

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-44-51>



Поступила 05.06.2023

Поступила после рецензирования 26.02.2024

Принята в печать 02.03.2024

© Зинина О. В., Меренкова С. П., Ребезов М. Б., Вишнякова Е. А., 2024

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЖЕЛУДКОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО КОМПОНЕНТА БИОАКТИВНЫХ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ

Зинина О. В.^{1*}, Меренкова С. П.¹, Ребезов М. Б.², Вишнякова Е. А.¹

¹ Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

² Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской Академии наук, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

биоактивная пленка, антиоксидантная активность, растворимость, эмульгирующая способность, желудок, молочная сыворотка, гидролиз

Белковые гидролизаты являются перспективным активным компонентом при получении биоактивных пленочных покрытий для продуктов питания. Некоторые биополимеры способны проявлять биологическую активность, однако чаще для придания пленкам этих свойств необходимо подбирать биологически активные вещества. С другой стороны, не все компоненты позволяют формировать пленки с необходимыми свойствами, в связи с чем возникает необходимость исследования отдельных технологических характеристик используемых компонентов. Целью исследований является установление антиоксидантных и технологических свойств белковых гидролизатов, полученных микробной ферментацией субпродуктов птицы в молочной сыворотке в присутствии бифидобактерий, пропионовокислых бактерий и ацидофильной палочки, как потенциального компонента биоактивных пленочных покрытий для продуктов питания. В качестве контрольного образца использовали гидролизат, полученный ферментацией без добавления указанных видов бактерий. У белковых гидролизатов оценивали функциональные свойства: антиоксидантную способность методом кулонометрического титрования на кулонометре «Эксперт-006» с использованием аскорбиновой кислоты в качестве эталона, антирадикальную активность методом DPPH на спектрофотометре Jenway 6405 UV/Vis с определением величины IC₅₀. Также выявляли технологические свойства, растворимость, влагоудерживающую, жирудерживающую и жиросуспендирующую способности гравиметрическим методом. Кроме того, определяли средний гидродинамический диаметр частиц в белковых гидролизатах на анализаторе размера частиц Microtrac FLEX. Результаты исследований антиоксидантных свойств показали, что антирадикальная активность DPPH в опытных образцах гидролизатов, полученных ферментацией бифидобактериями, была на 14,7% выше по сравнению с контролем; антиоксидантная способность в образцах гидролизатов, полученных ферментацией пропионовокислыми бактериями, на 29,6% превышала аналогичный показатель в контрольном образце. Значение показателя IC₅₀ оказалось наиболее высоким у контрольного образца гидролизата — 2,994 мг/мл, что на 45,5–53,3% выше, чем у опытных образцов гидролизатов. Результаты определения технологических свойств показали, что у белковых гидролизатов, полученных ферментацией разными видами бактерий, они значительно отличаются. Так, наиболее высокие значения жирудерживающей и жиросуспендирующей способностей оказались у гидролизата, полученного ферментацией с бифидобактериями — 351,1% и 61% соответственно, что показывает его потенциал для внесения в состав биокомпозиата в виде белково-масляной эмульсии. Высокая растворимость опытных образцов гидролизатов (от 90,1 до 91,4%) позволяет предположить их равномерное распределение в водной фазе при составлении биокомпозиата пленки. Таким образом, результаты исследований показали перспективность использования белковых гидролизатов из желудков цыплят-бройлеров в сыворотке в качестве активного компонента биоактивных пленочных покрытий. Антиоксидантные свойства белковых гидролизатов позволяют замедлять процессы окисления основных пищевых нутриентов, что внесет вклад в увеличение сроков хранения продуктов питания, упакованных в биоактивные пленки с данным компонентом.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда № 23-26-00153, <https://rscf.ru/project/23-26-00153>.

Received 05.06.2023

Accepted in revised 26.02.2024

Accepted for publication 02.03.2024

© Zinina, O. V., Merenkova, S. P., Rebezov, M. B., Vishnyakova, E. A., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

RESEARCH OF THE PROPERTIES OF PROTEIN HYDROLYSATES OBTAINED FROM THE BROILER CHICKEN GIZZARDS AS A POTENTIAL COMPONENT OF BIOACTIVE FILM COATINGS

Oksana V. Zinina¹, Svetlana P. Merenkova¹, Maksim B. Rebezov², Elena A. Vishnyakova¹

¹ South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia

² V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

KEY WORDS:

bioactive film, antioxidant activity, solubility, emulsifying capacity, gizzard, whey, hydrolysis

ABSTRACT

Protein hydrolysates are a promising active component in the production of bioactive film coatings for food products. Some biopolymers can exert the biological activity. More often, however, it is necessary to select biologically active substances to impart these properties to films. On the other hand, not all components allow forming films with the required properties, and therefore there is a need to study the individual technological characteristics of the components used. The purpose of the research is to establish the antioxidant and technological properties of protein hydrolysates obtained by microbial fermentation of poultry by-products in whey with bifidobacteria, propionic acid bacteria and acidophilic bacteria as a potential basis for bioactive film coatings of food products. The hydrolysate obtained by fermentation without the addition of the specified

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Зинина, О. В., Меренкова, С. П., Ребезов, М. Б., Вишнякова Е. А. (2024). Исследование свойств белковых гидролизатов, полученных из желудков цыплят-бройлеров, как потенциального компонента биоактивных пленочных покрытий. *Пищевые системы*, 7(1), 44–51. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-44-51>

FOR CITATION: Zinina, O. V., Merenkova, S. P., Rebezov, M. B., Vishnyakova, E. A. (2024). Research of the properties of protein hydrolysates obtained from the broiler chicken gizzards as a potential component of bioactive film coatings. *Food Systems*, 7(1), 44–51. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-44-51>

bacterial species was used as a control sample. The functional properties of protein hydrolysates were assessed: antioxidant capacity by coulometric titration on an Expert-006 coulometer using ascorbic acid as a standard, antiradical activity by the DPPH method on a Jenway 6405 UV/Vis spectrophotometer with determination of the IC_{50} value. The technological properties, solubility, water-holding, fat-holding and fat-emulsifying capacities were also determined by the gravimetric method. In addition, the average hydrodynamic diameter of particles in protein hydrolysates was determined using a Microtrac FLEX particle size analyzer. The results of studies of the antioxidant properties showed that the DPPH antiradical activity was 14.7% higher in the experimental samples of hydrolysates obtained by fermentation with bifidobacteria compared to the control; samples of hydrolysates obtained by fermentation with propionic acid bacteria showed an antioxidant capacity 29.6% higher than that of the control sample. The IC_{50} value turned out to be the highest in the control hydrolysate sample (2.994 mg/ml), which was 45.5–53.3% higher than that in the experimental hydrolysate samples. The results of determining the technological properties showed that they differ significantly for protein hydrolysates obtained by fermentation with different types of bacteria. For example, the highest values of fat-holding and fat-emulsifying capacities were found in the hydrolysate obtained by fermentation with bifidobacteria (351.1% and 61%, respectively), which shows its potential for incorporation into the biocomposite in the form of a protein-oil emulsion. The high solubility of the experimental samples of hydrolysates (from 90.1 to 91.4%) suggests their uniform distribution in the aqueous phase when composing the biocomposite of the film. Thus, the research results have shown the prospects of using protein hydrolysates from the gizzards of broiler chickens in whey as an active component of bioactive film coatings. The antioxidant properties of protein hydrolysates allow slowing down oxidative processes in the main food nutrients, which will contribute to an increase in the shelf life of food products packaged in bioactive films with this component.

