

# Функциональные свойства гидролизатов белков рапса: систематический обзор биологической активности и областей применения

<sup>1</sup> ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Уральский государственный аграрный университет, г. Екатеринбург, Российская Федерация

<sup>3</sup> Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Москва, Российская Федерация

И.М. Чернуха<sup>1</sup>, С.Л. Тихонов<sup>2</sup>, И.А. Дегтярев<sup>3</sup>, И.А. Фоменко<sup>3</sup>, И.А. Детинкин<sup>3</sup>

## КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Ирина Михайловна Чернуха  
E-mail: imcher@inbox.ru

## ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Чернуха, И.М., Тихонов, С.Л., Дегтярев, И.А., Фоменко, И.А., & Детинкин, И.А. (2025). Функциональные свойства гидролизатов белков рапса: систематический обзор биологической активности и областей применения. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 33(2), 109–141. <https://doi.org/10.36107/spfp.2025.2.656>

ПОСТУПИЛА: 01.06.2025

ПРИНЯТА: 15.06.2025

ОПУБЛИКОВАНА: 30.06.2025

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

автор сообщает об отсутствии конфликта интересов.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 25-16-00178).



## АННОТАЦИЯ

**Введение:** Растительные масла широко применяются в различных отраслях промышленности, что стимулирует рост производства масличных культур. Особенно быстро расширяются посевы рапса, по которому Россия входит в десятку мировых лидеров. При этом побочные продукты переработки рапса (жмыхи и шроты), содержащие более 40 % белка, остаются недооцененным ресурсом для получения белковых препаратов. Исследование гидролизатов рапсового белка, содержащих биологически активные пептиды, представляет особый интерес для пищевой, кормовой и фармацевтической промышленности.

**Цель:** Провести обобщение и систематизацию актуальных научных данных о гидролизатах рапсового белка, охватывая технологии их получения, выявленные биологические свойства и возможные области применения. В рамках анализа отдельный акцент сделан на исследованиях, описывающих пептиды с антиоксидантной, антимикробной, антигипертензивной, DPP-IV-ингибирующей и противоопухолевой активностью.

**Материалы и методы:** В основу систематического обзора положен анализ научных публикаций, опубликованных в период с 2014 по 2025 год в рецензируемых журналах, индексируемых в международных и национальных базах данных. Источники были отобраны с использованием поисковых систем Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, SpringerLink и РИНЦ. Критерии включения охватывали тематическую релевантность, наличие научной новизны, а также публикацию в изданиях, входящих в признанные индексы научного цитирования. В обзор включены как экспериментальные исследования, выполненные *in vitro* и *in vivo*, так и работы, основанные на методах *in silico* моделирования. Процесс идентификации, отбора, систематизации и анализа источников представлен с использованием диаграммы PRISMA.

**Результаты:** Установлено, что гидролизаты рапсового белка могут служить ценными функциональными ингредиентами в пищевых продуктах, кормах для аквакультуры и источниками биоактивных соединений. Обсуждается влияние методов гидролиза на их функционально-технологические свойства, а также потенциал замены традиционных белковых компонентов. Выделены перспективные направления дальнейших исследований, включая применение новых ферментных препаратов и биоинформационных подходов для идентификации биологически активных пептидов.

**Выводы:** Гидролизаты рапсового белка обладают значительным потенциалом для использования в различных отраслях промышленности. Дальнейшие исследования должны быть направлены на оптимизацию методов их получения, углубленное изучение механизмов биологической активности и расширение областей практического применения. Разработка новых технологий переработки рапсового белка может способствовать созданию инновационных продуктов с улучшенными функциональными свойствами.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

белки; белковые препараты; рапс; протеолиз; ферментные препараты; биоактивные пептиды; гидролизаты; антиоксидантная активность

# Functional Properties of Rapeseed Protein Hydrolysates: A Systematic Review of Their Biological Activity and Applications

<sup>1</sup> V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russian Federation

<sup>3</sup> Russian Biotechnological University, Moscow, Russian Federation

Irina M. Chernukha<sup>1</sup>, Sergey L. Tikhonov<sup>2</sup>, Ivan A. Degtyarev<sup>3</sup>,  
Ivan A. Fomenko<sup>3</sup>, Ilya A. Detinkin<sup>3</sup>

## CORRESPONDENCE:

Irina M. Chernukha

E-mail: imcher@inbox.ru

## FOR CITATIONS:

Chernukha, I.M., Tikhonov, S.L., Degtyarev, I.A., Fomenko, I.A., & Detinkin, I.A. (2025). Functional properties of rapeseed protein hydrolysates: A systematic review of their biological activity and applications. *Storage and Processing of Farm Products*, 33(2), 109–141. <https://doi.org/10.36107/spfp.2025.2.656>

RECEIVED: 07.01.2025

ACCEPTED: 15.06.2025

PUBLISHED: 31.06.2025

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.

## FUNDING

The research was funded by the Russian Science Foundation grant No. 25-16-00178.



## ABSTRACT

**Introduction:** Vegetable oils are widely used in various industries, which stimulates the growth of oilseed production. Rapeseed crops are expanding especially rapidly, Russia being one of the ten world leaders. At the same time, by-products of rapeseed processing (oilcakes and meal) containing more than 40% protein remain an underestimated resource for obtaining protein preparations. The study of rapeseed protein hydrolysates containing biologically active peptides is of particular interest to the food, feed, and pharmaceutical industries.

**Purpose:** To summarize and systematize current scientific data on rapeseed protein hydrolysates, including production methods, identified biological activities, and potential areas of application. The analysis places particular emphasis on studies reporting peptides with antioxidant, antimicrobial, antihypertensive, DPP-IV-inhibitory, and anticancer activities.

**Materials and Methods:** The systematic review is based on the analysis of research articles published between 2014 and 2025 in peer-reviewed journals indexed in international and national databases. Sources were selected using search engines such as Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, SpringerLink, and the Russian Science Citation Index (RSCI). The inclusion criteria comprised thematic relevance, scientific novelty, and publication in journals recognized by established citation indices. The review incorporates both experimental studies conducted *in vitro* and *in vivo*, as well as research based on *in silico* modeling methods. The process of source identification, selection, systematization, and analysis are presented using a PRISMA flow diagram.

**Results:** It has been established that rapeseed protein hydrolysates can serve as valuable functional ingredients in food products, aquaculture feeds, and sources of bioactive compounds. The influence of hydrolysis methods on their functional and technological properties, as well as the potential for replacing traditional protein components, is discussed. Promising areas of further research have been identified, including the use of new enzyme preparations and bioinformatics approaches for the identification of biologically active peptides.

