

КАЧЕСТВО, БЕЗОПАСНОСТЬ И ГИГИЕНА ПИТАНИЯ /  
QUALITY, SAFETY AND FOOD HYGIENE

Научная статья / Original article

УДК 664.38

DOI: 10.31208/2618-7353-2022-19-60-68

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ПЕПТИДОВ,  
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЛОЗИВА КОРОВ

STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PEPTIDES,  
ISOLATED FROM COWS COLOSTRUM

<sup>1</sup>Сергей Л. Тихонов, доктор технических наук, профессор

<sup>1</sup>Наталья В. Тихонова, доктор технических наук, профессор

<sup>1</sup>Владимир А. Лазарев, кандидат технических наук, доцент

<sup>2</sup>Мария С. Тихонова, студентка

<sup>1</sup>Sergey L. Tikhonov, Dr. Sci. (Technology), Professor

<sup>1</sup>Natalia V. Tikhonova, Dr. Sci. (Technology), Professor

<sup>1</sup>Vladimir A. Lazarev, PhD (Technology), Associate Professor

<sup>2</sup>Maria S. Tikhonova, Student

<sup>1</sup>Уральский государственный экономический университет, Екатеринбург

<sup>2</sup>Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург

<sup>1</sup>Ural State Economic University, Ekaterinburg, Russia

<sup>2</sup>Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

**Контактное лицо:** Тихонов Сергей Леонидович, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой пищевой инженерии, Уральский государственный экономический университет; 620144, Россия, Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, д. 62/45;

e-mail: tihonov75@bk.ru; тел.: 8 (343) 283-11-38; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>.

**Для цитирования:** Тихонов С.Л., Тихонова Н.В., Лазарев В.А., Тихонова М.С. Исследование антиоксидантных свойств пептидов, выделенных из молозива коров // Аграрно-пищевые инновации. 2022. Т. 19, № 3. С. 60-68. <https://doi.org/10.31208/2618-7353-2022-19-60-68>.

**Principal Contact:** Sergey L. Tikhonov, Dr. Sci. (Technology), Professor, Head of the Department of Food Engineering, Ural State University of Economics; 45, People's Will st., Ekaterinburg, 620144, Russian Federation; e-mail: tihonov75@bk.ru; tel.: +7 (343) 283-11-38; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>.

**For citation:** Tikhonov S.L., Tikhonova N.V., Lazarev V.A., Tikhonova M.S. Study of antioxidant properties of peptides, isolated from cows colostrum. *Agrarian-and-food innovations*. 2022;19(3):60-68. (In Russ.). <https://doi.org/10.31208/2618-7353-2022-19-60-68>.

## Резюме

**Цель.** Оценка антиоксидантной активности пептидов, выделенных из трипсинового гидролизата молозива коров.

**Материалы и методы.** Антиоксидантную активность пептидов определяли по методу DPPH. В качестве стандартного раствора использовали растворы Тролокса (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты) известной концентрации. Все спектрофотометри-

ческие измерения проводили с использованием микропланшетного ридера CLARIOstar (BMG Labtech, Германия).

**Результаты.** Проведены исследования антиоксидантной активности пептидов с известной молекулярной массой и последовательностью аминокислот, выделенных из ферментативного гидролизата молозива коров. В научно-технической отечественной и зарубежной литературе функции указанных пептидов не представлены. Антиоксидантную активность определяли по методу DPPH. Установлено, что пептид с аминокислотной последовательностью SQKKKNCPNGTRIRVPGPGP, состоящий из 20 аминокислот и имеющий молекулярную массу 20 кДа, обладает антиоксидантной активностью  $0,128 \pm 0,008$  ммоль экв. Тролокса/л, у других исследованных пептидов антиоксидантные свойства не установлены. Можно предположить, что антиоксидантная активность пептидов зависит от последовательности и количества аминокислот.

**Заключение.** На основании полученных данных можно рассмотреть возможность использования указанного пептида при разработке пищевых продуктов функциональной направленности. Однако следует учитывать, что биологически активные пептиды имеют ряд недостатков, в частности, низкую стабильность в желудочно-кишечном тракте, и могут вступать в реакции с другими биологически активными веществами в составе пищевого продукта и в организме человека.

