 0{,}05$).

Иная картина наблюдалась при проведении глюкозотолерантного теста у контрольных животных с использованием напитка (группа Г2) в следующие временные отметки. Снижение концентрации глюкозы начиная с 60 минуты исследования было более выраженным по отношению к группе Г1 ($p \leqslant 0{,}05$) и привело к тому, что показатель на 120 минуте был практически идентичен значению, полученному до углеводной нагрузки, и существенно отличался от группы Г1 ($p \leqslant 0{,}05$).

В группе крыс с экспериментальным сахарным диабетом как с использованием напитка, так и без него, наблюдалось идентичное повышение концентрации глюкозы в крови примерно в 1,5 раза (Рисунок 4).

В начальный момент времени результаты в группах Г3 и Г4 отличались незначительно ($p \geqslant 0{,}05$). В сравнении с контрольной группой животных, в Г3 и Г4 значения уровня глюкозы в крови крыс значительно различались на 30 минуте эксперимента ($p \leqslant 0{,}01$).

Учитывая то, что уровень гликемии натощак у данной группы имел чрезвычайно высокие значения, такое повышение можно считать значительным. Более того, в серии эксперимента у Г3 исследуемый показатель продолжил расти к 60 минуте и находился на плато вплоть до 90 минуты, затем незначительно снижался.

В эксперименте с использованием напитка в группе Г4 ситуация значительно отличалась от группы Г3 — начиная с 60 минуты наблюдалось снижение уровня гликемии ($p \leqslant 0{,}05$). К 120 минуте показатель приближался к уровню глюкозы в крови натощак и составлял $22{,}0 \pm 1{,}68$ ммоль/л, что значительно отличалось от контрольной группы Г3 ($p \leqslant 0{,}05$). Результаты расчета критерия Фридмана показали значимость изменений результатов внутри групп Г1, Г2 и Г4 во временной промежуток 30–120 мин при $p \leqslant 0{,}05$.

В контрольной группе животных площадь под кривой «Концентрация глюкозы — время» при использовании напитка (группа Г2) уменьшилась на 15,7% по сравнению с контролем (группа Г1), в экспериментальной группе животных при применении напитка (группа Г4) площадь уменьшилась на 23,4% по сравнению с контрольной группой Г3.

Результаты проведенных исследований наглядно демонстрируют, что напиток с добавлением белкового гидролизата помогает нормализовать уровень глюкозы в крови у здоровых животных, а также способствует более быстрому снижению данного показателя у крыс с экспериментальным сахарным диабетом в сравнении с животными, которым была дана только углеводная нагрузка.

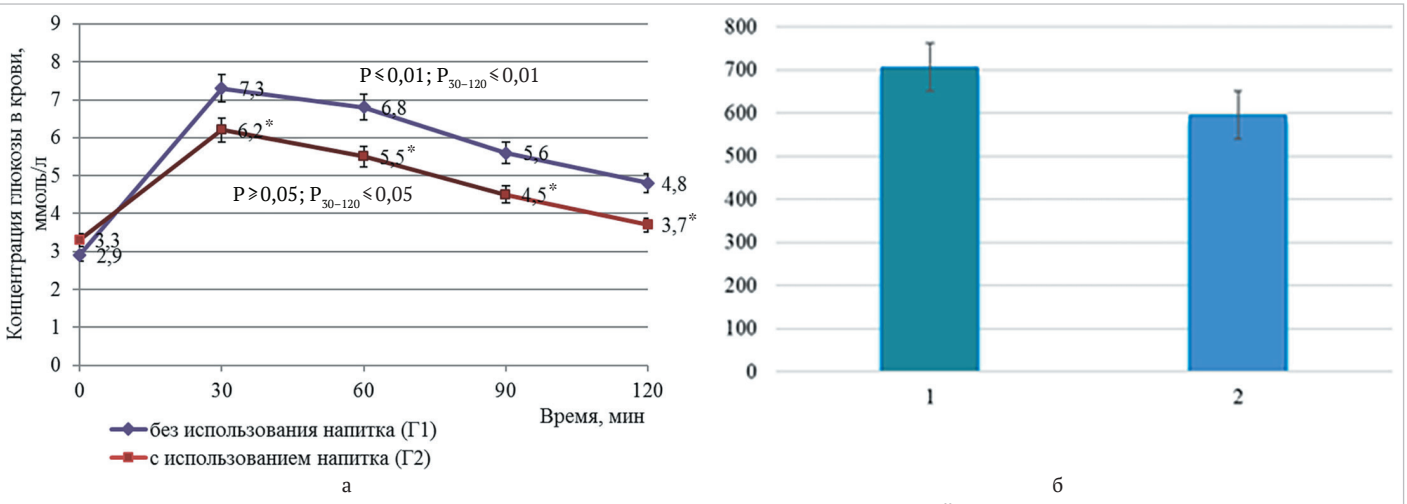
Уровень сахара в крови у здоровых лабораторных животных в группе Г1 (без добавления напитка) повышался на 151% относительно начальных значений, что является более высоким показателем по сравнению с группой Г2 (с использованием напитка), где повышение составило 87%. При этом прирост уровня глюкозы в конечном измерении (120 мин) по отношению к начальному составил 65% у группы Г1 и 12% у группы Г2.