**Conclusion:** Rapeseed protein hydrolysates have significant potential for their application in various industries. Further research should be aimed at optimizing the methods of their preparation, in-depth study of the mechanisms of biological activity, and expanding the areas of practical application. The development of new rapeseed protein processing technologies can contribute to the creation of innovative products with improved functional properties.

## KEYWORDS

proteins; protein preparations; rapeseed; proteolysis; enzyme preparations; bioactive peptides; hydrolysates; antioxidant activity

## ВВЕДЕНИЕ

Масла растительного происхождения активно используются в пищевой, фармацевтической и других отраслях промышленности. В связи с этим масштабы выращивания масличных культур во всем мире систематически растут (Kotecka-Majchrzak et al., 2020). По данным ФАОСТАТ посевные площади масличных культур с 2018 по 2023 год выросли с примерно с 323 до более чем 350 млн га<sup>1</sup>. Тенденция к увеличению интереса к выращиванию масличных культур отмечена не только на глобальном, но и на национальном уровне (Гончаров и др., 2018). По данным Росстата, отношение посевных площадей масличных культур 2024 года к 2023 году составило 107,1%. Высокие темпы роста наблюдаются у рапса: отношение посевных площадей с 2022 на 2021 год для рапса озимого — 209,1%; для рапса ярового — 125,4%, что составило 576,1 и 1767,3 тыс. га, соответственно. В 2023 году посевные площади рапса снизились примерно на 10%, а в 2024 году выросли до значений более 2700 тыс. га<sup>2</sup>. При этом Россия стабильно входит в число десяти ведущих производителей рапса в мире. В 2014 году она занимала 8-е место с валовым сбором 1 млн тонн в год (Горлова и др., 2017), а в 2019 году — 9-е с урожаем более 2-х млн тонн в год (Raboanatahiry et al., 2021).

Рост интереса к производству рапса обусловлен высокой рентабельностью данной культуры и обширными возможностями ее применения (Кудинова и др., 2023). Кроме получения масла, рапс может использоваться в качестве корма для скота и в производстве биотоплива (Woźniak et al., 2019). Кроме того, рапс является хорошим предшественником других (преимущественно зерновых) культур, т.к. за счет своей корневой системы положительно влияет на водно-физические свойства и фитосанитарное состояние почвы (Зыбалов, 2019).

Семена масличных культур богаты белковыми веществами. В семенах подсолнечника содержится около 15–24% белка, сои — 33–44%, рапса — 17–26% (Kotecka-Majchrzak et al., 2020, Поморова и др., 2019; Chmielewska et al., 2021; Halmemies-Beauchet-Filleau et al., 2018; Sá et al., 2020). Усвояемость белка

масличных культур достигает 85% (Sá et al., 2020). Жмыхи и шроты масличных культур, оставшиеся после отжима масла, используются преимущественно для корма рогатого скота или добавки к компосту, а возможность их использования с целью получения белковых препаратов недооценена (Sá et al., 2020; Singh et al., 2022). Так в шроте сои может содержаться 42–50% сырого протеина, а в жмыхе рапса — 35–44%, что делает масличные культуры перспективным сырьем для получения белковых концентратов и изолятов (Ibáñez et al., 2020; Tang et al., 2024).

Интерес к побочным продуктам переработки масличных культур, как к альтернативным источникам белка вызван ростом населения планеты, прогнозируемым увеличением спроса на продовольствие (даются прогнозы увеличения на 36–56% в период с 2010 по 2050 год), а также предупреждениями Продовольственной и Сельскохозяйственной Организации Объединенных Наций (FAO) о том, что белок в ближайшем будущем может стать лимитирующим макронутриентом в рационе людей (Van Dijk et al., 2021; Arrutia et al., 2020). Тенденция к поиску альтернативных источников белка подтверждается и ростом интереса к производству растительных аналогов мяса. С 2014 года рынок данной категории продуктов увеличивается ежегодно примерно на 10% (Daszkiewicz, 2020). Кроме того, производство белка животного происхождения сопровождается нерациональным использованием сельскохозяйственных угодий и высокими выбросами парниковых газов (до 14,5% от всех антропогенных выбросов) (Arrutia et al., 2020; Grossi et al., 2019). В связи с этим на сегодняшний день жмыхи и шроты масличных культур активно изучаются с точки зрения получения из них различных белковых препаратов (Kotecka-Majchrzak et al., 2020, Singh et al., 2022; Arrutia et al., 2020).

Область исследований, охватывающая как производство растительных белков, так и получение их гидролизатов, значительно расширилась. На основе гидролизатов обнаружено большое количество пептидов с различной биологической активностью, которые могут найти свое применение в качестве

<sup>1</sup> Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций. FAOSTAT: Statistical database (Электронный ресурс]. URL: <https://www.fao.org/faostat/ru/#data/QCL> (дата обращения: 02.12.2024).

<sup>2</sup> Федеральная служба государственной статистики (Росстат). Официальная статистика Российской Федерации (Электронный ресурс]. URL: <https://rosstat.gov.ru> (дата обращения: 02.12.2024).

биологически активных добавок в пищу, натуральных лекарственных препаратов и т.д. (Etemadian et al., 2021). На сегодняшний день идентифицированы биологически активные пептиды в гидролизатах белка различных сельскохозяйственных культур: сои, льна, амаранта, киноа и в том числе рапса (Daroit et al., 2021). Рост интереса к выращиванию рапса, производству белковых продуктов растительного происхождения и изучению протеолиза этих продуктов свидетельствуют о важности исследований гидролизатов рапсового белка. Выявление возможностей их применения в различных областях пищевой, фармацевтической промышленности и кормопроизводстве актуальная задача в изучении комплексной переработки этой культуры.

Целью настоящего систематического обзора является систематизация и обобщение данных о гидролизатах белков рапса и выделение перспективных направлений их дальнейшего изучения. Задачи исследования заключались в анализе научных данных о белковом профиле семян рапса и изучении публикаций о получении гидролизатов белков этой культуры и их свойствах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Базы данных и временные рамки

В обзор включены публикации, посвященные ферментативному гидролизу белков рапса и его практическим применениям, опубликованные в рецензируемых журналах за период с 2014 по 2025 годы. Включение статей, опубликованных ранее 2014 г. осуществлялось в случае отсутствия более свежих источников на данную тему. Источники информации отбирались при помощи поисковых систем Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, SpringerLink и РИНЦ.

### Критерии включения и исключения источников

Отбор научных статей для дальнейшего анализа осуществлялся по ключевым словам и словосочетаниям на русском и английском языке: «белки рапса», «биологически активные пептиды рапса», «гидролизаты белков рапса», «протеолиз белков рапса», «антигипертензивные пептиды из рапса»,

«антиоксидантные пептиды из рапса», «функционально-технологические свойства гидролизатов белков рапса».