FUNDING: This research was funded by Russian Science Foundation No. 23-26-00153, <https://rscf.ru/project/23-26-00153/>.

1. Введение

Белковые гидролизаты и биологически активные пептиды, выделенные из пищевых белков, благодаря своей антиоксидантной и антимикробной активности могут быть использованы в качестве натуральных пищевых консервантов [1]. Их широко используют как активный компонент композиционных упаковочных материалов, обеспечивающих увеличение сроков хранения продуктов питания [2,3].

В последние годы ученые во всем мире все более активно исследуют возможности получения биоразлагаемых упаковочных материалов, которые полностью состоят из натуральных биополимеров [4] и могут употребляться вместе с упакованным продуктом [5].

Однако более перспективны работы, направленные на разработку интеллектуальных пленочных покрытий с новыми функциональными возможностями, содержащих противомикробные агенты, антиоксиданты и биоактивные компоненты для увеличения сроков хранения продукции и повышения ее безопасности [6,7].

Многие ученые продемонстрировали, что использование пищевых активных упаковочных материалов с биоактивными пептидами и белковыми гидролизатами способствует ингибированию патогенных микроорганизмов и замедлению окисления липидов, что в свою очередь повышает безопасность пищевых продуктов [8]. Однако формирование биоактивных свойств пленок, а также их структурно-механических и морфологических характеристик зависит от свойств введенных белковых гидролизатов.

Биоактивные пептиды высвобождаются из пищевых белков в процессе ферментативного гидролиза за счет протеолитической активности микроорганизмов или ферментов. Гидролиз вызывает образование более мелких белковых фракций со специфическими физико-химическими и функциональными свойствами. Такие структурные модификации включают уменьшение молекулярной массы, повышение гидрофильности за счет увеличения полярных групп ($-NH_4^+$, $-CO_2^-$) и изменение их молекулярной организации. Белковые гидролизаты содержат не только биоактивные пептиды, которые представляют собой небольшие фрагменты белка, имеющие 2–20 аминокислотных остатков и молекулярные массы менее 6000 Da [9], но и более высокомолекулярные фрагменты.

Биологически активные пептиды при высвобождении протеолитическими ферментами могут взаимодействовать с соответствующими рецепторами и регулировать физиологические функции организма, проявляя антиоксидантные, антибактериальные, противогрибковые и другие физиологические свойства.

Именно благодаря антиоксидантным свойствам белковые гидролизаты и биологически активные пептиды являются перспективной альтернативой синтетическим консервантам в составе пищевых систем и активных упаковочных материалов. Антиоксидантные пептиды обычно состоят из 3–16 аминокислотных остатков, представленных в основном гистидином, тирозином, метионином, цистеином, триптофаном и лизином, которые также проявляют антиоксидантную активность в свободной форме [10,11].

Биоактивные пептиды, разрывая цепь свободнорадикальных реакций, могут ингибировать скорость ферментативных и неферментативных процессов окисления, инактивировать свободные радикалы, проявляя антиоксидантные свойства [12].

Кроме того, благодаря поверхностно-активным свойствам, белковые гидролизаты могут располагаться на уровне границы раздела фаз масло: вода в пищевых эмульсиях, создавая физический барьер, минимизирующий контакт липидов с окислителями [13].

Биоактивные гидролизаты получают при направленном гидролизе полимерных белковых молекул. Наиболее экологичный метод получения — ферментативный гидролиз, в том числе протеолитическими ферментами культур микроорганизмов. Изменяя условия и параметры ферментации возможно получать белковые гидролизаты с заданными функционально-технологическими и физиологическими свойствами.

В многочисленных исследованиях доказаны технологические свойства гидролизатов коллагена, что позволяет широко применять их в качестве эмульгирующих и стабилизирующих компонентов при получении разных видов эмульсий, суспензий, гелей, а также для формирования устойчивых пищевых систем [14,15].

Функциональные и технологические свойства коллагеновых белков могут быть целенаправленно модифицированы в процессе экстракции и гидролиза. Функциональные свойства, проявляемые белковыми гидролизатами, полученными в результате ферментативной обработки, зависят от природы субстрата, от специфичности используемого фермента и от условий гидролиза [16].

Доказана зависимость гелеобразующих свойств и водоудерживающей способности гидролизатов коллагена от температуры и уровня pH в процессе гидролиза. Кроме того, установлено, что на формирование технологических свойств белка значительно влияют поверхностный заряд, распределение молекулярной массы и температура денатурации [17].

Li и др. (2013) проанализировали, что на растворимость гидролизатов коллагена влияет его молекулярная структура, наличие ионизируемых полярных групп, образующихся при гидролизе, электростатические и гидрофобные взаимодействия отдельных функциональных групп. Технологические свойства коллагена тесно связаны с его молекулярно-массовым распределением, которое зависит от характеристик сырья и от условий процесса получения материала [18].

Белковые гидролизаты, полученные из коллагенсодержащего сырья, широко используются в пищевой и биомедицинской отрасли, фармацевтической инженерии, что обусловлено их уникальными свойствами, высокой биосовместимостью, способностью к биологическому разложению, низкой антигенностью [19,20].

Белковые гидролизаты являются комплексными структурами, которые играют ключевую роль в формировании функциональных свойств и однородности композиционных составов пленок. Эти компоненты обуславливают технологические свойства полимерных систем, проявляя водо- и жирудерживающие свойства, гелеобразующие и стабилизирующие эффекты. В недавних исследованиях было доказано, что высокая растворимость белковых компонентов интенсифицирует их встраивание в структурную матрицу композитов, обуславливает гомогенную структуру и улучшенные механические характеристики [21]. Например, исследования рисового белка и его гидролизата показали, что из-за плохой растворимости белка у пленок образуется шероховатая поверхность и ухудшаются свойства. В то время как пленки с добавлением гидролизата рисового белка обладают превосходной растяжимостью благодаря хорошей раство-

римости гидролизата в воде [22]. При добавлении в биоразлагаемые пленки на основе хитозана белковых гидролизатов молочной сыворотки установлено незначительное повышение растворимости пленки, что авторы объясняют высокой растворимостью самого гидролизата. Кроме того, введение сывороточного белкового гидролизата значительно повышало прочность композитных пленок из хитозана. Ученые связывают это с ковалентными взаимодействиями между аминными группами хитозана и карбоновыми группами аминокислот молочной сыворотки, то есть с межмолекулярным сшиванием, за счет которого повышается механическая прочность пленок [23]. Жироэмульгирующие свойства белковых гидролизатов имеют потенциал для стабилизации микроэмульсий, встраиваемых в состав биоактивных пленок [24]. Также, например, установлено, что наличие полярных групп, образуемых в результате ферментативного гидролиза рыбного белка, придает получаемым гидролизатам хорошую водоудерживающую способность. Пленки с добавлением таких гидролизатов белка с полярными группами обладают высокой гидрофильностью и водопоглощением, что обуславливает снижение угла контакта пленки с водой [25].

Многие ученые указывают на высокую протеолитическую активность бифидобактерий, пропионовокислых бактерий и ацидофильной палочки. Синергетический эффект от воздействия на белковый субстрат ферментов, продуцируемых микроорганизмами, а также таких продуктов метаболизма, как органические кислоты, позволяет преобразовать полипептидные цепи сложных белков в более простые пептиды и свободные аминокислоты.