У больных животных в группе Г3 (без использования напитка) также наблюдался более значительный рост уровня сахара в крови — 61% относительно начальных значений, в то время как в группе Г4 (с применением напитка) это повышение составило 46%. Конечное измерение уровня глюкозы в крови у группы Г3 показало значение на 53% выше, чем в начальный момент, а у Г4 — на 17%.

Полученные данные согласуются с результатами исследований других авторов. Так, например, в работе авторов Du X. и др. (2022) была экспериментально подтверждена гипогликемическая активность гидролизата сывороточного белка из козьего молока, содержащего ингибиторы активности дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4), α-глюкозидазы и α-амилазы [33,34].

Проведены исследования группой зарубежных ученых, установивших влияние напитка на основе гидролизата сывороточного белка (15,6 г белка на 100 мл напитка) на уровень глюкозы в крови пациентов с сахарным диабетом. Данные исследования подтверждают эффективность напитка в снижении гипергликемии при 7-дневном курсе употребления 3 раза в день перед приемом пищи [31].

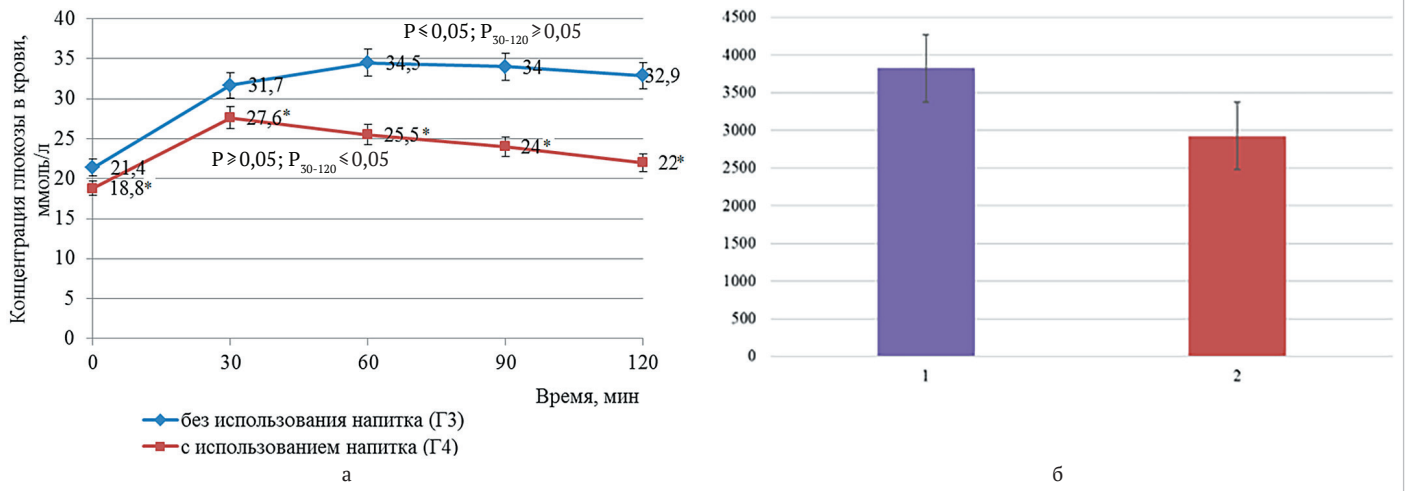
Также в работах некоторых ученых экспериментально выявлено и подтверждено положительное влияние лимонного сока на снижение уровня глюкозы в крови [35,36], однако дозировки его были более высокие, чем в полученном нами напитке. Стоит отметить, что не исключена возможность синергетического эффекта лимонного сока и активных пептидов гидролизата в снижении гликемического индекса, что требует дополнительных исследований.