### Критерии включения

1. Источник выпущен в период с 2014–2025 год, за исключением случаев отсутствия более свежих научных данных.
2. Источник посвящен изучению процесса гидролиза белков рапса и в нем описываются свойства гидролизатов/биологически активных пептидов, полученных в ходе исследования.
3. Источник является оригинальной исследовательской научной статьей или обзорной статьей, индексируемой в крупнейших научных базах данных (Scopus, Web of Science и т.д.). Источники на русском языке включались в обзор, если журналы, в которых они опубликованы, входят в перечень ВАК РФ.

### Критерии исключения

1. Несоответствие тематике настоящего обзора.
2. Неактуальность данных (год выпуска до 2014).
3. Несоответствие источника жанрам, которые указаны выше.
4. Язык источника — не русский и не английский.

Для систематизации информации статьи классифицировались по направлениям, связанным с биологическими свойствами гидролизатов, методами их получения и механизмами действия. Использованы данные *in silico* анализов для прогнозирования активности пептидов с применением баз BIOPEP, ExPASy PeptideCutter и др., а также опубликованные результаты экспериментов *in vitro* и *in vivo*.

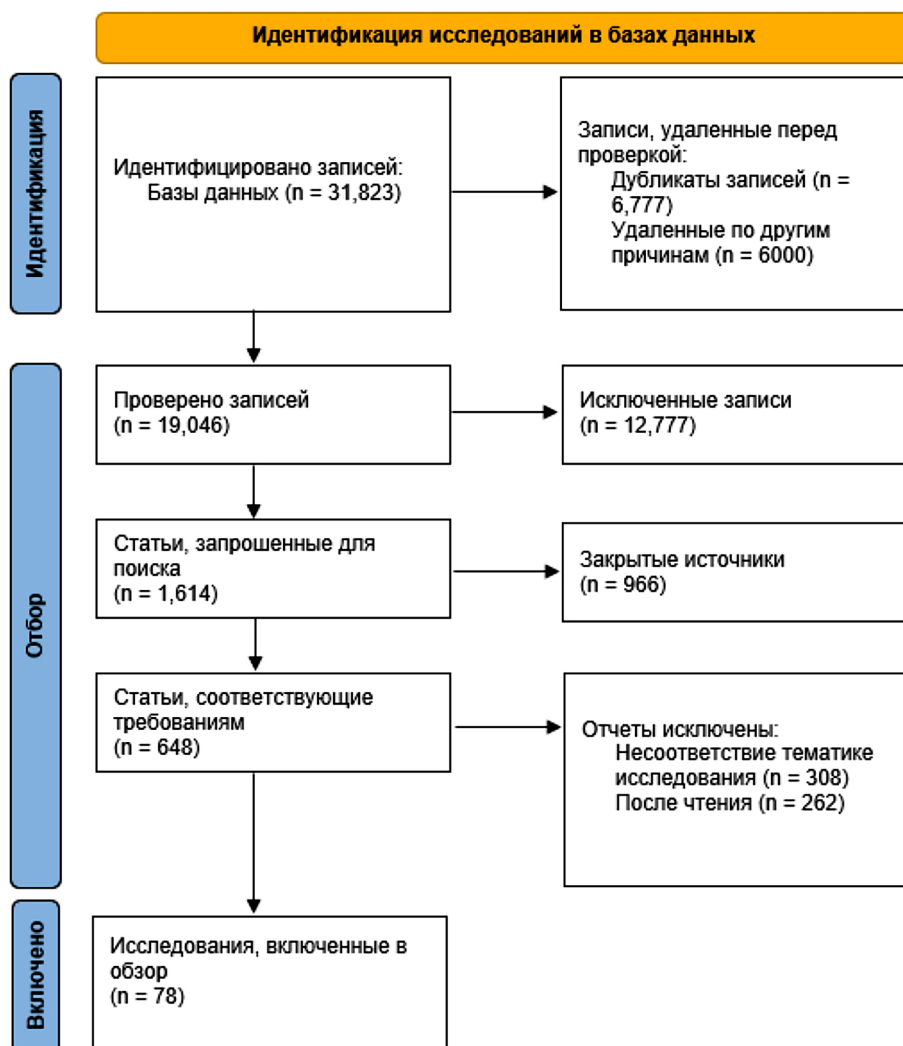
Всего было идентифицировано 31823 статей. После удаления дубликатов и записей, не соответствующих тематике, осталось 19046. На этапе скрининга по заголовкам и аннотациям были исключены публикации, не содержащие данных по 308, после чтения — 262. Было запрошено 1614 статей, из них 966 — закрытые источники. Для полной оценки отобрано 648 публикаций. Из них по критериям включения отобраны 120 работ, которые были включены в анализ. Все этапы представлены на PRISMA-диаграмме (Рисунок 1).

**Рисунок 1**

Схема отбора статей на основе рекомендаций PRISMA

**Figure 1**

Article Selection Scheme Based on PRISMA Recommendations



## Извлечение данных

Для всех 78 отобранных статей был использован стандартизированный процесс извлечения данных в соответствии с рекомендациями PRISMA. Извлечение данных проводилось независимо тремя авторами обзора, с использованием предварительно разработанной формы (таблица Excel) для обеспечения единообразного сбора информации. Любые расхождения между тремя исследователями разрешались путем обсуждений; при недостижении согласия привлекался четвертый автор для арбитража. Выбранный подход минимизировал риск ошибок и субъективности при сборе данных.

Из каждого включенного исследования извлекались ключевые сведения и результаты, релевантные целям обзора. Учитывалась характеристика сырья (вид рапсового сырья — обезжиренный жмых, шрот), используемые методы извлечения белков (условия экстракции и очистки, применяемые реагенты и ферменты, выход полученного белка), параметры ферментативного гидролиза (тип и дозировка фермента, длительность и температура гидролиза, степень гидролиза), а также функциональные свойства рапсовых белковых гидролизатов (растворимость, эмульгирующая и пенообразующая способность, водоудерживающая и жирудерживающая способности), показав-

тели биологической активности (в том числе антиоксидантная активность, гипотензивный эффект *in vitro* и другие функциональные свойства). При наличии в статьях дополнительной информации фиксировались общие сведения об исследовании (модель эксперимента, размер выборки при биологических испытаниях и год проведения исследования), а также основные выводы авторов. Систематический сбор информации обеспечил полноту и сопоставимость данных из разных источников. Процесс осуществляли в соответствии с рекомендациями PRISMA 2020<sup>5</sup>.