**Ключевые слова:** пептиды, молозиво коров, антиоксидантная активность, ферментативный гидролиз, аминокислоты, молекулярная масса

#### **Abstract**

**Purpose.** Evaluation of the antioxidant activity of peptides isolated from trypsin hydrolysate of cow colostrum.

**Materials and Methods.** Based on the data obtained, it is possible to consider the possibility of using this peptide in the development of functional food products. However, it should be borne in mind that biologically active peptides have a number of disadvantages, in particular, low stability in the gastrointestinal tract, and can react with other biologically active substances in the composition of a food product and in the human body.

**Results.** The antioxidant activity of peptides was determined by the DPPH method. Solutions of Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) of known concentration were used as the standard solution. All spectrophotometric measurements were carried out using a CLARIOstar micro-tablet reader (BMG Labtech, Germany). Studies of the antioxidant activity of peptides with a known molecular weight and sequence of amino acids isolated from enzymatic hydrolysate of cow colostrum have been carried out. The functions of these peptides are not presented in the scientific and technical domestic and foreign literature. The antioxidant activity was determined by the DPPH method. It was found that the peptide with the amino acid sequence SQKKKNCPNGTRIRVPGPGP, consisting of 20 amino acids and having a molecular weight of 20 kDa, has an antioxidant activity of  $0.128 \pm 0.008$  mmol eq. Trolox/l, the antioxidant properties of the other peptides studied have not been established. It can be assumed that the antioxidant activity of peptides depends on the sequence and number of amino acids.

**Conclusion.** Based on the data obtained, it is possible to consider the possibility of using this peptide in the development of functional food products. However, it should be borne in mind that biologically active peptides have a number of disadvantages, in particular, low stability in the gastrointestinal tract, and can react with other biologically active substances in the composition of a food product and in the human body.

**Keywords:** peptides, cow colostrum, antioxidant activity, enzymatic hydrolysis, amino acids, molecular weight

**Введение.** В последнее время растет спрос на укрепляющие здоровье нутрицевтики и функциональные продукты питания, содержащие биологически активные соединения. Среди огромного разнообразия функциональных химических веществ биологически активные пептиды (БАП) выделяются как функциональные соединения (Pérez-Gregorio R et al., 2020).

Биоактивные пептиды считаются биологически активными регуляторами нового поколения, которые не только предотвращают механизм окисления и микробной деградации в пищевых продуктах, но и способствуют профилактике различных заболеваний и расстройств, тем самым повышая качество жизни. Пептиды представляют собой короткие или длинные цепочки аминокислот, различающиеся по структуре и молекулярной массе. Их можно считать биологически активными, поскольку они могут способствовать физиологическим функциям организмов, применяемым в пищевой и фармацевтической промышленности. В пищевой промышленности такие биоактивные пептиды могут использоваться в качестве консервантов или антиоксидантов для предотвращения порчи пищевых продуктов. Кроме того, пептиды обладают рядом функциональных свойств, которые позволяют использовать их в качестве инструментов для изменения растворимости пищевых ингредиентов, способности удерживать воду и связывать жир, а также для образования геля. В фармацевтической промышленности пептиды могут быть использованы в качестве антиоксидантов, а также антигипертензивных, антикоагулянтных и иммуномодулирующих соединений и для выполнения других функций (Lemes AC et al., 2016).

За последние несколько десятилетий возрос научный интерес к биологически активным пептидам пищевого происхождения в качестве альтернативы фармакологическим методам лечения заболеваний, связанных с образом жизни, которые представляют серьезную проблему для здоровья людей во всем мире, и прежде всего гипертонии, диабета 2 типа и окислительного стресса (Manzanares P et al., 2019).

Авторы (Díaz-Gómez JL et al., 2020) охарактеризовали три новых пептида, полученных из  $\alpha$ -зеина 19 кДа, определили их биологически активный профиль *in vitro* и разработали структурную модель *in silico*. Пептиды 19ZP1, 19ZP2 и 19ZP3 образовывали  $\alpha$ -спиральные структуры и имели поверхности с положительным и отрицательным электростатическим потенциалом (диапазон от -1 до +1). Согласно алгоритмам *in silico*, пептиды демонстрировали низкую вероятность цитотоксичности ( $\leq 0,05\%$ ), проникновения в клетки (10-33%) и антиоксидантную активность.

Особое значение заслуживают антиоксидантные свойства пептидов, которые могут быть использованы при профилактике и лечении различных заболеваний, приводящих к возникновению окислительного стресса.