а б

Рисунок 3. **Результаты глюкозотолерантного теста контрольной группы животных: а — динамика концентрации глюкозы в крови у крыс групп Г1 (контрольная группа животных без использования напитка) и Г2 (контрольная группа животных с использованием напитка); б — площадь под кривой «Концентрация глюкозы — время» при глюкозотолерантном тесте в группах Г1(1) и Г2(2)**

Figure 3. **Results of the glucose tolerance test of the control group of animals: a — dynamics of the blood glucose concentration in the rats of the G1 group (control group of animals without using the beverage) and the G2 group (control group of animals with the use of the beverage); б — area under the curve "Glucose concentration — time" upon the glucose tolerance test in groups G1(1) and G2 (2)**



а б

Рисунок 4. **Результаты глюкозотолерантного теста опытной группы животных «с моделью диабета»: а — динамика концентрации глюкозы в крови у крыс групп Г3 (опытная группа животных без использования напитка) и Г4 (опытная группа животных с использованием напитка); б — площадь под кривой «Концентрация глюкозы — время» при глюкозотолерантном тесте в группах Г3(1) и Г4(2)**

Figure 4. **Results of the glucose tolerance test of the experimental group of animals with a model of diabetes: a — dynamics of the blood glucose concentration in the rats of the G3 group (the experimental group of animals without using the beverage) and the G4 group (the experimental group of animals with the use of the beverage); б — area under the curve "Glucose concentration — time" upon the glucose tolerance test in groups G3(1) and G4 (2)**

Примечание: * — значимость изменений результатов между группами при p ⩽ 0,05; P — значимость изменений результатов во времени внутри группы при p ⩽ 0,05 по критерию Фридмана; $P_{30–120}$ — значимость изменений результатов во времени (для временного промежутка 30–120 мин) внутри группы.

В многочисленных работах отмечено, что ферментацией вторичного пищевого сырья возможно получение гидролизатов с активными пептидами, обладающими различным физиологическим действием, в том числе гидролизатов, регулирующих ферментативные процессы в организме больных диабетом.

Полученные результаты исследований позволяют расширить применение вторичного сырья в виде молочной сыворотки и субпродуктов птицы для производства белковых гидролизатов с определенной биоактивностью, перспективных для лечения сахарного диабета.

4. Выводы

Результаты исследований пептидного состава белкового гидролизата показали, что в результате микробной ферментации желудков цыплят-бройлеров в молочной сыворотке за счет гидролиза образуются активные пептиды, которые влияют на снижение уровня сахара в крови — с ингибирующей дипептидилпептидазу-4 и α-амилазу активностью.

На основе полученного белкового гидролизата смоделирована рецептура специализированного напитка для диабетического питания. Оптимизированы две рецептуры в программе Excel (США), по которым были изготовлены напитки. По результатам органолептической оценки было выявлено, что лучшими показателями обладает напиток с добавлением лимонного сока.

Результаты исследований *in vivo* показали, что напиток на основе белкового гидролизата, полученного микробной ферментацией желудков цыплят-бройлеров в молочной сыворотке пропионовокислыми бактериями, и содержащий в составе биоактивные пептиды, эффективен для снижения уровня глюкозы крови у лабораторных животных.