### Систематизация и анализ данных

После извлечения вся собранная информация была упорядочена и тематически сгруппирована для последующего анализа. В соответствии с целью систематического обзора проводилась классификация данных несколькими способами: по типу обработки белка (отдельные группы по экстракции и очистке рапсовых белков, по ферментативному гидролизу белков рапса, по физико-химическим модификациям); по изучаемым функциональным свойствам и видам биологической активности (отдельные группы для исследований, изучающих функционально-технологические свойства белков, и для работ, анализирующих биологическую активность полученных гидролизатов). Тематическое группирование позволило провести структуризацию данных и выявить сходные результаты и общие тенденции внутри каждой категории, что значительно упростило сопоставление данных между исследованиями. При классификации и интерпретации данных особое внимание уделялось консистентности терминологии измеряемых показателей: если разные источники определяли одно и то же свойство или использовали различные единицы измерения в разных целях, данные были приведены к общим величинам. В случаях обнаружения противоречий или неоднозначностей в данных отдельного исследования все авторы совместно пересматривали исходную публикацию для достижения единой интерпретации; спорные моменты решались консенсусом, что повышало объективность последующего анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Белки рапса и методы их получение

Основной белковый профиль рапса представлен запасующими белками, которые составляют около 90% общего белкового содержания семян (Wanasundara et al., 2017). Среди них преобладают два класса: 11S глобулин круциферин и 2S альбумин напин. Каждый из них отличается молекулярной архитектурой, аминокислотным составом, растворимостью и потенциальной биофункциональностью, что определяет их поведение в условиях экстракции и перспективность для последующего ферментативного расщепления.

Круциферин, занимающий от 30 до 60% общего содержания белков (в зависимости от сорта), представляет собой высокомолекулярный белок с массой 300–350 кДа (Chmielewska et al., 2021; Wanasundara, 2011). Его гексамерная четвертичная структура, сформированная двумя тримерами, придаёт ему устойчивость к тепловым и ферментативным воздействиям, но одновременно может снижать доступность потенциально биоактивных участков. Внутренняя организация — наличие  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей, соединённых дисульфидными мостиками, — формирует плотную упаковку, что требует учёта при выборе условий протеолиза (Wanasundara et al., 2017). *In silico* анализ последовательности круциферина (Wanasundara, 2011) указывает на наличие потенциальных биоактивных фрагментов, однако практические данные по его биологической активности остаются ограниченными, что требует дополнительных исследований по экстракции и направленному гидролизу.

Напин, напротив, обладает меньшей молекулярной массой (13 кДа), более рыхлой структурой и высокой растворимостью, что делает его более доступным к ферментативному расщеплению. Он состоит из двух цепей (4 и 9 кДа), соединённых дисульфидными связями, стабилизирующими структуру, но не препятствующими взаимодействию с протеазами (Chmielewska et al., 2021). Напин ответственен за депонирование азота и серы в семенах (Wanasundara, 2011), и потенциально может быть источником пептидов с высокой физиологи-

<sup>5</sup> Nicolau I., Ling D., Tian L., Lienhardt C., Pai M. Research Questions and Priorities for Tuberculosis: A Survey of Published Systematic Reviews and Meta-Analyses. — *PLOS ONE*. 2012; 7(7): e42479. DOI: 10.1371/journal.pone.0042479.

ческой значимостью. Однако при экстракции одновременно напин и круциферин могут вести себя по-разному, что требует дифференцированного подхода при разработке методов получения.

Помимо запасующих белков, в семенах рапса присутствуют функциональные белки: олеозины, калеозины, стеролеозины, обеспечивающие стабильность липидных телец, а также ингибиторы протеаз — трипсина и химо трипсина, которые могут снижать пищевую ценность продуктов переработки (Chmielewska et al., 2021; Wanasundara, 2011). Их удаление или инактивация в процессе извлечения является важной технологической задачей.

Методы экстракции белков из рапсового жмыха в значительной мере определяют как выход, так и функциональные характеристики получаемых фракций. Наиболее широко применяются водные экстракции с варьированием pH, солевого состава, типа осадителей и температурного режима (Arrutia et al., 2020). Принципиально важным является выбор типа исходного сырья: жмых холодного пресования сохраняет нативную структуру белков, что обеспечивает высокий выход и функциональную активность (Fetzer et al., 2018; Östbring et al., 2019). Напротив, шрот после растворной экстракции и термической обработки характеризуется высокой степенью денатурации и реакциями Майяра, снижающими растворимость и усвояемость белков.

Наиболее продуктивным методом считается щелочная экстракция, при которой увеличение pH способствует повышению растворимости белков, особенно круциферина (Fetzer et al., 2018; Zhang et al., 2020; Gerzhova et al., 2016). Однако значения  $pH > 11$  сопровождаются нежелательными побочными эффектами, включая рацемизацию, образование поперечных сшивок между аминокислотами, разрушение чувствительных остатков (Thr, Lys, Cys) и снижение биодоступности (Arrutia et al., 2020). Более того, такие условия могут ухудшать органолептические и визуальные свойства экстракта за счёт потемнения, вызванного окислением фенольных соединений (Zhang et al., 2020).

Интерес представляет также солевое модифицирование экстрагентов, при котором повышение ионной силы способствует выборочной экстракции отдельных фракций. Так, круциферин легче

извлекается в присутствии солей, тогда как напин, напротив, частично теряется (Gerzhova et al., 2016). Это подчеркивает необходимость точной настройки параметров экстракции под целевой белок и предполагаемое применение: либо для пищевых ингредиентов, либо для выделения пептидов с фармакологическим потенциалом.

Процесс осаждения экстрагированных белков обычно осуществляется с помощью кислот (например, соляной или лимонной), доводящих pH до области изоэлектрической точки белков (pH 3,5–4,5), что позволяет достичь высокой степени преципитации (Fetzer et al., 2020). Альтернативные методы включают органические растворители (например, этанол) и методы «высаливания», каждый из которых влияет на сохранность третичной структуры и растворимость (Wnukowski et al., 2015). Дополнительное выделение остаточных белков возможно из надосадочной жидкости путём мембранных методов, в частности ультрафильтрации.

Отдельного внимания заслуживают предобработки, повышающие эффективность экстракции, такие как предварительное обезжиривание, ферментативное ослабление матрикса или кислотная экстракция при pH 3,0, используемая, в частности, для избирательного извлечения напина (Perera et al., 2016). Совокупность этих методик образует гибкий технологический конструктор, адаптируемый под характеристики исходного сырья и функциональные требования к целевому продукту. Сводная схема этапов водной экстракции белков из рапсового жмыха представлена на Рисунке 2.