Молочные белки могут оказывать широкий спектр физиологических действий, включая усиление иммунной функции, защиту от патогенных бактерий, вирусов и дрожжей, а также развитие кишечника и его функций (Lopez-Exposito I and Recio I, 2008). Помимо биологически активных белков, естественно встречающихся в молоке, в последовательности молочных белков зашифрованы различные биологически активные пептиды, которые высвобождаются при подходящем гидролизе белка-предшественника. Причем некоторые из них проявляют более одного вида биологической активности (Parodi PW, 2007).

Авторами (Iwaniak A et al., 2022) проведено исследование в котором представлен комплексный подход, включающий протоколы *in silico* и *in vitro*, используемый для анализа антиоксидантной активности сыра Гауда с модифицированным содержанием  $\beta$ -казеина. Присутствие антиоксидантных пептидов в последовательностях казеина было вычислено с использованием базы данных BIOPEP-UWM. Для идентификации антиоксидантных пептидов в водорастворимых экстрактах (WSE), полученных из сыра Гауда, был использован метод RP-

HPLC–MS/MS. Установлено, что все образцы сыра Гауда демонстрировали антиоксидантный потенциал. Самая высокая антиоксидантная активность (эффект поглощения радикалов ABTS·+, FRAP и Fe-хелатирование) наблюдалась у WSE, полученных из сыра Гауда с повышенным содержанием β-казеина после 60-го дня созревания.

Перспективным источником пептидов является молозиво коров – это сложная биологическая жидкость, содержащая антимикробные пептиды, иммунорегулирующие соединения и факторы роста. Основные функции молозива заключаются в обеспечении необходимыми питательными компонентами, укреплении естественной защитной системы, модуляции иммунного ответа, балансировании кишечной микробиоты, усилении роста и регенерации тканей. Несколько исследований и клинических испытаний, проведенных как *in vitro*, так и *in vivo* на людях и животных, свидетельствуют о клинической пользе добавок из молозива коров при желудочно-кишечных заболеваниях. Молозиво безопасно, поскольку не имеет противопоказаний в отношении высоких доз (Menchetti L et al., 2016).

Однако сегодня неизвестно, какие молочные пептиды являются биологически активными, а какие – нет.

Авторами (Ucak I et al., 2021) доказано, что продукция животноводства является богатым источником биологически активных азотистых соединений и белка, которые могут быть преобразованы в пептиды путем ферментативного гидролиза.

**Цель** исследований – оценка антиоксидантной активности пептидов, выделенных их трипсинового гидролизата молозива коров.

**Материалы и методы.** Характеристика объектов исследований представлена в таблице 1.

**Таблица 1.** Образцы пептидов, выделенных из трипсинового гидролизата молозива коров для определения антиоксидантной активности

**Table 1.** Samples of peptides isolated from trypsin hydrolysate of cows colostrum to determine antioxidant activity

Образец <i>Sample</i>	Аминокислотная последовательность <i>Amino acid sequence</i>	Идентификация <i>Identification</i>	Молекулярная масса, кДа <i>Molecular weight, kDa</i>	Функциональная направленность <i>Functional orientation</i>
1	SQ KKKN CP NGTRIRVPGP GP (20)	POSSUM_01- POSSUM-C- EMBRYO-2KB, <i>Trichosurus Vulpecula</i>	16	Функции не изучены <i>Functions not learned</i>
2	LARKTSK IK	Подобный пептид не найден, так как уровень покрытия с известными пептидами низкий <i>A similar peptide was not found because the level of coverage with known peptides is low</i>	13,0	Функции не изучены <i>Functions not learned</i>
3	EK LA KNK LAR GLK RK	CO950255 protein, <i>sus scrofa</i>	18,0	Функции не изучены <i>Functions not learned</i>

Антиоксидантную активность пептидов определяли по методу DPPH. 20 мкл белкового гидролизата смешивали с 300 мкл свежеприготовленного 0,1 мМ раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила. Смесь инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. Уменьшение оптической плотности по сравнению с контролем регистрировали при 515 нм. В качестве стандартного раствора использовали растворы Тролокса (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты) известной концентрации. Результаты анализов выражены в мМ эквивалентов Тролокса (ммоль эквивалентов Тролокса/л). Все спектрофотометрические измерения проводили с использованием микропланшетного ридера CLARIOstar (BMG Labtech, Германия).

**Результаты и обсуждение.** В таблице 2 представлены результаты исследований антиоксидантной активности пептидов, выделенных из трипсинового гидролизата молозива коров.