Однако, учитывая тот факт, что разные люди по-разному реагируют на одну и ту же диету, необходимы клинические испытания на людях, чтобы увидеть реальный эффект от приема разработанного напитка для контроля гликемии у пациентов с сахарным диабетом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Rivero-Pino, F., Espejo-Carpio, F.J., Guadix, E.M. (2021). Identification of dipeptidyl peptidase IV(DPP-IV) inhibitory peptides from vegetable protein sources. *Food Chemistry*, 354, Article 129473. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129473
2. Vaskovsky, A.M., Chvanova, M.S., Rebezov, M.B. (2020). Creation of digital twins of neural network technology of personalization of food products for diabetics. *Conference Proceedings — 4th Scientific School on Dynamics of Complex Networks and their Application in Intellectual Robotics, DCNAIR,* 251–253, Article 9216776. https://doi.org/10.1109/DCNAIR50402.2020.9216776
3. Тутельян, В.А., Шарафетдинов, Х.Х., Лапик, И.А., Воробьева, И.С., Суханов, Б.П. (2014). Приоритеты в разработке специализированных пищевых продуктов оптимизированного состава для больных сахарным диабетом 2 типа. *Вопросы питания,* 83(6), 41–51. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2014-00060
4. Шарафетдинов, Х.Х., Плотникова, О.А., Назарова, А.М., Кондратьева, О.В. (2017). Специализированные пищевые продукты с модифицированным углеводным профилем в коррекции метаболических нарушений при сахарном диабете 2 типа. *Вопросы питания,* 86(6), 56–66. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00006
5. Кочеткова, А.А., Воробьева, И.С., Воробьева, В.М., Шарафетдинов, Х.Х., Плотникова, О.А., Пилипенко, В.В. и др. (2018). Специализированные пищевые продукты с модифицированным углеводным профилем для диетической коррекции рациона больных сахарным диабетом 2 типа. *Вопросы питания,* 87(6), 76–88. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10069
6. Hemker, A.K., Nguyen, L.T., Karwe, M., Salvi, D. (2020). Effects of pressure-assisted enzymatic hydrolysis on functional and bioactive properties of tilapia (Oreochromis niloticus) by-product protein hydrolysates. *LWT*, 122, Article 109003. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.109003
7. Sanchez, A., Vazquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety*, 1(1), 29–46. https://doi.org/10.1093/fqs/fyx006
8. Bhandari, D., Rafiq, S., Gat, Y., Gat, P., Waghmare, R., Kumar, V. (2020). A review on bioactive peptides: Physiological functions, bioavailability and safety. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. 26, 139–150. https://doi.org/10.1007/s10989-019-09823-5
9. Elam, E., Feng, J., Lv, Y.-M., Ni, Z.-J., Sun, P., Thakur, K. et al. (2021). Recent advances on bioactive food derived anti-diabetic hydrolysates and peptides from natural resources. *Journal of Functional Foods*, 86, Article 104674. https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104674
10. Chen, F., Jiang, H., Lu, Y., Chen, W., Huang, G. (2019). Identification and *in silico* analysis of antithrombotic peptides from the enzymatic hydrolysates of Tenebrio molitor larvae. *European Food Research and Technology*, 245, 2687–2695. https://doi.org/10.1007/s00217-019-03381-2
11. Рязанцева, К.А., Агаркова, Е.Ю., Кручинин, А.Г. (2019). Гидролизаты молочной сыворотки как ингредиенты для повышения функциональных свойств молочных продуктов. *Молочная река*, 4(76), 26–28.
12. Рязанцева, К.А. (2020). Гидролизаты сывороточного белка как источник биологически активных пептидов для включения в функциональные продукты питания. *Актуальные вопросы молочной промышленности, межотраслевые технологии и системы управления качеством*, 1(1), 475–480. https://doi.org/10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-475-480
13. Chen, R., Chen, G. (2022). Personalized nutrition for people with diabetes and at risk of diabetes has begun. *Journal of Future Foods*, 2(3), 193–202. https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.06.001
14. Kapoor, M.P., Ishihara, N., Okubo, T. (2016). Soluble dietary fibre partially hydrolysed guar gum markedly impacts on postprandial hyperglycaemia, hyperlipidaemia and incretins metabolic hormones over time in healthy and glucose intolerant subjects. *Journal of Functional Foods*, 24, 207–220. https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.04.008
15. Salas-Salvadó, J., Becerra-Tomás, N., Papandreou, C., Bullo, M. (2019). Dietary patterns emphasizing the consumption of plant foods in the management of type 2 diabetes: A narrative review. *Advances in Nutrition*, 10(Suppl 4), S320-S331. https://doi.org/10.1093/advances/nmy102
16. Xu, R., Bu, Y.-G., Zhao, M.-L., Tao, R., Luo, J., Li, Y. (2020). Studies on antioxidant and α-glucosidase inhibitory constituents of chinese toon bud (Toona sinensis). *Journal of Functional Foods*, 73, Article 104108. https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104108
17. Akinyede, A.I., Ayibiowu, E.O., Fakologbon, T., Awolu, O.O., Fagbemi, T.N. (2023). Nutritional assessment, glycemic indices and anti-diabetic potentials of dough meal generated from optimized blends of matured plantain, soya cake and wheat bran flours. *Journal of Future Foods,* 3(4), 374–382. https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.03.008