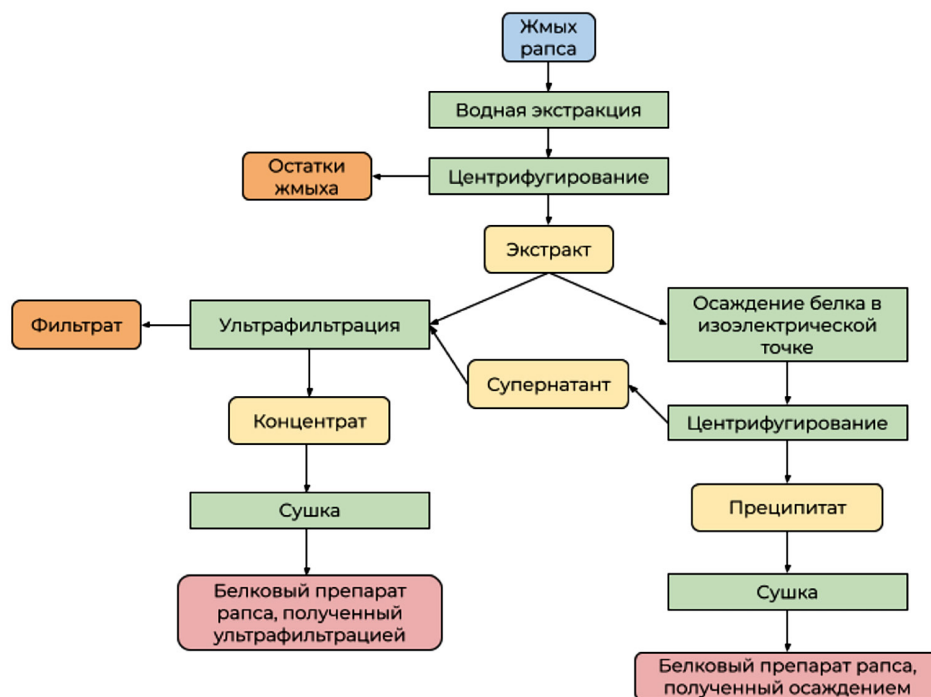
С точки зрения пищевой и нутрицевтической ценности, рапсовый белок характеризуется сбалансированным аминокислотным профилем, за исключением ограниченного содержания серосодержащих аминокислот (Arrutia et al., 2020). Он сопоставим с соевым белком по уровню постпрандиальных реакций, а по некоторым параметрам (например, влиянию на чувство насыщения и регуляцию гликемии) превосходит его (Volk et al., 2020), что делает его перспективным ингредиентом в рецептуре функциональных и медицинских продуктов питания.

**Рисунок 2**

Схема получения белковых препаратов из рапсового жмыха методом водной экстракции

**Figure 2**

The Scheme of Obtaining Protein Preparations from Rapeseed Cake by Water Extraction



Note. Adapted from Fetzer et al. (2020).

## Протеолиз белков рапса

Продукты из рапса, содержащие белки, могут быть подвергнуты ферментативному гидролизу различными протеолитическими ферментами. Применяя различные ферментные препараты и варьируя степень и условия гидролиза, можно получить различные новые продукты с повышенной биологической активностью или улучшенными функционально-технологическими свойствами. При этом, кроме непосредственных экспериментов и анализов, ценным инструментом скрининга биологической активности полученных в результате гидролиза пептидов являются специальные базы данных (Daroit et al., 2021). Далее в статье рассмотрены различные эксперименты по протеолизу различных препаратов белка рапса и белоксодержащих продуктов из рапса. Описаны полученные биологически активные пептиды, а также возмож-

ности потенциального применения и функционально-технологические свойства полученных гидролизатов.

## Антимикробные пептиды

Белок рапса может быть источником антимикробных пептидов. Известно исследование, в котором 12 аминокислотных последовательностей белка рапса (различные последовательности напина, круциферина и олеозина) были гидролизованы *in silico* 9 ферментами (трипсин, химотрипсин, пепсин, папаин и др.). С использованием базы данных CAMP<sup>4</sup> было идентифицировано 26 потенциальных антимикробных пептида, предсказанных как нетоксичные (по данным ToxinPred<sup>5</sup>), 14 из которых не являлись аллергенными (по данным AllergenFP<sup>6</sup>). Из круциферина было получено больше антимикроб-

<sup>4</sup> <http://www.camp.bicnirrh.res.in/>

<sup>5</sup> <https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/index.html>

<sup>6</sup> <http://ddg-pharmfac.net/AllergenFP/>

ных пептидов, чем из напина и олеозина, а трипсин оказался наиболее эффективным ферментом для получения таких пептидов. В итоге было отмечены два антимикробных пептида, полученных из круциферина с пептидными последовательностями: VP~~H~~LLVATFGVLLV~~L~~NGCLAR и GQLLV~~V~~PQGF~~A~~VVK. Эти пептиды были получены из круциферина с помощью трипсина, были не токсичны и не являлись потенциальными аллергенами, а положительный прогноз на их противомикробные свойства был по-

лучен при использовании всех алгоритмов в CAMPR, что делает перспективным выделение и изучение *in vitro* этих пептидов (Duan et al., 2021).

В Таблице 1 представлены идентифицированные в гидролизатах белка рапса пептиды, указана их биологическая активность, ферментные препараты, с помощью которых были получены гидролизаты, а также белок, при гидролизе которого получались указанные пептиды.

**Таблица 1**

Биологически активные пептиды, полученные из рапсовых белков

**Table 1**

Biologically Active Peptides Derived from Rapeseed Proteins

Пептид	Исходный белок	Ферментный препарат	Биологическая активность	Источник
1	2	3	4	5
VP <del>H</del> LLVATFGVLLV <del>L</del> NGCLAR GQLLV <del>V</del> PQGF <del>A</del> VVK	Круциферин	Трипсин ( <i>in silico</i> )	Противомикробные свойства	Duan et al., (2021)
FRW FQW	Круциферин	Термолизин ( <i>in silico</i> )	Ингибитор АПФ	Duan et al., (2023)
CPF	Напин	Папаин/бромелаин ( <i>in silico</i> )		
VW IY RIY	Круциферин Напин	Субтилизин Carlsberg – type VIII из микроорганизма <i>Bacillus licheniformis</i> (Sigma-Aldrich, США)	Истинный ингибитор АПФ	Marczak et al., (2003)
VWIS	Актин, рибосомальный белок		Пролекарственный ингибитор АПФ	
LY, RALP	Круциферин	Alcalase (Novozymes, Дания)	Ингибитор АПФ и ренина	He et al., (2019) He et al., (2013a) He et al., (2013b)
GHS	Круциферин	Пепсин + Панкреатин (Sigma-Aldrich, США)	Ингибитор АПФ и ренина	He et al., (2019) He et al., (2013a) He et al., (2013b)
IPK LPR	Напин			
VPHL	Круциферин	Пепсин + Панкреатин (Sigma-Aldrich, США)	DPP-IV-ингибирующая активность	You et al., (2022)
IPNQ <del>T</del>	Не Охарактеризован			
PAGPF Q(-17,03)KTMPGP IPQVS ELHQEELP	Напин	Alcalase (Novozymes, Дания) + Трипсин (Solarbio Biological Technology Company, Китай)	DPP-IV-ингибирующая активность	Xu et al., (2019) Xu et al., (2020)