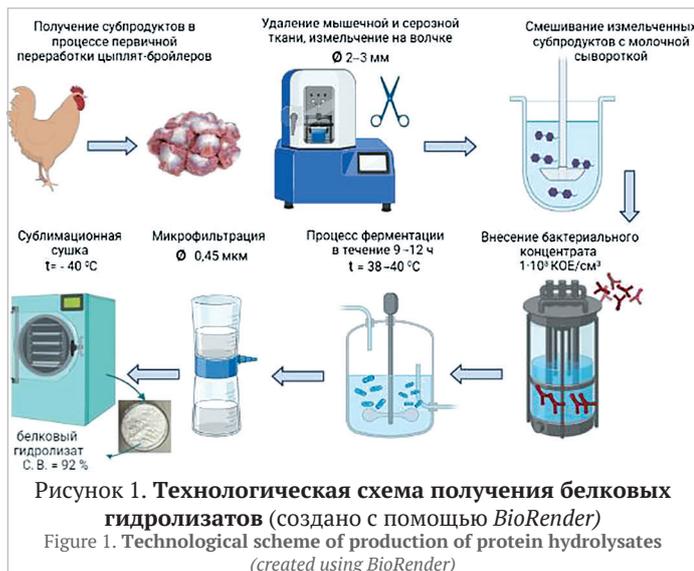
В связи с этим перспективно использование данных видов бактерий для проведения микробной ферментации белковых субстратов, например, в виде субпродуктов птицы и молочной сыворотки.

С точки зрения преобразования вторичных сырьевых ресурсов предприятий пищевой отрасли в белковые компоненты и добавки, используемые и в производстве биоразлагаемых материалов, биоконверсия является многообещающим подходом как к сохранению продовольственных ресурсов, так и к обеспечению экологического благополучия.

Целью исследований является установление функциональных и технологических свойств белковых гидролизатов, полученных микробной ферментацией субпродуктов птицы в молочной сыворотке в присутствии бифидобактерий, пропионовокислых бактерий и ацидофильной палочки, как потенциального активного компонента пленочных покрытий для продуктов питания.

2. Объекты и методы

Объектом исследований являются белковые гидролизаты (БГ), полученные микробной ферментацией желудков цыплят-бройлеров в молочной сыворотке. Технологическая схема получения белковых гидролизатов представлена на Рисунке 1, оптимальные параметры процесса гидролиза (температура, продолжительность, количество закваски) были установлены в результате многофакторного эксперимента в ранее опубликованной работе [26].



В качестве биологических агентов для ферментации использовали закваски, представленные в Таблице 1; жидкий концентрат бифидобактерий и концентрат пропионовокислых бактерий «Про-

пионикс» производства ООО «Пропионикс» (Россия), закваска «Ацидофилин» (ООО «Бакздрав», Россия).

Количество вводимых бактериальных препаратов составляло $1 \cdot 10^8$ КОЕ/см³.

Таблица 1. Обозначение образцов белковых гидролизатов

Table 1. Designation of the samples of protein hydrolysates

Компонент БГ	Обозначение БГ			
	БГ-К	БГ-А	БГ-П	БГ-Б
Обезжиренные желудки цыплят-бройлеров	+	+	+	+
Молочная сыворотка	+	+	+	+
Закваска «Ацидофилин» (<i>Lactobacillus Acidophilus</i> , <i>Streptococcus thermophiles</i>)		+	–	–
Жидкий концентрат «Пропионикс» (<i>Propionibacterium freudenreichii shermanii</i> KM 186)	–	–	+	–
Жидкий концентрат бифидобактерий (<i>Bifidobacterium longum</i> B379M)	–	–	–	+

У полученных белковых гидролизатов определяли технологические показатели (растворимость, жирудерживающая, влагоудерживающая, жироэмульгирующая способности) и функциональные свойства (антирадикальная активность, антиоксидантная способность).

Для определения жирудерживающей способности (ЖУС) навеску БГ массой 5 г помещали во взвешенную градуированную центрифужную пробирку, добавляли 30 мл рафинированного и дезодорированного подсолнечного масла. Смесь перемешивали в течение 1 мин при скорости вращения магнитной мешалки Stegler HS (Shanghai Jingke Scientific Instrument Co, Ltd, Китай) 1000 об/мин, отстаивали 30 мин, после чего центрифугировали 15 мин при 4000 об/мин в центрифуге ЦЛУ-1 «Орбита» (НПО «Ветинструмент», Россия) и взвешивали пробирку с белком и маслом. Неадсорбированное масло сливали, пробирку устанавливали в наклонном положении под углом 10–15° на 10 мин для удаления оставшегося масла, затем пробирку взвешивали.

ЖУС рассчитывали по формуле:

$$\text{ЖУС} = \frac{a-b}{c} \cdot 100 \quad (1),$$

где a — масса пробирки с белком и связанным маслом, г;

b — масса пробирки с белком, г;

c — навеска белка, г.

Определение влагоудерживающей способности (ВУС) проводили аналогично ЖУС, но вместо подсолнечного масла в центрифужную пробирку добавляли воду.

ВУС рассчитывали по формуле:

$$\text{ВУС} = \frac{d-b}{c} \cdot 100 \quad (2),$$

где d — масса пробирки с белком и связанной водой, г.

Для определения жироэмульгирующей способности (ЖЭС) навеску гидролизата массой 3,5 г помещали в блендер, добавляли 50 мл дистиллированной воды и готовили суспензию в течение 1 мин при 4000 об/мин. Затем в смесь добавляли 50 мл подсолнечного масла и эмульгировали в блендере 5 минут. Эмульсию помещали в градуированную пробирку и центрифугировали в центрифуге ЦЛУ-1 «Орбита» (НПО «Ветинструмент», Россия) 5 минут при 2000 об/мин.

ЖЭС рассчитывали по формуле:

$$\text{ЖЭС} = \frac{V_3}{V_0} \cdot 100 \cdot 100 \quad (3),$$

где V_3 — объем эмульгированного слоя, мл;

V_0 — общий объем смеси, мл.

Для определения растворимости в мерный стакан вместимостью 100 см³ помещали навеску БГ в количестве 3,5 г. Навеску растворяли небольшими порциями воды температурой $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$, тщательно растирая комочки стеклянной палочкой, доводили объем воды до 50 см³ и выдерживали полученный раствор в течение 15–20 мин при температуре 18–25 °С. Растворенный БГ перемешивали, заполняли им предварительно взвешенные центрифужные пробирки. Пробирки центрифугировали (НПО «Ветинструмент», Россия) в течение 5 мин. По окончании центрифугирования при отсутствии четкой границы надосадочную жидкость сливали, оставляя над осадком ее

слой высотой около 5 мм. Затем доливали в пробирки воду температурой 18–25 °С до верхней метки, перемешивали содержимое пробирок стеклянной палочкой, закрывали пробками и центрифугировали в течение 5 мин. Из пробирок удаляли надосадочную жидкость, подсушивали с остатком и взвешивали. По разности масс пустой пробирки и пробирки с остатком определяли растворимость (%).

Средний гидродинамический размер частиц в БГ определяли на анализаторе размера частиц Microtrac FLEX (Microtrac Inc., Montgomeryville, США).