18. Oyedemi, S.O., Oyedemi, B.O., Ijeh, I.I., Ohanyerem, P.E., Coopoosamy, R.M., Aiyegoro, O.A. (2017). Alpha-amylase and antioxidative inhibition capacity of some anti-diabetic plants used by the traditional healers in Southeastern Nigeria. *The Scientific World Journal,* 2017, Article 3592491. https://doi.org/10.1155/2017/3592491
19. Wang, C. Y., Zheng, L., Su, G.., Zeng, X.-A., Sun, B., Zhao, M. (2020). Evaluation and exploration of potentially bioactive peptides in casein hydrolysates against liver oxidative damage in STZ/HFD induced diabetic rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(8), 2393–2405. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07687
20. Wang, Q., Chen, R., Zhang, C., Inam-U-LIah, Piao, F., Shi, X. (2019). NGF protects bone marrow mesenchymal stem cells against 2,5-hexanedione-induced apoptosis in vitro via Akt/Bad signal pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 457(1–2), 133–143. https://doi.org/10.1007/s11010-019-03518-7
21. Lunt, H., Carr, A.C., Heenan, H.F., Vlasiuk, E., Zawari, M., Prickett, T. et al. (2023). People with diabetes and hypovitaminosis C fail to conserve urinary vitamin C. *Journal of Clinical and Translational Endocrinology*, 31, Article 100316. https://doi.org/10.1016/j.jcte.2023.100316
22. Рябцева, С.А., Храмцов, А.Г., Будкевич, Р.О., Анисимов, Г.С., Чукло, А.О., Шпак, М.А. (2020). Физиологические эффекты, механизмы действия и применение лактулозы. *Вопросы питания*, 89(2), 5–20. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10012
23. Табаторович, А.Н., Резниченко, И.Ю. (2019). Разработка и оценка качества диабетического желейного мармелада «Каркаде», обогащенного янтарной кислотой. Техника и технология пищевых производств, 49(2), 320–329. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-320-329
24. Zinina, O., Merenkova, S., Galimov, D. (2021). Optimization of microbial hydrolysis parameters of poultry by-products using probiotic microorganisms to obtain protein hydrolysates. *Fermentation*, 7(3), Article 122. https://doi.org/10.3390/fermentation7030122
25. Khvostov, D.V., Vostrikova, N.L., Chernukha, I.M. (2022). Methodology for the identification of bioactive and marker peptides in the organs of cattle and pigs. *Theory and Practice of Meat Processing*, 7(2), 118–124. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2022-7-2-118-124
26. Tsugawa, H., Nakabayashi, R., Mori, T., Yamada, Y., Takahashi, M., Rai, A. et al. (2019). A cheminformatics approach to characterize metabolomes in stable-isotope-labeled organisms. *Nature Methods*, 16, 295–298. http://doi.org/10.1038/s41592-019-0358-2
27. Karkischenko, V.N., Skvortsova, V.I., Gasanov, M.T., Fokin, Y.V., Nesterov, M.S., Petrova, N.V. et al. (2021). Inhaled [D-Ala2]-Dynorphin 1–6 prevents hyperacetylation and release of high mobility group Box 1 in a mouse model of acute lung Injury. *Journal of Immunology Research*, 2021, Article 4414544. https://doi.org/10.1155/2021/4414544
28. Minkiewicz, P., Iwaniak, A., Darewicz, M. (2019). BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: Current opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), Article 5978. https://doi.org/10.3390/ijms20235978
29. PeptideRanker. Retrieved from http://distilldeep.ucd.ie/PeptideRanker/ Accessed November 17, 2022
30. Можейко, Л.А. (2013). Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета Часть I. Аллоксановый диабет. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*, 3(43), 26–29.
31. Smith, K., Taylor, G.S., Brunsgaard, L.H., Walker, M., Davies, K.A.B., Stevenson, E. J. (2022). Thrice daily consumption of a novel, premeal shot containing a low dose of whey protein increases time in euglycemia during 7 days of free-living in individuals with type 2 diabetes. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 10(3), Article e002820. https://doi.org/10.1136/bmjdrc-2022-002820
32. Горячева, М.А., Макарова, М.Н. (2016). Особенности проведения глюкозотолерантного теста у мелких лабораторных грызунов (мыши и крысы). *Международный вестник ветеринарии*, 3, 155–159.
33. Агаркова, Е.Ю., Рязанцева, К.А., Кручинин, А.Г. (2020). Противодиабетическая активность белков молочной сыворотки. Техника и технология пищевых производств, 50(2), 306–318, https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-2-306-318
34. Du, X., Jing, H., Wang, L., Huang, X., Wang, X., Wang, H. (2022). Characterization of structure, physicochemical properties, and hypoglycemic activity of goat milk whey protein hydrolysate processed with different proteases. *LWT,* 159, Article 113257. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113257
35. Yagi, M., Uenaka, S., Ishizaki, K., Sakiyama, C., Takeda, R., Yonei, Y. (2020). Effect of the postprandial blood glucose on lemon juice and rice intake. *Glycative Stress Research*, 7(2), 174–180. https://doi.org/10.24659/gsr.7.2_174
36. Avila, F., Jimenez-Aspee, F., Cruz, N., Gomez, C., Gonzalez, M. A., Ravello, N. (2019). Additive effect of maqui (Aristotelia chilensis) and lemon (Citrus x limon) juice in the postprandial glycemic responses after the intake of high glycemic index meals in healthy men. *NFS Journal*, 17, 8–16. https://doi.org/10.1016/j.nfs.2019.09.001