Окончание Таблицы 1

Пептид	Исходный белок	Ферментный препарат	Биологическая активность	Источник
1	2	3	4	5
LPK	Напин	Alcalase (Novozymes, Дания) + Бромелаин (Sigma-Aldrich, США) + Пепсин + Трипсин (оба – Solarbio Biological Technology Company, Китай)	Антиоксидантная активность и защита от инсулинорезистентности	Yao et al., (2022a) Yao et al., (2022b)
RAP (YWDHNNPQIR)	Не Охарактеризован	Alcalase (Novozymes, Дания)	Антиоксидантная активность и уменьшение фиброза почек	Xu et al., (2017) Zhang et al., (2018)
RAP-8 (DHNNPQIR)	Не Охарактеризован	Обнаружен при гидролизе RAP внутриклеточными пептидазами	Антиоксидантная активность и уменьшение фиброза почек	Zhao et al., (2018)
EFLELL	Не Охарактеризован	Alcalase (Novozymes, Дания)	Гиполипидемическая активность	Yang et al., (2023)
ASH	Круциферин	Пепсин + Панкреатин (Sigma-Aldrich, США)	Образование хелатных соединений с цинком	Wang et al., (2023)

### Пептиды с антигипертензивной активностью

Ингибиторы ренина и Ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) являются важными лекарственными средствами в лечении артериальной гипертензии (Turner et al., 2020). Круциферин и напин из рапса могут быть источниками пептидов с АПФ-ингибирующей активностью, что было предсказано *in silico* моделированием гидролиза этих белков пепсином и субтилизином при помощи инструмента BIOPEP «Enzyme(s) action» (Han et al., 2019). Данные результаты были проверены *in vitro* (использовались ферментные препараты Alcalase (Novozymes, Дания) и пепсин (Sigma-Aldrich, США), и, несмотря на ограниченную корреляцию с прогнозированием *in silico*, белки рапса были признаны потенциальными источниками биологически активных пептидов, в том числе антигипертензивных (Han et al., 2021).

В другом исследовании *in silico* 12 аминокислотных последовательностей белков рапса были обработаны 8 ферментами (папаин, бромелаин, фицин и др.) при помощи инструмента BIOPEP-UWM. Далее были отобраны 8 пептидов с прогнозируемой высокой АПФ-ингибирующей активностью. Данные пептиды были синтезированы методом твердофазного синтеза, и их биологическая активность

была подтверждена *in vitro*. Пептиды FQW, FRW (из гидролизатов круциферина, фермент – термолизин) и CPF (из гидролизатов напина, ферменты – папаин и бромелаин) продемонстрировали высокую ингибирующую активность в отношении АПФ, показав значения IC<sub>50</sub> 44,84±1,48 мкМ, 46,30±1,39 мкМ и 131,35±3,87 мкМ соответственно, что делает перспективным идентификацию и выделение этих пептидов из гидролизатов белков рапса в условиях *in vitro* (Duan et al., 2023).

Существует ряд уже идентифицированных и описанных пептидов, полученных при протеолизе рапсовых белков, проявляющие антигипертензивные свойства. Изучены пептиды VW, VWIS, IY и RIY –ингибиторы АПФ, выделенные из гидролизата рапсового белка, полученного с применением фермента субтилизин Carlsberg-type VIII из микроорганизма *Bacillus licheniformis*. При этом VW и IY относятся к истинным ингибиторам АПФ, а VWIS и RIY к пролекарственным ингибиторам, т.е. веществами, которые под действием АПФ превращаются в истинные ингибиторы этого фермента. Результаты исследований *in vivo* показали, что АПФ-ингибирующая способность этих пептидов лишь незначительно меньше, чем у синтетического ингибитора АПФ каптоприла (Marczak et al., 2003). Были иден-

тифицированы три пептида, полученных из белка семян рапса: GHS, из гидролизатов пепсина и панкреатина (изготовлены Sigma-Aldrich, США); LY и RALP, из гидролизатов ферментного препарата Alcalase, которые оказывали антигипертензивное действие на крыс со спонтанной гипертензией. Пептиды проявляли долгосрочные эффекты в снижении систолического артериального давления, причем LY продемонстрировал наиболее мощный эффект (He et al., 2019; He et al., 2013a; He et al., 2013b). Известно исследование, в котором гидролизованный ферментным препаратом Alcalase изолят рапсового белка был фракционирован с использованием электродиализа с использованием ультрафильтрационной мембраны. Полученные три фракции (анионные, катионные и оставшиеся в отделении для подачи пептиды (финальный гидролизат)) показали высокую антигипертензивную активность. Белковые гидролизаты с положительно заряженными пептидами оказались лучшими антигипертензивными средствами, чем отрицательно заряженные эквиваленты, вероятнее всего из-за наличия пептида RALP, обладающего мощным антигипертензивным эффектом. Финальный гидролизат показал самую высокую антигипертензивную активность, что говорит о наличии высоких уровней различных групп антигипертензивных пептидов (He et al., 2016).

Известно исследование, в котором пептиды гидролизата рапсового белка, полученного под действием ферментного препарата Alcalase продемонстрировали потенциальный синергизм с каптоприлом в отношении улучшения антигипертензивных свойств на животных моделях. Пептиды могут увеличивать амплитуду снижения артериального давления каптоприлом на 9% и продлевать продолжительность антигипертензивного эффекта более чем на 20% (Wang et al., 2021).

#### **DPP-IV-ингибирующие пептиды**

*In silico* белки рапса (аминокислотные последовательности) получены из базы данных UniProt<sup>7</sup> были обработаны ферментами пепсином, трипси-

ном и химоотрипсином при помощи инструмента ExPASy PeptideCutter<sup>8</sup>. Из 729 полученных пептидов с помощью базы данных BIOPEP<sup>9</sup> были отобраны 20 с потенциальными свойствами ингибировать дипептидилпептидазу IV (DPP-IV). 4 пептида IPK, LPR, VPHL и IPNQT были успешно идентифицированы методом ВЭЖХ-МС/МС в гидролизате белка семян рапса, полученном при последовательном гидролизе пепсином и панкреатином (изготовлены Sigma-Aldrich, США), а IPK продемонстрировал самую высокую ингибирующую активность (You et al., 2022). DPP-IV-ингибирующие пептиды рапсового белка потенциально могут применяться в качестве пищевой добавки для профилактики сахарного диабета 2 типа, поэтому актуальным становится вопрос их выделения, изучения механизма их действия, а также проведение экспериментов *in vivo*.