У полученных белковых гидролизатов исследовали молекулярно-массовое распределение пептидов методом УВЭЖХ, совмещенной с масс-спектрометрией, с последующей идентификацией полученных пептидов. 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, H₂O (А) и ACN (В), приготовленные с 0,1% муравьиной кислотой (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Германия) v/v, прокачивали со скоростью 0,2 мл/мин, объем впрыска составлял 10 мкл. Подробно методика проведения исследования с обозначением используемых параметров описана в работе [1].

Обнаруженные соединения идентифицировали методом MS-фрагментации с использованием программного обеспечения MSIAL (версия 5.1, RIKEN CSRS, Yokohama City, Япония). Более 300 соединений было получено с применением параметров программы MSIAL с точным допуском по массе MS1–0,01 Да и MS2–0,05 Да. Количественное определение основных пептидов проводили с использованием калибровочных кривых Лейтрагина®; коэффициент регрессии > 0,990.

Антирадикальную активность 1%-ных растворов белковых гидролизатов определяли методом DPPH. Для исследований использовали раствор: 0,025 г 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH, Central Drug House Ltd, Daryaganj, Delhi, India) в 100 мл этанола. 0,5 мл раствора БГ смешивали с 3,6 мл раствора DPPH, инкубировали в темноте в течение 30 мин. Поглощение измеряли на спектрофотометре Jenway 6405 UV/Vis (Jenway Ltd, Felstad, Великобритания) при 515 нм [27].

Радикал-поглощающую активность (РПА) DPPH рассчитывали по формуле, %:

$$РПА_{DPPH} = \frac{A_k - A_i}{A_k} \cdot 100\% \quad (4),$$

где A_k — значение оптической плотности для контрольного образца; A_i — значение оптической плотности исследуемого образца.

Также определяли значение показателя IC₅₀, который характеризует концентрацию вещества, связывающего 50% образовавшихся радикалов DPPH. Величину IC₅₀ рассчитывали по графику значений РПА_{DPPH} (%) для различных концентраций белковых гидролизатов (от 0 до 9 мг/мл). Для этого готовили серию разведений БГ в концентрациях 1, 3, 5, 7 и 9 мг/мл и измеряли их антирадикальную активность. По полученным данным построили график, по которому установили значение величины IC₅₀.

Антиоксидантную способность (АОС) БГ электрогенерированным бромом определяли методом кулонометрического титрования на кулонометре «Эксперт-006» (НПК ООО «Эконикс-Эксперт», Россия). Для анализа использовали 1%-ный спиртовой раствор БГ, объем аликвоты составлял 1 мл. В качестве эталона применяли 0,1%-й раствор аскорбиновой кислоты. Суммарную антиоксидантную активность в пересчете на г аскорбиновой кислоты на 100 см³ пробы вычисляли по формуле (5):

$$X = Q \cdot \frac{C \cdot V_{ан}}{100 \cdot I \cdot t} \quad (5),$$

где Q — суммарная антиоксидантная активность анализируемой пробы в количестве электричества, Кл;
C — концентрация аскорбиновой кислоты в стандартном растворе в г на 100 см³ раствора;
I — сила тока (50 мА);
t — время достижения конечной точки титрования, с;
 $V_{ан}$ — объем аликвоты, см³.

Результаты выражали в мг-экв. аскорбиновой кислоты / г БГ.

Анализ проводили в пяти повторностях; каждое измерение повторяли трижды. Результаты выражали как средние значения пяти измерений ± стандартное отклонение. Значения вероятности $p \leq 0,05$ были взяты для обозначения статистической значимости. Данные

были проанализированы с помощью однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки с использованием программного обеспечения в свободном доступе, предложенного Assaad и др. [28].

3. Результаты и обсуждение

Технологические свойства компонентов композиционных материалов в совокупности влияют на формирование однородных и стабильных композиционных составов для последующего получения пленок с необходимыми свойствами. Помимо основной структурообразующей матрицы в виде природных биополимеров, в композиционные составы добавляют пластификаторы и эмульгаторы для улучшения гибкости, растяжимости и стабильности структуры пленочного покрытия. Поэтому для получения однородных стабильных пленок с добавлением белковых гидролизатов в качестве активного компонента важно понимание их технологических свойств.

Результаты определения технологических показателей БГ представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Технологические показатели БГ
Table 2. Technological indicators of protein hydrolysates

Показатель	Значение показателя для гидролизата			
	БГ-К	БГ-А	БГ-П	БГ-Б
Жироудерживающая способность, %	139,5 ± 1,94 ^a	238,1 ± 1,93 ^b	220,5 ± 1,58 ^c	351,1 ± 3,29 ^a
Влагоудерживающая способность, %	170,3 ± 2,13 ^d	274,3 ± 1,81 ^c	315,0 ± 2,67 ^b	363,0 ± 1,83 ^a
Жироэмульгирующая способность, %	47,2 ± 0,27 ^c	48,3 ± 0,42 ^c	53,2 ± 0,43 ^b	61,0 ± 0,64 ^a
Растворимость, %	88,9 ± 1,22 ^a	91,2 ± 0,80 ^a	90,1 ± 1,49 ^a	91,4 ± 0,81 ^a

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы $n = 5$. Средние значения в столбце без общей надстрочной буквы различаются ($p < 0,05$) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

Результаты оценки технологических свойств показали, что все исследуемые гидролизаты обладают достаточно высокой растворимостью независимо от вида микроорганизмов и их присутствия в сыворотке при ферментации, что благоприятно для получения гомогенных растворов и композиций. Высокая растворимость доказывает присутствие в БГ пептидов с гидрофильными свойствами, а включение таких компонентов в пленки усиливает эффект пластификатора, увеличивает свободный объем матрицы пленки, вследствие чего она становится более проницаемой и обладает высоким значением показателя паропроницаемости [29].

Результаты исследований показали существенные различия в значениях влагоудерживающей способности для разных видов БГ. Наибольшая способность удерживать влагу установлена у БГ, полученного ферментацией бифидобактериями — 363,0% ($p < 0,05$). Высокая жироэмульгирующая способность БГ-П и БГ-Б показывает перспективность этих гидролизатов для включения в состав пленок на основе микроэмульсий, для которых важно проявление эмульгирующих свойств при взаимодействии компонентов композиции. При гидролизе вследствие нарушения целостности белковых структур образуются многочисленные пептиды, обладающие лучшими реакционными свойствами по сравнению с нативными белками, что влияет на способность улавливать масло [30].

Отмечено, что включение в композиционные составы пленок гидрофильных молекул позволяет придать им более однородную структуру, что объясняется эффективным равномерным диспергированием молекул в альгинатной матрице [31]. Похожий результат получен при исследованиях хитозановых пленок с включением в состав хорошо растворимого гидролизата рисового белка [22].

Косвенно о степени гидролиза можно судить по среднему размеру частиц в БГ. Полученные результаты оценки среднего размера частиц в гидролизатах перед фильтрацией через мембранный фильтр диаметром пор 0,45 мкм (Рисунок 2) согласуются с установленными значениями жироэмульгирующей способности для разных видов БГ.

Присутствующие в гидролизатах, полученных микробной ферментацией, продукты гидролиза характеризуются меньшим гидродинамическим диаметром (на 34,6–45,2%) по сравнению с контрольным гидролизатом. Частицы с меньшим диаметром способны более эффективно встраиваться в матрицу биокомпозитов.

Анализ молекулярной массы выявленных в гидролизатах пептидов (Рисунок 3) показал, что в основном пептиды имеют молекулярную массу до 1,5 кДа. Выявлен один пептид с максимальной молекулярной массой 2,01823 кДа — RAGGAGAAAAVPGGAGPGGGRAAL.