REFERENCES

1. Rivero-Pino, F., Espejo-Carpio, F.J., Guadix, E.M. (2021). Identification of dipeptidyl peptidase IV(DPP-IV) inhibitory peptides from vegetable protein sources. *Food Chemistry*, 354, Article 129473. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129473
2. Vaskovsky, A.M., Chvanova, M.S., Rebezov, M.B. (2020). Creation of digital twins of neural network technology of personalization of food products for diabetics. *Conference Proceedings — 4th Scientific School on Dynamics of Complex Networks and their Application in Intellectual Robotics, DCNAIR,* 251–253, Article 9216776. https://doi.org/10.1109/DCNAIR50402.2020.9216776
3. Tutelyan, V.A., Sharafetdinov, Kh. Kh., Lapik, I.A., Vorobyeva, I.S., Sukhanov, B.P. (2014). Priorities in the development of specialized food products with optimized composition for patients with type 2 diabetes mellitus. *Voprosy Pitaniya,* 83(6), 41–51. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2014-00060 (In Russian)
4. Sharafetdinov, Kh. Kh., Plotnikova, O.A., Nazarova, A.M., Kondratieva, O.V. (2017). Specialized foods with a modified carbohydrate profile in the correction of metabolic disorders in type 2 diabetes. *Voprosy Pitaniia,* 86(6), 56–66. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00006 (In Russian)
5. Kochetkova, A.A., Vorobyeva, I.S., Vorobyeva, V.M., Sharafetdinov, Kh. Kh., Plotnikova, O.A., Pilipenko, V.V. et al. (2018). Specialized food products with modified carbohydrate profile for dietary correction of diet of patients with type 2 diabetes. *Voprosy Pitaniia,* 87(6), 76–88. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10069 (In Russian)
6. Hemker, A.K., Nguyen, L.T., Karwe, M., Salvi, D. (2020). Effects of pressure-assisted enzymatic hydrolysis on functional and bioactive properties of tilapia (Oreochromis niloticus) by-product protein hydrolysates. *LWT*, 122, Article 109003. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.109003
7. Sanchez, A., Vazquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety*, 1(1), 29–46. https://doi.org/10.1093/fqs/fyx006
8. Bhandari, D., Rafiq, S., Gat, Y., Gat, P., Waghmare, R., Kumar, V. (2020). A review on bioactive peptides: Physiological functions, bioavailability and safety. *Inter-*