Три пептида и один модифицированный пептид (пироглутаматная мутация на N-конце), полученные в результате гидролиза напина смесью ферментных препаратов Alcalase и трипсина (Solarbio Biological Technology Company, Китай), проявляли выраженную DPP-IV-ингибирующую активность: PAGPF, Q(-17,03)KTMPGP, IPQVS, ELHQEERL (Xu et al., 2019). Эксперименты с одним из этих пептидов ELHQEERL на монослоях клеток Caco-2 показали, что значения IC<sub>50</sub> ингибирования DPP-IV для ELHQEERL увеличились на 43,11% из-за его распада на пептиды EL, HQEER и (+14,2) ELHQEERL (метилированный исходный пептид) в условиях, приближенных к кишечнику. Это было связано с меньшим связыванием продуктов распада ELHQEERL с DPP-IV, тем самым ограничивало его ингибирование. Однако использование монослоев клеток Caco-2 не позволяет оценить свободную ингибирующую активность DPP-IV в крови. Тем самым данные о пептиде ELHQEERL и продуктах его гидролиза могут быть уточнены в других экспериментах *in vivo* и *in vitro* (Xu et al., 2020).

Для повышения терапевтического потенциала DPP-IV-ингибирующих пептидов рапсового белка была разработана нанокапсулированная система

<sup>7</sup> Универсальная база данных по белкам UniProt. UniProt: Universal Protein Resource [Электронный ресурс]. URL: <http://www.uniprot.org/> (дата обращения: 02.12.2024).

<sup>8</sup> Инструмент *in silico* протеолитического расщепления белков PeptideCutter. ExPASy: PeptideCutter [Электронный ресурс]. URL: [http://web.expasy.org/peptide\\_cutter/](http://web.expasy.org/peptide_cutter/) (дата обращения: 02.12.2024).

<sup>9</sup> База данных биоактивных пептидов BIOPEP-UWM. BIOPEP-UWM Database [Электронный ресурс]. URL: <http://www.uwm.edu.pl/biochemia/index.php/en/bioper> (дата обращения: 02.12.2024).

на основе хитозана и альгината натрия. Два варианта пептидов (из круциферина рапса и из напина рапса), полученные при гидролизе ферментными препаратами Alcalase и трипсин (Solarbio Biological Technology Company, Китай) были инкапсулированы с использованием трехканального устройства при соотношении 1:3:1 для хитозана, альгината и пептидов соответственно. Полученные наночастицы продемонстрировали высокую эффективность инкапсуляции и стабильность, а фармакокинетические исследования показали пролонгированное высвобождение пептидов и их способность значительно улучшать глюкозотолерантность, увеличивать содержание глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) в сыворотке и повышать экспрессию кальций-чувствительного рецептора (CaSR) (Wang et al., 2024).

Гидролизаты рапсового шрота, полученные при гидролизе комбинацией ферментных препаратов Alcalase 2.4L и PTN 6.0S (трипсин, производства Novozymes, Дания), проявили ингибирующую активность DPP-IV сопоставимую с синтетическими ингибиторами. Наиболее активные пептиды имели молекулярную массу менее 1 кДа, с повышенной концентрацией пролина. После моделирования пищеварения ингибирующая активность сохранялась, подтверждая устойчивость пептидов к ферментативной деградации. Данное исследование также демонстрирует, что источником пептидов с биологической активностью могут быть не только изоляты и концентраты белков рапса, но и другие продукты его переработки с высоким содержанием белка — жмыхи и шроты (Pérez-Gálvez et al., 2024).

#### **Пептиды с противоопухолевой активностью**

В лечении онкологии большое значение играет индукция апоптоза опухолевых клеток, т.к. их сниженная способность к апоптозу и аномальная пролиферация являются двумя основными факторами онкогенеза. Методом смешанной твердофазной ферментации при помощи взаимодействия микроорганизмов *Bacillus subtilis* и *Actinomycor elegans* и нейтральной протеазы были получены пептидные экстракты из рапсовой муки. Из полученных пептидных экстрактов была выделена и очищена пептидная фракция RSP-4-3-3 (методами ультрафильтрации, гель-фильтрации и высокоэффективной жидкостной хроматографии). В результате обработки RSP-4-3-3 клеток рака пе-

чени человека HerG2 было установлено, что вышеуказанные пептиды ингибировали пролиферацию клеток HerG2 *in vitro*, участвуя в митохондриально-опосредованном апоптозе клеток. Это говорит о необходимости продолжения исследований противоопухолевых пептидов, полученных из белков рапса (Xie et al., 2015; Wang et al., 2016).

Противоопухолевая активность пептидов, полученных из белков рапса, продемонстрирована на примере клеточной линии рака груди MCF-7. Гидролизат белков из обезжиренного жмыха рапса, полученный с использованием протеазы Alcalase 2.4 L, показал 83,9% ингибирование пролиферации клеток MCF-7 при низком уровне цитотоксичности для здоровых человеческих фибробластов. Эффективность гидролизата зависела от степени гидролиза: оптимальные результаты наблюдались при низком уровне гидролиза (8,5–9%), при котором пептиды с молекулярной массой 10, 5 и 2 кДа проявляли наибольшую активность, что может быть связано с сохранением ключевых функциональных структур белков (Ferrero et al., 2021).

#### **Гидролизаты с антиоксидантной активностью**

Гидролизаты рапса могут найти свое применение в пищевых продуктах в качестве антиоксидантов. Последовательной ферментативной системой пепсин + панкреатин (Sigma-Aldrich, США) были получены гидролизаты рапсового белка с повышенной антиоксидантной активностью (время протеолиза — 5 и 10 минут). Антиоксидантная активность, измеренная через радикалы DPPH, составила до 35,6% удаления свободных радикалов в образце, гидролизованном в течение 10 минут. Антиоксидантная активность по отношению к радикалам ABTS составила 5,45 мМ ТЕАС/г. Эти показатели были выше, чем у исходного белкового концентрата, что подчеркивает потенциал применения ограниченного протеолиза белковых препаратов из рапса при создании функциональных пищевых продуктов с повышенной антиоксидантной активностью (Bermejo-Cruz et al., 2023).