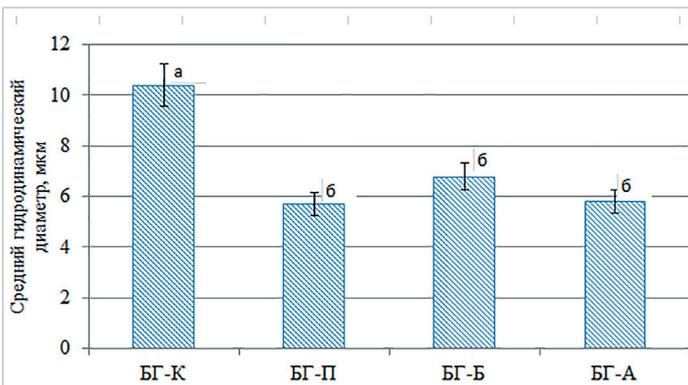


Рисунок 2. Средний гидродинамический диаметр частиц (различие в средних значениях для образцов с различной надстрочной буквой статистически достоверно ($p < 0,05$))
 Figure 2. Average hydrodynamic diameter of particles (difference in mean values for the samples with the different letter is statistically significant ($p < 0,05$))

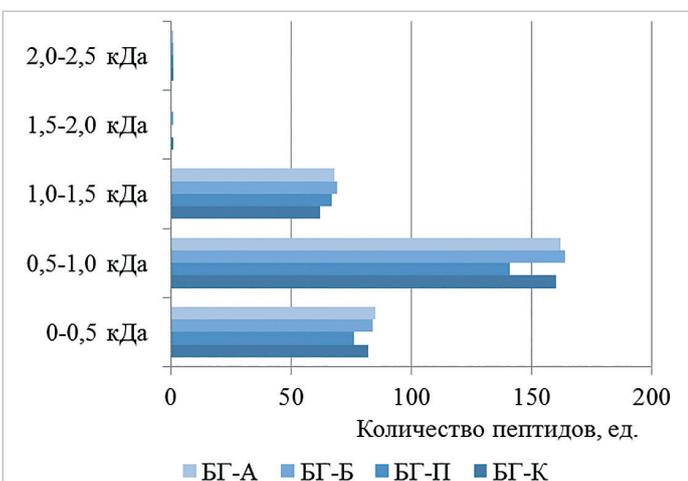


Рисунок 3. Количественное распределение выявленных в БГ пептидов, сгруппированных по молекулярной массе
 Figure 3. Quantitative distribution of peptides revealed in protein hydrolysates grouped by molecular weight

Больше всего пептидов оказалось в БГ-Б (319), меньше всего — в БГ-П (285). Анализ распределения пептидов по фракциям показал, что на долю пептидов с молекулярной массой до 0,5 кДа приходится от 26,3% у БГ-Б до 26,9% у БГ-А по отношению к общему количеству обнаруженных пептидов в данных гидролизатах. Наиболее весомой оказалась фракция пептидов с молекулярной массой от 0,5 до 1,0 кДа — от 49,5% у БГ-П до 52,3% у БГ-К

Результаты оценки антиоксидантного потенциала БГ как активного компонента биоактивных пленочных покрытий представлены в Таблице 3.

Таблица 3. Антиоксидантные свойства БГ
 Table 3. Antioxidant properties of protein hydrolysates

Образец БГ	АОС, мг-экв. аскорбиновой кислоты/г	IC ₅₀ мг/мл	ДРРН, %
БГ-К	4,462 ± 0,020 ^c	2,994 ± 0,015 ^a	66,7 ± 0,50 ^b
БГ-П	5,784 ± 0,022 ^a	1,597 ± 0,010 ^b	68,1 ± 0,26 ^b
БГ-Б	4,271 ± 0,015 ^d	1,363 ± 0,008 ^d	76,5 ± 0,41 ^a
БГ-А	4,813 ± 0,011 ^b	1,426 ± 0,009 ^c	67,4 ± 0,18 ^b

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n = 5. Средние значения в строке без общей надстрочной буквы различаются ($p < 0,05$) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

Результаты определения антиоксидантных свойств БГ показали, что белковые гидролизаты, полученные ферментацией, обладают высокими значениями антирадикальной активности по сравнению с гидролизатами, полученными без внесения бактерий. Так, способность гидролизатов ингибировать радикалы DPPH достоверно воз-

росла на 14,7% ($p < 0,05$) при ферментации бифидобактериями по сравнению с контролем, при этом для других опытных образцов БГ не было существенных различий в значениях антирадикальной активности по сравнению с контрольным образцом.

Однако антиоксидантная способность оказалась на 29,6% ($p < 0,05$) выше у образцов БГ, полученных ферментацией пропионовокислыми бактериями, по сравнению с контролем, и на 20,2–35,3% ($p < 0,05$) выше относительно остальных опытных образцов гидролизатов.

Выявленные закономерности связаны с различиями в работе ферментативной системы разных видов бактерий в данном субстрате. Метаболиты и пептиды, получаемые при ферментации бифидобактериями и пропионовокислыми бактериями, более эффективны в ингибировании свободных радикалов и перекисного окисления липидов.

Доказанная активность позволит сформировать выраженные антиоксидантные свойства биоразлагаемых пленок. Так, например, при исследовании белковых гидролизатов семян хлопчатника была доказана их высокая антиоксидантная активность и установлен потенциал использования в составе пленок и покрытий [32].

Значения антирадикальной активности DPPH, выявленные другими авторами, существенно отличаются, что, видимо, связано с использованием различных видов сырья для получения гидролизатов и с проведением ферментации разными видами ферментных препаратов: для экстракта ферментированной утиной печени в концентрации 1,0 мг/мл данный показатель установлен на уровне 60,57% [33]; более низкие значения выявлены для гидролизатов утиной печени [34] и для рыбных гидролизатов в концентрации 5 мг/мл — 44,54% [35].

При этом в литературе также отмечено положительное влияние введения БГ на антиоксидантные свойства упаковочных материалов; установлено, что альгинатные пленки с гидролизатом белков семян хлопчатника обладают не только высокой антирадикальной и антиокислительной способностью, но и ингибирующим эффектом против патогенных микроорганизмов [32].

В Таблице 4 представлена информация о разработках упаковочных материалов на основе белковых гидролизатов и изолятов с обозначением их влияния на различные свойства пленок.