national Journal of Peptide Research and Therapeutics, 26, 139–150. https://doi.org/10.1007/s10989-019-09823-5
9. Elam, E., Feng, J., Lv, Y.-M., Ni, Z.-J., Sun, P., Thakur, K. et al. (2021). Recent advances on bioactive food derived anti-diabetic hydrolysates and peptides from natural resources. *Journal of Functional Foods*, 86, Article 104674. https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104674
10. Chen, F., Jiang, H., Lu, Y., Chen, W., Huang, G. (2019). Identification and *in silico* analysis of antithrombotic peptides from the enzymatic hydrolysates of Tenebrio molitor larvae. *European Food Research and Technology*, 245, 2687–2695. https://doi.org/10.1007/s00217-019-03381-2
11. Ryazantseva, K.A., Agarkova, E. Yu., Kruchinin, A.G. (2019). Whey hydrolysates as ingredients for improving the functional properties of dairy products. *Milk River*, 4(76), 26–28. (In Russian)
12. Ryazantseva, K.A. (2020). Whey protein hydrolysates as the source of peptides biological activity for thei incorporation into functional food products. *Actual Issues of the Dairy Industry, Cross-Industry Technologies and Quality Management Systems*, 1(1), 475–480. https://doi.org/10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-475-480 (In Russian)
13. Chen, R., Chen, G. (2022). Personalized nutrition for people with diabetes and at risk of diabetes has begun. *Journal of Future Foods*, 2(3), 193–202. https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.06.001
14. Kapoor, M.P., Ishihara, N., Okubo, T. (2016). Soluble dietary fibre partially hydrolysed guar gum markedly impacts on postprandial hyperglycaemia, hyperlipidaemia and incretins metabolic hormones over time in healthy and glucose intolerant subjects. *Journal of Functional Foods*, 24, 207–220. https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.04.008
15. Salas-Salvadó, J., Becerra-Tomás, N., Papandreou, C., Bullo, M. (2019). Dietary patterns emphasizing the consumption of plant foods in the management of type 2 diabetes: A narrative review. *Advances in Nutrition*, 10(Suppl 4), S320-S331. https://doi.org/10.1093/advances/nmy102
16. Xu, R., Bu, Y.-G., Zhao, M.-L., Tao, R., Luo, J., Li, Y. (2020). Studies on antioxidant and α-glucosidase inhibitory constituents of chinese toon bud (Toona sinensis). *Journal of Functional Foods*, 73, Article 104108. https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104108
17. Akinyede, A.I., Ayibiowu, E.O., Fakologbon, T., Awolu, O.O., Fagbemi, T.N. (2023). Nutritional assessment, glycemic indices and anti-diabetic potentials of dough meal generated from optimized blends of matured plantain, soya cake and wheat bran flours. *Journal of Future Foods,* 3(4), 374–382. https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.03.008
18. Oyedemi, S.O., Oyedemi, B.O., Ijeh, I.I., Ohanyerem, P.E., Coopoosamy, R.M., Aiyegoro, O.A. (2017). Alpha-amylase and antioxidative inhibition capacity of some anti-diabetic plants used by the traditional healers in Southeastern Nigeria. *The Scientific World Journal,* 2017, Article 3592491. https://doi.org/10.1155/2017/3592491
19. Wang, C. Y., Zheng, L., Su, G.., Zeng, X.-A., Sun, B., Zhao, M. (2020). Evaluation and exploration of potentially bioactive peptides in casein hydrolysates against liver oxidative damage in STZ/HFD induced diabetic rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(8), 2393–2405. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07687
20. Wang, Q., Chen, R., Zhang, C., Inam-U-LIah, Piao, F., Shi, X. (2019). NGF protects bone marrow mesenchymal stem cells against 2,5-hexanedione-induced apoptosis in vitro via Akt/Bad signal pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 457(1–2), 133–143. https://doi.org/10.1007/s11010-019-03518-7
21. Lunt, H., Carr, A.C., Heenan, H.F., Vlasiuk, E., Zawari, M., Prickett, T. et al. (2023). People with diabetes and hypovitaminosis C fail to conserve urinary vitamin C. *Journal of Clinical and Translational Endocrinology,* 31, Article 100316. https://doi.org/10.1016/j.jcte.2023.100316
22. Ryabtseva, S.A., Khramtsov, A.G., Budkevich, R.O., Anisimov, G.S., Chuklo, A.O., Shpak, M.A. (2020). Physiological effects, mechanisms of action and application of lactulose. *Voprosy Pitaniya,* 89(2), 5–20. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10012 (In Russian)
23. Tabatorovich, A.N., Reznichenko, I. Yu. (2019). Formulation and quality assessment of diabetic jelly marmalade 'Karkade' fortified with succinic acid. *Food Production: Techniques and Technology,* 49(2), 320–329. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-320-329 (In Russian)
24. Zinina, O., Merenkova, S., Galimov, D. (2021). Optimization of microbial hydrolysis parameters of poultry by-products using probiotic microorganisms to obtain protein hydrolysates. *Fermentation*, 7(3), Article 122. https://doi.org/10.3390/fermentation7030122
25. Khvostov, D.V., Vostrikova, N.L., Chernukha, I.M. (2022). Methodology for the identification of bioactive and marker peptides in the organs of cattle and pigs. *Theory and Practice of Meat Processing*, 7(2), 118–124. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2022-7-2-118-124
26. Tsugawa, H., Nakabayashi, R., Mori, T., Yamada, Y., Takahashi, M., Rai, A. et al. (2019). A cheminformatics approach to characterize metabolomes in stable-isotope-labeled organisms. *Nature Methods*, 16, 295–298. http://doi.org/10.1038/s41592-019-0358-2
27. Karkischenko, V.N., Skvortsova, V.I., Gasanov, M.T., Fokin, Y.V., Nesterov, M.S., Petrova, N.V. et al. (2021). Inhaled [D-Ala2]-Dynorphin 1–6 prevents hyperacetylation and release of high mobility group Box 1 in a mouse model of acute lung Injury. *Journal of Immunology Research*, 2021, Article 4414544. https://doi.org/10.1155/2021/4414544
28. Minkiewicz, P., Iwaniak, A., Darewicz, M. (2019). BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: Current opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), Article 5978. https://doi.org/10.3390/ijms20235978
29. PeptideRanker. Retrieved from http://distilldeep.ucd.ie/PeptideRanker/ Accessed November 17, 2022
30. Mozheyko, L.A. (2013). Experimental models for studying diabetes mellitus Part I. Alloxan diabetes. *Journal of the Grodno State Medical University*, 3(43), 26–29. (In Russian)
31. Smith, K., Taylor, G.S., Brunsgaard, L.H., Walker, M., Davies, K.A.B., Stevenson, E. J. et al. (2022). Thrice daily consumption of a novel, premeal shot containing a low dose of whey protein increases time in euglycemia during 7 days of free-living in individuals with type 2 diabetes. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 10(3), Article e002820. https://doi.org/10.1136/bmjdrc-2022-002820
32. Goryacheva, M.A., Makarova, M.N. (2016). Special aspects of glucose tolerance test in small laboratory rodents (mice and rats). *International Bulletin of Veterinary Medicine*, 3, 155–159. (In Russian)
33. Agarkova, E. Yu., Ryazantseva, K.A., Kruchinin, A.G. (2020). Anti-diabetic activity of whey proteins. *Food Processing: Techniques and Technology*, 50(2), 306–318. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-2-306-318 (In Russian)
34. Du, X., Jing, H., Wang, L., Huang, X., Wang, X., Wang, H. (2022). Characterization of structure, physicochemical properties, and hypoglycemic activity of goat milk whey protein hydrolysate processed with different proteases. *LWT,* 159, Article 113257. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113257
35. Yagi, M., Uenaka, S., Ishizaki, K., Sakiyama, C., Takeda, R., Yonei, Y. (2020). Effect of the postprandial blood glucose on lemon juice and rice intake. *Glycative Stress Research*, 7(2), 174–180. https://doi.org/10.24659/gsr.7.2_174
36. Avila, F., Jimenez-Aspee, F., Cruz, N., Gomez, C., Gonzalez, M. A., Ravello, N. (2019). Additive effect of maqui (Aristotelia chilensis) and lemon (Citrus x limon) juice in the postprandial glycemic responses after the intake of high glycemic index meals in healthy men. *NFS Journal*, 17, 8–16. https://doi.org/10.1016/j.nfs.2019.09.001