**Таблица 2.** Антиоксидантная активность пептидов, выделенных из трипсинового гидролизата молозива коров

*Table 2. Antioxidant activity of peptides isolated from trypsin hydrolyzate of cows colostrum*

Образец <i>Sample</i>	АОА, ммоль эквивалент Тролокса/л <i>AOA, mmol Trolox equivalent/l</i>
	DPPH
1	0,128±0,008
2	не выявлена <i>not identified</i>
2	не выявлена <i>not identified</i>

Большинство исследованных образцов не проявляли антиоксидантную активность. Исключение составил образец пептида № 1, для которого была выявлена антиоксидантная активность по отношению к радикалам DPPH.

Результаты наших исследования согласуются с исследованиями авторов (Wu R et al., 2015), которые утверждают, что антиоксидантную активность пептидов можно объяснить удалением свободных радикалов, ингибированием перекисного окисления липидов и хелатированием ионов металлов. При этом структура пептида и его аминокислотная последовательность могут в основном влиять на его антиоксидантные свойства.

Так, все исследуемые образцы пептидов отличались различной аминокислотной последовательностью.

Авторы (Krobthong S et al., 2022) механизм антиоксидантной активности пептидов объясняют поглощением свободных радикалов, аналогично стандартным антиоксидантам, и значительным снижением внутриклеточного уровня АФК в клетках, индуцированных LPS. Антиоксидантная активность может быть результатом усиления регуляции АФК-редуцирующего белка.

Стоит отметить, что несмотря на то что образец 1 проявлял антиоксидантную активность, измеренную всеми тремя методами, значения его активности были относительно низкими по сравнению, например, с результатами, полученными для фруктовых соков. Так, антиоксидантная активность яблочного сока, согласно литературным данным, составляет примерно 1 ммоль экв. Тролокса/мл (для DPPH и FRAP) (Pyo YH et al., 2014), что, соответственно, в пересчете на литр будет приблизительно в 10000 раз больше по сравнению с активностью образца 1.

**Выводы.** Последние научные данные свидетельствуют о том, что пищевые белки не только служат питательными веществами, но и могут модулировать физиологические функции организма, в частности, обладать антиоксидантной активностью. Эти физиологические функции в основном регулируются некоторыми пептидами, которые зашифрованы в последовательностях нативного белка. Биоактивные пептиды могут проявлять полезные для здоровья свойства и, таким образом, рассматриваются в качестве ведущего соединения для разработки нутрицевтиков или функциональных продуктов питания. За последние несколько десятилетий был идентифицирован широкий спектр биологически активных пептидных последовательностей пищевого происхождения, обладающих множеством полезных для здоровья свойств. Но многие свойства пептидов пока не изучены.

Для выделения пептидов широко используется ферментативный гидролиз белка. В результате исследования антиоксидантной активности методом DPPH некоторых пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата молозива коров, установлено, что пептид с аминокислотной последовательностью SQ KKKN CP NGTRIRVPGP GP, состоящий из 20 аминокислот и имеющий молекулярную массу 20 кДа, обладает антиоксидантной активностью. Антиоксидантные свойства пептида могут быть связаны с инактивацией активных форм кислорода, удаления свободных радикалов, хелатирования прооксидантных переходных металлов и повышения активности внутриклеточных антиоксидантных ферментов. На основании полученных данных можно рассмотреть возможность использования указанного пептида при разработке пищевых продуктов функциональной направленности. В то же время следует учитывать, что биологически активные пептиды пищевого происхождения обладают некоторыми недостатками, включая плохую химическую и физическую стабильность и короткий период полураспада в циркулирующей плазме. Также при разработке питания с использованием биологически активных веществ необходимо помнить, что количество потребленного питательного вещества, способного проникать в кровоток и проявлять биологическую активность может также влиять отрицательно на организм человека в результате взаимодействия и/или реакций между биоактивными соединениями, что особенно важно для этих биоактивных пептидов, например, некоторые полифенолы широко известны своей способностью взаимодействовать и/или осаждать белки/пептиды.