Таблица 4. Разработки биоактивных пленочных материалов с активными белковыми компонентами

Table 4. Results of the development of bioactive film materials with active protein components

Белковый компонент пленки	Установленные биоактивные свойства	Источник
Гидролизат рапсового белка	При увеличении степени гидролиза рапсовый белок придавал композитным пленкам на основе хитозана более высокую плотность и прочность на разрыв. Компонент обладает высокой антимикробной активностью.	[36]
Гидролизат белка рыбы (ГБР)	Присутствие ГБР увеличивало растворимость в воде, паропроницаемость, удлинение при разрыве и пожелтение пленок. Филе, покрытое пленками с ГБР, содержало более низкие значения общего количества летучих оснований и pH и значительно замедляло рост микроорганизмов, продуцирующих сероводород	[37]
Гидролизат желатина из кожи карпа	Улучшение механических свойств пленок, получение антимикробных и антиоксидантных свойств	[38]
Гидролизат белка каракатицы	Более высокие свойства УФ-барьера. Снизились удлинение на разрыв и прочность на растяжение, а также гидрофобность; повысилась антиоксидантная активность по сравнению с желатиновой пленкой	[39]
Белковый гидролизат семян хлопчатника	Введение БГ увеличило толщину и паропроницаемость альгинатной пленки. Повысились содержание фенолов и антиоксидантная активность	[32]
Гидролизат соевого белка	Высокая антиоксидантная и противомикробная активность. Пленка обогащена биоактивной гамма-аминомасляной кислотой. Высокая прочность на растяжение и удлинение при разрыве в сочетании с более гладкой, компактной и однородной поверхностью с меньшим количеством пор и трещин	[21]
Гидролизат бычьей плазмы (ГБП)	При добавлении ГБП снижался предел прочности, модуль упругости и температура стеклования пленок, а также увеличивалось разрывное удлинение и паропроницаемость. Гидролизат оказал пластифицирующее действие на свойства пленки. Также установлены высокие антиоксидантные свойства	[40]

Представленная в Таблице 4 информация подтверждает потенциал белковых гидролизатов из сырья как животного, так и растительного происхождения, в качестве антимикробного и антиоксидантного компонента биоразлагаемых активных пленок, который позволил увеличивать сроки хранения продуктов питания, замедляя окислительную порчу и рост микроорганизмов. Также отмечено положительное влияние белковых компонентов на другие важные характеристики пленок.

Таким образом, результаты исследований показали высокий потенциал БГ как активных компонентов биоактивных пленочных покрытий, что также согласуется с результатами исследований других авторов.

4. Выводы

Результаты проведенных исследований показали, что белковые гидролизаты из желудков цыплят-бройлеров, полученные

ферментацией в сыворотке с добавлением пропионовокислых, бифидобактерий и ацидофильной палочки, обладают высоким антиоксидантным потенциалом и оптимальными технологическими свойствами.

Благодаря этим свойствам белковые гидролизаты могут являться функциональным компонентом биоактивных пленочных покрытий для продуктов питания.

Использованные виды бактерий оказали различное воздействие на процесс ферментации. В результате полученные белковые гидролизаты значительно отличались по технологическим показателям и антиоксидантным свойствам. Эти различия определяют технологию введения их в состав биокомпозита, а также определяют возможности и области применения полученных упаковочных материалов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Зинина, О. В., Николина, А. Д., Хвостов, Д. В., Ребезов, М. Б., Завьялов, С. Н., Ахмедзянов, П. В. (2023). Белковый гидролизат как источник биоактивных пептидов в пищевой продукции диabetического питания. *Пищевые системы*, 6(4), 440–448. <https://doi.org/10.21325/2618-9771-2023-6-4-440-448>
- Lima, K. O., de Quadros, C. D. C., da Rocha, M., de Lacerda, J. T. J. G., Juliano, M. A., Dias, M. et al. (2019). Bioactivity and bioaccessibility of protein hydrolysates from industrial byproducts of Stripped weakfish (*Cynoscion guatucupa*). *LWT*, 111, 408–413. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.043>
- Tkaczewska, J. (2020). Peptides and protein hydrolysates as food preservatives and components of edible films and coatings — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 106, 298–311. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.022>
- Chaari, M., Elhadef, K., Akermi, S., Akacha, B.B., Fourati, M., Mtibaa, A. C. et al. (2022). Novel active food packaging films based on gelatin-sodium alginate containing beetroot peel extract. *Antioxidants*, 11, Article 2095. <https://doi.org/10.3390/antiox11112095>
- Tanjung, M. R., Rostini, I., Ismail, M. R., Pratama, R. I. (2020). Characterization of edible film from catfish (*Pangasius sp.*) surimi waste water with the addition sorbitol as plasticizer. *World News of Natural Sciences*, 28, 87–102.
- Firouz, S. M., Mohi-Alden, K., Omid, M. (2021). A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. *Food Research International*, 141, Article 110113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110113>
- Rebezov, M., Chughtai, M. F. D., Mehmood, T., Khaliq, A., Tanweer, S., Semenova, A. et al. (2022). Novel techniques for microbiological safety in meat and fish industries. *Applied Sciences*, 12(1), Article 319. <https://doi.org/10.3390/app12010319>
- Huang, T., Qian, Y., Wei, J., Zhou, C. (2019). Polymeric antimicrobial food packaging and its applications. *Polymers*, 11(5), Article 560. <https://doi.org/10.3390/polym11050560>
- 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>
- Matemu, A., Nakamura, S., Katayama, S. (2021). Health benefits of antioxidative peptides derived from legume proteins with a high amino acid score. *Antioxidants*, 10(2), Article 316. <https://doi.org/10.3390/antiox10020316>
- Sanchez, A., Vazquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety*, 1(1), 29–46. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx006>
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Gómez, B., Barba, F. J., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C. et al. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 79, 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.003>
- Loi, C. C., Eyres, G. T., Birch, E. J. (2019). Effect of milk protein composition on physicochemical properties, creaming stability and volatile profile of a protein-stabilised oil-in-water emulsion. *Food Research International*, 120, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.026>
- Alves, S. G. T., Prudêncio-Ferreira, S. H. (2002). Functional properties of collagenous material chicken feet. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52(3), 289–293.