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	**Affiliation**
Зинина Оксана Владимировна — кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, кафедра «Пищевые и биотехнологии», Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет) 454080, Челябинск, пр. Ленина, 76 Тел.: +7–906–871–36–81 E-mail: zininaov@susu.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4817-1645 * автор для контактов	**Oksana V. Zinina**, Candidate of Agricultural Sciences, Docent, Department of Food and Biotechnology, South Ural State University (National Research University) 76, Lenin av., 454080, Chelyabinsk, Russia Tel.: +7–906–871–36–81 E-mail: zininaov@susu.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4817-1645 * corresponding author
Николина Анна Дмитриевна — лаборант, кафедра «Пищевые и биотехнологии», Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), 454080, Челябинск, пр. Ленина, 76 Тел.: +7–909–085–91–58 E-mail: nikolina2001@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0988-0695	**Anna D. Nikolina**, Laboratory Assistant, Department of Food and Biotechnology, South Ural State University (National Research University) 76, Lenin av., 454080, Chelyabinsk, Russia Tel.: +7–909–085–91–58 E-mail: nikolina2001@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0988-0695
Хвостов Даниил Владиславович — кандидат технических наук, научный сотрудник, лаборатория «Молекулярной биологии и биоинформатики», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Tel.: +7–495–676–79–81 E-mail: d.hvostov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3445-4559	**Daniil V. Khvostov**, Candidate of Technical Sciences Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Bioinformatics, V. M. Gorbatov Federal Research Centre for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7–495–676–79–81 E-mail: d.hvostov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3445-4559
Ребезов Максим Борисович — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7–999–900–23–65 E-mail: rebezov@ya.ru ORCID: http://orcid.org/ 0000-0003-0857-5143	**Maksim B. Rebezov**, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Researcher, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., Moscow, 109316, Russia Tel.: +7–999–900–23–65 E-mail: rebezov@ya.ru ORCID: http://orcid.org/ 0000-0003-0857-5143
Завьялов Сергей Николаевич — ассистент, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64 Тел.: +7–951–465–21–64 E-mail: chegresssss@mail.ru ORCID: https://orcid.org/ 0000-0002-1413-6887	**Sergey N. Zavyalov**, Assistant, Department of Histology, Embryology and Cytology, South-Ural State Medical University 64, Vorovsky str., 454092, Chelyabinsk, Russia Tel.: +7–951–465–21–64 E-mail: chegresssss@mail.ru ORCID: https://orcid.org/ 0000-0002-1413-6887
Ахмедзянов Роман Вильданович — студент, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64 Тел.: +7–922–635–23–99 E-mail: akhmedroman@bk.ru ORCID: https://orcid.org/ 0009-0008-9833-3554	**Roman V. Akhmedzyanov**, Student, Department of Histology, Embryology and Cytology, South-Ural State Medical University 64, Vorovsky str., 454092, Chelyabinsk, Russia Tel.: +7–922–635–23–99 E-mail: akhmedroman@bk.ru ORCID: https://orcid.org/ 0009-0008-9833-3554

Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.

Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.