#### Список источников

1. Díaz-Gómez JL, Neundorf I, López-Castillo LM, Castorena-Torres F, Serna-Saldívar SO, García-Lara S. In Silico Analysis and In Vitro Characterization of the Bioactive Profile of Three Novel Peptides Identified from 19 kDa  $\alpha$ -Zein Sequences of Maize // *Molecules*. 2020. Vol. 25, iss. 22. Article number: 5405. <https://doi.org/10.3390/molecules25225405>.
2. Iwaniak A, Mogut D, Minkiewicz P, Żulewska J, Darewicz M. An integrated approach to the analysis of antioxidative peptides derived from Gouda cheese with a modified  $\beta$ -casein content // *Sci Rep*. 2022. Aug 3. Vol. 12, iss. 1. Article number: 13314. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17641-x>.
3. Krobthong S, Yingchutrakul Y, Sittisaree W et al. Evaluation of potential anti-metastatic and antioxidative abilities of natural peptides derived from *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth in A549 cells // *PeerJ*. 2022. Jul 6. Vol. 10. Article number: e13693. <https://doi.org/10.7717/peerj.13693>.
4. Lemes AC, Sala L, Ores J, Braga ARC, Egea M, Fernandes KF. A Review of the Latest Advances in Encrypted Bioactive Peptides from Protein-Rich Waste // *International Journal*

- of Molecular Sciences. 2016. Vol. 17, iss. 6. Article number: 950. <https://doi.org/10.3390/ijms17060950>.
5. Lopez-Exposito I, Recio I. Protective effect of milk peptides: antibacterial and antitumor properties // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2008. Vol. 606. P. 271-293. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-74087-4\\_11](https://doi.org/10.1007/978-0-387-74087-4_11).
  6. Manzanares P, Gandía M, Garrigues S, Marcos JF. Improving Health-Promoting Effects of Food-Derived Bioactive Peptides through Rational Design and Oral Delivery Strategies // *Nutrients*. 2019. Vol. 11, 10. Article number:2545. <https://doi.org/10.3390/nu11102545>.
  7. Menchetti L, Traina G, Tomasello G et al. Potential benefits of colostrum in gastrointestinal diseases // *Frontiers in Bioscience-Scholar*. 2016. Vol. 8, 2. P. 331-351. <https://doi.org/10.2741/s467>.
  8. Parodi PW. A role for milk proteins and their peptides in cancer prevention // *Current Pharmaceutical Design*. 2007. Vol. 13, 8. P. 813-828; <https://doi.org/10.2174/138161207780363059>.
  9. Pérez-Gregorio R, Soares S, Mateus N, de Freitas V. Bioactive Peptides and Dietary Polyphenols: Two Sides of the Same Coin // *Molecules*. 2020. Vol. 25, 15. Article number: 3443. <https://doi.org/10.3390/molecules25153443>.
  10. Pyo YH, Jin YJ, Hwang JY. Comparison of the effects of blending and juicing on the phytochemicals contents and antioxidant capacity of typical Korean kernel fruit juices // *Preventive nutrition and food science*. 2014. Vol. 19, 2. P. 108-114; <https://doi.org/10.3746/pnf.2014.19.2.108>.
  11. Ucak I, Afreen M, Montesano D et al. Functional and Bioactive Properties of Peptides Derived from Marine Side Streams // *Mar Drugs*. 2021. Vol. 19, 2. Article number: 71. <https://doi.org/10.3390/md19020071>.
  12. Wu R, Wu C, Liu D, Yang X, Huang J, Zhang J, Liao B, He H, Li H. Overview of Antioxidant Peptides Derived from Marine Resources: The Sources, Characteristic, Purification, and Evaluation Methods // *Applied biochemistry and biotechnology*. 2015. Vol. 176, no. 7. P. 1815-1833. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1689-9>.

### References

1. Díaz-Gómez JL, Neundorf I, López-Castillo LM, Castorena-Torres F, Serna-Saldívar SO, García-Lara S. In Silico Analysis and In Vitro Characterization of the Bioactive Profile of Three Novel Peptides Identified from 19 kDa  $\alpha$ -Zein Sequences of Maize. *Molecules*. 2020;25(22):5405. <https://doi.org/10.3390/molecules25225405>.
2. Iwaniak A, Mogut D, Minkiewicz P, Żulewska J, Darewicz M. An integrated approach to the analysis of antioxidative peptides derived from Gouda cheese with a modified  $\beta$ -casein content. *Sci Rep*. 2022. Aug 3;12(1):13314. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17641-x>.
3. Krobthong S, Yingchutrakul Y, Sittisaree W et al. Evaluation of potential anti-metastatic and antioxidative abilities of natural peptides derived from *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth in A549 cells. *PeerJ*. 2022. Jul 6;(10):e13693. <https://doi.org/10.7717/peerj.13693>.
4. Lemes AC, Sala L, Ores J, Braga ARC, Egea M, Fernandes KF. A Review of the Latest Advances in Encrypted Bioactive Peptides from Protein-Rich Waste. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(6):950. <https://doi.org/10.3390/ijms17060950>.