- Sousa, S. C., Fragoso, S. P., Penna, C. R. A., Arcanjo N. M. O., Silva F. A. P., Ferreira V. C. S. et al. (2017). Quality parameters of frankfurter-type sausages with partial replacement of fat by hydrolyzed collagen. *LWT-Food Science and Technology*, 76(Part B), 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.034>
- Mora, L., Reig, M., Toldrá, F. (2014). Bioactive peptides generated from meat industry by-products. *Food Research International*, 65(Part C), 344–349. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.014>
- Moraes, M. C., Cunha, R. L. (2013). Gelation property and water holding capacity of heat-treated collagen at different temperature and pH values. *Food Research International*, 50(1), 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.016>
- Li, Z., Wang, B., Chi, C., Gong, Y., Luo, H., Ding, G. (2013). Influence of average molecular weight on antioxidant and functional properties collagen hydrolysates from *Sphyrna lewini*, *Dasyatis akajei* and *Raja porosa*. *Food Research International*, 51(1), 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.031>
- Vichare, R., Hossain, C. M., Ali, K. A., D. Dutta, Sneed, K., Biswal, M. R. (2021). Collagen-based nanomaterials in drug delivery and biomedical applications. Chapter in a book: *Biopolymer-Based Nanomaterials in Drug Delivery and Biomedical Applications*. Academic Press. 2021. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820874-8.00008-7>
- Achilli, M., Mantovani, D. (2010). Tailoring mechanical properties of collagen-based Scaffolds for vascular tissue engineering: The effects of pH, temperature and ionic strength on gelation. *Polymers*, 2(4), 664–680. <https://doi.org/10.3390/polym2040664>
- Zareie, Z., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. (2020). Development and characterization of antioxidant and antimicrobial edible films based on chitosan and gamma-aminobutyric acid-rich fermented soy protein. *Carbohydrate Polymers*, 244, Article 116491. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116491>
- Wang, L., Ding, J., Fang, Y., Pan, X., Fan, F., Li, P. et al. (2020). Effect of ultrasonic power on properties of edible composite films based on rice protein hydrolysates and chitosan. *Ultrasonics Sonochemistry*, 65, Article 105049. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2020.105049>
- Al-Hilifi, S. A., Al-Ibresam, O. T., Al-Hatim, R. R., Al-Ali, R. M., Maslekar, N., Yao, Y. et al. (2023). Development of Chitosan/Whey Protein Hydrolysate Composite Films for Food Packaging Application. *Journal of Composites Science*, 7(3), Article 94. <https://doi.org/10.3390/jcs7030094>
- Меренкова, С.П., Зинина, О.В. (2023). Исследование структуры и микробиологических показателей ферментированных растительных напитков. *Ползуновский вестник*, 1, 58–64. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2023.03.008>
- Hasanzati Rostami, A., Motamedzadegan, A., Hosseini, S. E., Rezaei, M., Kamali, A. (2017). Evaluation of plasticizing and antioxidant properties of silver carp protein hydrolysates in fish gelatin film. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26, 457–467. <https://doi.org/10.22092/jifs.2022.127951>
- 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(5), Article 22. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030122>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 20–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Assaad, H. I., Zhou, L., Carroll, R. J., Wu, G. (2014). Rapid publication-ready MS-Word tables for one-way ANOVA. *Springer Plus*, 3, Article 474. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-474>
- Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M. C., Montero, M. P. (2009). Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin. *Food Hydrocolloids*, 23(5), 1322–1327. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.04.005>
- Sathivel, S., Smiley, S., Prinyawiwatkul, W., Bechtel, P. J. (2005). Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. *Journal of Food Science*, 70(6), 401–406. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11437.x>
- Riahi, Z., Priyadarshi, R., Rhim, J.-W., Lotfali, E., Bagheri, R., Pircheraghi, G. (2022). Alginate-based multifunctional films incorporated with sulfur quantum dots for active packaging applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 215, Article 112519. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112519>
- Oliveira Filho, J. G., Rodrigues, J. M., Valadares, A. C. F., de Almeida, A. B., de Lima, T. M., Takeuchi, K. P. et al. (2019). Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. *Food Hydrocolloids*, 92, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.052>
- Fan, X., Han, Y., Sun, Y., Zhang, T., Tu, M., Du, L. et al. (2023). Preparation and characterization of duck liver-derived antioxidant peptides based on LC-MS/MS, molecular docking, and machine learning. *LWT*, 175, Article 114479. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114479>
- Sun, J., Zhou, C., Cao, J., He, J., Sun, Y., Dang, Y. et al. (2022). Purification and characterization of novel antioxidative peptides from duck liver protein hydrolysate as well as their cytoprotection against oxidative stress in HepG2 cells. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 848289. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.848289>
- Hu, Z., Cao, J., Liu, G., Zhang, H., Liu, X. (2020). Comparative transcriptome profiling of skeletal muscle from black Muscovy duck at different growth stages using RNA-seq. *Genes*, 11(10), Article 1228. <https://doi.org/10.3390/genes11101228>
- Zhang, C., Wang, Z., Li, Y., Yang, Y., Ju, X., He, R. (2019). The preparation and physicochemical characterization of rapeseed protein hydrolysate-chitosan composite films. *Food Chemistry*, 272, 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.097>
- da Rocha, M., Alemán, A., Romani, V. P., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., Montero, P. et al. (2018). Effects of agar films incorporated with fish protein hydrolysate or clove essential oil on flounder (*Paralichthys orbignyanus*) fillets shelf-life. *Food Hydrocolloids*, 81, 351–363. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.017>
- Kruk, J., Tkaczewska, J., Szuwarzyński, M., Mazur, T., Jmróz, E. (2023). Influence of storage conditions on functional properties of multilayer biopolymer films based on chitosan and furcellaran enriched with carp protein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 135, Article 108214. <https://doi.org/10.1016/j.food>