5. Lopez-Exposito I, Recio I. Protective effect of milk peptides: antibacterial and anti-tumor properties. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2008;(606):271-293. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-74087-4\\_11](https://doi.org/10.1007/978-0-387-74087-4_11).
6. Manzanares P, Gandía M, Garrigues S, Marcos JF. Improving Health-Promoting Effects of Food-Derived Bioactive Peptides through Rational Design and Oral Delivery Strategies. *Nutrients*. 2019;11(10):2545. <https://doi.org/10.3390/nu11102545>.
7. Menchetti L, Traina G, Tomasello G et al. Potential benefits of colostrum in gastrointestinal diseases. *Frontiers in Bioscience-Scholar*. 2016;8(2):331-351. <https://doi.org/10.2741/s467>.
8. Parodi PW. A role for milk proteins and their peptides in cancer prevention. *Current Pharmaceutical Design*. 2007;13(8):813-828. <https://doi.org/10.2174/138161207780363059>.
9. Pérez-Gregorio R, Soares S, Mateus N, de Freitas V. Bioactive Peptides and Dietary Polyphenols: Two Sides of the Same Coin. *Molecules*. 2020;25(15):3443. <https://doi.org/10.3390/molecules25153443>.
10. Pyo YH, Jin YJ, Hwang JY. Comparison of the effects of blending and juicing on the phytochemicals contents and antioxidant capacity of typical Korean kernel fruit juices. *Preventive nutrition and food science*. 2014;19(2):108-114; <https://doi.org/10.3746/pnf.2014.19.2.108>.
11. Ucak I, Afreen M, Montesano D et al. Functional and Bioactive Properties of Peptides Derived from Marine Side Streams. *Mar Drugs*. 2021;19(2):71. <https://doi.org/10.3390/md19020071>.
12. Wu R, Wu C, Liu D, Yang X, Huang J, Zhang J, Liao B, He H, Li H. Overview of Antioxidant Peptides Derived from Marine Resources: The Sources, Characteristic, Purification, and Evaluation Methods. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2015;176(7):1815-1833. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1689-9>.

**Вклад авторов:** Все авторы сделали эквивалентный вклад в написание рукописи и несут ответственность за плагиат и самоплагиат.

**Contribution of the authors:** All authors have made an equivalent contribution to the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism and self-plagiarism.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Информация об авторах (за исключением контактного лица):**

**Тихонова Наталья Валерьевна** – профессор кафедры пищевой инженерии, Уральский государственный экономический университет; 620144, Россия, Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, д. 62/45; e-mail: [tihonov75@bk.ru](mailto:tihonov75@bk.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>;

**Лазарев Владимир Александрович** – доцент кафедры пищевой инженерии, Уральский государственный экономический университет; 620144, Россия, Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, д. 62/45; e-mail: [lazarev.eka@gmail.com](mailto:lazarev.eka@gmail.com); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2818-1208>;

**Тихонова Мария Сергеевна** – студентка, Уральский государственный медицинский университет; 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3; e-mail: [lazarev.eka@gmail.com](mailto:lazarev.eka@gmail.com); ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7760-1427>.

**Information about the authors (excluding the contact person):**

**Natalia V. Tikhonova** – Professor of the Department of Food Engineering, Ural State University of Economics; 62/45, 8 Marta / Narodnaya Volya str., Ekaterinburg, 620144, Russian Federation; e-mail: [tihonov75@bk.ru](mailto:tihonov75@bk.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>;



**Vladimir A. Lazarev** – Associate Professor of the Department of Food Engineering, Ural State University of Economics 62/45, 8 Marta / Narodnaya Volya str., Ekaterinburg, 620144, Russian Federation; e-mail: lazarev.eka@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0470-7324>;

**Maria S. Tikhonova** – Student, Ural State Medical University; 3, Repin st., Ekaterinburg, 620028, Russian Federation; e-mail: lazarev.eka@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7760-1427>.

Статья поступила в редакцию / *The article was submitted*: 31.08.2022;  
одобрена после рецензирования / *approved after reviewing*: 19.10.2022;  
принята к публикации / *accepted for publication*: 21.10.2022