hyd.2022.108214

39. Abdelhedi, O., Salem, A., Nasri, R., Nasri, M., Jridi, M. (2022). Food applications of bioactive marine gelatin films. *Current Opinion in Food Science*, 43, 206–215. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.12.005>
40. Salgado, P. R., Fernández, G. B., Drago, S., Mauri, A. N. (2011). Addition of bovine plasma hydrolysates improves the antioxidant properties of soybean and sunflower protein-based films. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1433–1440. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.003>

REFERENCES

1. Zinina, O. V., Nikolina, A. D., Khvostov, D. V., Rebezov, M. B., Zavyalov, S. N., Akhmedzyanov, R. V. (2023). Protein hydrolysates 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 Russian)
2. Lima, K. O., de Quadros, C. D. C., da Rocha, M., de Lacerda, J. T. J. G., Juliano, M. A., Dias, M. et al. (2019). Bioactivity and bioaccessibility of protein hydrolysates from industrial byproducts of Stripped weakfish (*Cynoscion guatucupa*). *LWT*, 111, 408–413. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.043>
3. Tkaczewska, J. (2020). Peptides and protein hydrolysates as food preservatives and bioactive components of edible films and coatings — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 106, 298–311. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.022>
4. Chaari, M., Elhadef, K., Akermi, S., Akacha, B.B., Fourati, M., Mtibaa, A. C. et al. (2022). Novel active food packaging films based on gelatin-sodium alginate containing beetroot peel extract. *Antioxidants*, 11, Article 2095. <https://doi.org/10.3390/antiox11112095>
5. Tanjung, M. R., Rostini, I., Ismail, M. R., Pratama, R. I. (2020). Characterization of edible film from catfish (*Pangasius sp.*) surimi waste water with the addition sorbitol as plasticizer. *World News of Natural Sciences*, 28, 87–102.
6. Firouz, S. M., Mohi-Alden, K., Omid, M. (2021). A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. *Food Research International*, 141, Article 110113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110113>
7. Rebezov, M., Chughtai, M. F. D., Mehmood, T., Khaliq, A., Tanweer, S., Semenova, A. et al. (2022). Novel techniques for microbiological safety in meat and fish industries. *Applied Sciences*, 12(1), Article 319. <https://doi.org/10.3390/app12010319>
8. Huang, T., Qian, Y., Wei, J., Zhou, C. (2019). Polymeric antimicrobial food packaging and its applications. *Polymers*, 11(3), Article 560. <https://doi.org/10.3390/polym11030560>
9. 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>
10. Matemu, A., Nakamura, S., Katayama, S. (2021). Health benefits of antioxidative peptides derived from legume proteins with a high amino acid score. *Antioxidants*, 10(2), Article 316. <https://doi.org/10.3390/antiox10020316>
11. Sanchez, A., Vazquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety*, 1(1), 29–46. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx006>
12. Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Gómez, B., Barba, F. J., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C. et al. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 79, 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.003>
13. Loi, C. C., Eyres, G. T., Birch, E. J. (2019). Effect of milk protein composition on physicochemical properties, creaming stability and volatile profile of a protein-stabilised oil-in-water emulsion. *Food Research International*, 120, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.026>
14. Alves, S. G. T., Prudêncio-Ferreira, S. H. (2002). Functional properties of collagenous material chicken feet. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52(3), 289–293.
15. Sousa, S. C., Fragoso, S. P., Penna, C. R. A., Arcanjo N. M. O., Silva F. A. P., Ferreira V. C. S. et al. (2017). Quality parameters of frankfurter-type sausages with partial replacement of fat by hydrolyzed collagen. *LWT-Food Science and Technology*, 76(Part B), 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.034>
16. Mora, L., Reig, M., Toldrá, F. (2014). Bioactive peptides generated from meat industry by-products. *Food Research International*, 65(Part C), 344–349. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.014>
17. Moraes, M. C., Cunha, R. L. (2013). Gelation property and water holding capacity of heat-treated collagen at different temperature and pH values. *Food Research International*, 50(1), 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.016>
18. Li, Z., Wang, B., Chi, C., Gong, Y., Luo, H., Ding, G. (2013). Influence of average molecular weight on antioxidant and functional properties collagen hydrolysates from *Sphyrna lewini*, *Dasyatis akajei* and *Raja porosa*. *Food Research International*, 51(1), 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.031>
19. Vichare, R., Hossain, C. M., Ali, K. A., D. Dutta, Sneed, K., Biswal, M. R. (2021). Collagen-based nanomaterials in drug delivery and biomedical applications. Chapter in a book: *Biopolymer-Based Nanomaterials in Drug Delivery and Biomedical Applications*. Academic Press. 2021. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820874-8.00008-7>
20. Achilli, M., Mantovani, D. (2010). Tailoring mechanical properties of collagen-based Scaffolds for vascular tissue engineering: The effects of pH, temperature and ionic strength on gelation. *Polymers*, 2(4), 664–680. <https://doi.org/10.3390/polym2040664>
21. Zareie, Z., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. (2020). Development and characterization of antioxidant and antimicrobial edible films based on chitosan and gamma-aminobutyric acid-rich fermented soy protein. *Carbohydrate Polymers*, 244, Article 116491. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116491>
22. Wang, L., Ding, J., Fang, Y., Pan, X., Fan, F., Li, P., Hu, Q. (2020). Effect of ultrasonic power on properties of edible composite films based on rice protein hydrolysates and chitosan. *Ultrasonics Sonochemistry*, 65, Article 105049. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105049>
23. Al-Hilifi, S. A., Al-Ibresam, O. T., Al-Hatim, R. R., Al-Ali, R. M., Maslekar, N., Yao, Y., Agarwal, V. (2023). Development of Chitosan/Whey Protein Hydrolysate Composite Films for Food Packaging Application. *Journal of Composites Science*, 7(3), Article 94. <https://doi.org/10.3390/jcs7030094>
24. Merenkova, S. P., Zinina, O. V. (2023). Potential of using microemulsions as a bioactive component of food film materials. *Polzunovskiy Vestnik*, 3, 58–64. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2023.03.008> (In Russian)
25. Hasanzati Rostami, A., Motamedzadegan, A., Hosseini, S. E., Rezaei, M., Kamali, A. (2017). Evaluation of plasticizing and antioxidant properties of silver carp protein hydrolysates in fish gelatin film. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26, 457–467. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2022.127951>
26. 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 22. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030122>
27. Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*, 28(1), 20–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
28. Assaad, H. I., Zhou, L., Carroll, R. J., Wu, G. (2014). Rapid publication-ready MS-Word tables for one-way ANOVA. *Springer Plus*, 3, Article 474. <https://doi.org/10.1186/2195-1801-3-474>
29. Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M. C., Montero, M. P. (2009). Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin. *Food Hydrocolloids*, 23(5), 1322–1327. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.04.005>
30. Sathivel, S., Smiley, S., Prinyawiwatkul, W., Bechtel, P. J. (2005). Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. *Journal of Food Science*, 70(6), 401–406. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11437.x>
31. Riahi, Z., Priyadarshi, R., Rhim, J.-W., Lotfali, E., Bagheri, R., Pircheraghi, G. (2022). Alginate-based multifunctional films incorporated with sulfur quantum dots for active packaging applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 215, Article 112519. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112519>
32. Oliveira Filho, J. G., Rodrigues, J. M., Valadares, A. C. F., de Almeida, A. B., de Lima, T. M., Takeuchi, K. P. et al. (2019). Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. *Food Hydrocolloids*, 92, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.052>
33. Fan, X., Han, Y., Sun, Y., Zhang, T., Tu, M., Du, L. et al. (2023). Preparation and characterization of duck liver-derived antioxidant peptides based on LC-MS/MS, molecular docking, and machine learning. *LWT*, 175, Article 114479. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114479>
34. Sun, J., Zhou, C., Cao, J., He, J., Sun, Y., Dang, Y. et al. (2022). Purification and characterization of novel antioxidative peptides from duck liver protein hydrolysate as well as their cytoprotection against oxidative stress in HepG2 cells. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 848289. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.848289>
35. Hu, Z., Cao, J., Liu, G., Zhang, H., Liu, X. (2020). Comparative transcriptome profiling of skeletal muscle from black Muscovy duck at different growth stages using RNA-seq. *Genes*, 11(10), Article 1228. <https://doi.org/10.3390/genes11101228>
36. Zhang, C., Wang, Z., Li, Y., Yang, Y., Ju, X., He, R. (2019). The preparation and physicochemical characterization of rapeseed protein hydrolysate-chitosan composite films. *Food Chemistry*, 272, 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.097>
37. da Rocha, M., Alemán, A., Romani, V. P., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., Montero, P. et al. (2018). Effects of agar films incorporated with fish protein hydrolysate or clove essential oil on flounder (*Paralichthys orbignyanus*) fillets shelf-life. *Food Hydrocolloids*, 81, 351–363. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.017>
38. Kruk, J., Tkaczewska, J., Szuwarzyński, M., Mazur, T., Jamróz, E. (2023). Influence of storage conditions on functional properties of multilayer biopolymer films based on chitosan and furcellaran enriched with carp protein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 135, Article 108214. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108214>
39. Abdelhedi, O., Salem, A., Nasri, R., Nasri, M., Jridi, M. (2022). Food applications of bioactive marine gelatin films. *Current Opinion in Food Science*, 43, 206–215. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.12.005>
40. Salgado, P. R., Fernández, G. B., Drago, S., Mauri, A. N. (2011). Addition of bovine plasma hydrolysates improves the antioxidant properties of soybean and sunflower protein-based films. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1433–1440. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.003>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>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</p>	<p>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</p>
<p>Меренкова Светлана Павловна — кандидат ветеринарных наук, доцент, кафедра «Пищевые и биотехнологии», Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет) 454080, Челябинск, пр. Ленина, 76 Тел.: +7-951-813-70-62 E-mail: merenkovasp@susu.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8795-1065</p>	<p>Svetlana P. Merenkova, Candidate of Veterinary Sciences, Docent, Department of "Food and Biotechnology". South Ural State University (National Research University) 76, Lenin Av., 454080, Chelyabinsk, Russia Tel.: +7-951-813-70-62 E-mail: merenkovasp@susu.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8795-1065</p>
<p>Ребезов Максим Борисович — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-951-474-05-50 E-mail: rebezov@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0857-5143</p>	<p>Maksim B. Rebezov, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Leading Researcher, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-999-900-23-65 E-mail: rebezov@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0857-5143</p>
<p>Вишнякова Елена Александровна — студент, лаборант, Управление научной и инновационной деятельности, Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет) 454080, Челябинск, пр. Ленина, 76 Тел.: +7-912-772-15-61 E-mail: l_vishny@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8557-9239</p>	<p>Elena A. Vishnyakova, Student, Laboratory Assistant, Department of Scientific and Innovative Activities, South Ural State University (National Research University) 76, Lenin Av., 454080, Chelyabinsk, Russia Tel.: +7-91-772-15-61 E-mail: l_vishny@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8557-9239</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>