Гидролизаты изолята белка рапса, полученные в результате ферментативного гидролиза ферментным препаратом Alcalase, также показали свою высокую антиоксидантную активность. Был получен гидролизат со степенью гидролиза примерно 25%, поглощение супероксид-аниона которым достигало 64,86% при концентрации 1,5 мг/мл, что было ана-

логично поглощению глутатиона при концентрации 0,2 мг/мл. Удаление радикалов DPPH достигло 75,22% при концентрации 1,2 мг/мл, что было аналогично показателю глутатиона при 0,4 мг/мл. Гидролизат рапсового белка при 8 мг/мл проявлял поглощающий эффект на гидроксильный радикал 73,42%. При этом гидролизат был на 80% растворим при pH = 4,5, что говорит о перспективах его применения в напитках с разной кислотностью (Pan et al., 2011).

Исследована антиоксидантная активность у различных фракций гидролизатов изолята рапсового белка, полученных в результате действия ферментных препаратов Alcalase, Flavourzyme (Novozymes, Дания), протеиназа К, пепсин + панкреатин, термолизин (Sigma-Aldrich, США). Пептидные фракции, полученные после гидролиза ферментными препаратами Alcalase и протеиназа К, обладали высокой способностью улавливать супероксидные радикалы и ингибировать окисление линолевой кислоты. Фракция, полученная после гидролиза протеиназой К с молекулярной массой пептидов 1–3 кДа, оказалась наиболее эффективной против супероксидного радикала с наименьшим значением IC<sub>50</sub>–0,63 мг/мл. Авторы исследования пришли к выводу, что продукты гидролиза рапсового белка ферментным препаратом Alcalase и протеиназой К могут найти свое применение в пищевой промышленности в качестве альтернативы синтетическим антиоксидантам (He et al., 2013c).

Ионы переходных металлов, например Fe<sup>2+</sup>, могут катализировать образование активных форм кислорода, которые способствуют окислительному повреждению важнейших клеточных соединений (He et al., 2013c). Известен ряд работ, в которых гидролизаты белоксодержащих продуктов из рапса показали высокую способность хелатировать ионы переходных металлов. Так в пептидах белка рапса, полученных с помощью ферментного препарата Proluve (PAC 30L) (Soufflet Biotechnologies, Франция), была обнаружена высокая способность к образованию хелатных соединений с металлами. Так гидролизат обладал хелатообразующей способностью  $15,27 \pm 3,24 \times 10^{-6}$  моль хелатообразующего железа (II) на мг пептида, что существенно выше, чем у важного хелатообразующего агента лимонной кислоты —  $0,75 \pm 0,14 \times 10^{-6}$ . Таким образом гидролизаты белка рапса, полученные при помощи

ферментного препарата Proluve имеют потенциал применения в качестве хелаторов металлов для противодействия окислению липидов в пищевых продуктах (Durand et al., 2021).

#### **Пептиды гидролизатов с антиоксидантной активностью**

Пептиды из гидролизатов жмыха рапса, выделенные с использованием аффинной хроматографии на иммобилизованных металлах и полученные под действием ферментного препарата Proluve (PAC 30L), продемонстрировали высокую способность к хелатированию железа (EC<sub>50</sub> = 138,6 мкг), что превосходит аналогичный показатель цитрата натрия и сравнимо с ЭДТА. В тесте на антиоксидантную активность пептиды обеспечивали ингибирование окисления β-каротина на уровне 67,3% (ЭДТА — 68,7%). В эмульсионных системах полученные пептиды снижали уровень перекисей липидов на 44% через 7 дней и на 57% через 14 дней, превосходя показатели ЭДТА (41% и 50%). Эти данные подчеркивают потенциал пептидов, полученных при протеолизе белков рапса, как эффективных антиоксидантов в липидных эмульсиях (Beaubier et al., 2023a). В другом исследовании было обнаружено, что при 7-часовом гидролизе изолята белка рапса ферментным препаратом Proluve (PAC 30L) при pH 3,0 и 50 °C гидролизу подверглись круциферин, а более 80% напиров остались нетронутыми. Полученные пептиды показали высокую хелатирующую активность железа (EC<sub>50</sub> = 276.5±6.2 мкг). Таким образом данная технология может быть использована для получения гидролизатов с высокой антиоксидантной активностью и при этом с неповрежденными напинами, которые сами по себе обладают противомикробными свойствами (Kaugarenia et al., 2022).

Олигопептид LPK, выделенный из гидролизатов белка напина рапса под действием ферментных препаратов Alcalase, бромелаина (производства Sigma-Aldrich, США) и имитацией желудочно-кишечного пищеварения трипсином и пепсином (Solarbio Biological Technology Company, Китай), продемонстрировал выраженную способность защищать клетки HepG2 от инсулинорезистентности и оксидативного стресса. LPK эффективно увеличивал поглощение глюкозы, активность супероксиддисмутазы, экспрессию и перемещение GLUT4, а также фосфорилирование IRS-1, PI3K и Akt. Одновременно он снижал уровень активных

форм кислорода, активность лактатдегидрогеназы, содержание малонового диальдегида и NO. Эти результаты подтверждают, что LPK обладает высоким потенциалом для защиты клеток печени через активацию пути IRS-1/PI3K/Akt/GLUT4 и регуляцию оксидативных маркеров (Yao et al., 2022a; Yao et al., 2022b).

Пептид YWDHNNPQIR (был назван RAP), идентифицированный в гидролизатах ферментного препарата Alcalase, был изучен с точки зрения антиоксидантной активности *in vitro* на линии клеток Caco-2. Данный пептид проявлял высокую антиоксидантную активность — 0,64 мг/мл (концентрация, при которой достигается удаление 50% радикалов DPPH). Было обнаружено, что данный пептид проявлял антиоксидантную активность в отношении перекисного окисления липидов в кишечном эпителии. Кроме того, антиоксидантные эффекты RAP привели к повышению уровня внутриклеточных антиоксидантов и усилению действия антиоксидантных ферментов. Данный пептид ингибировал внутриклеточное окисление, индуцированное 2,20-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлоридом (Daroit et al., 2021; Xu et al., 2017). Кроме того, данный пептид уменьшал фиброз почек при диабетической нефропатии, подавляя сигнальные пути MAPK и NF-κB, что было продемонстрировано *in vivo* на мышах C57BL/6 (Zhang et al., 2018). Под действием аминопептидаз и карбоксипептидаз при пищеварении из пептида RAP образуется ряд других биологически активных пептидов (60). Один из таких пептидов DHNNPQIR (назван RAP-8) демонстрирует эффективность в снижении жировой инфильтрации, воспаления и фиброза печени. В клеточной модели HepG2 RAP-8 (100 мкМ) уменьшал накопление липидов и ингибировал активацию звездчатых клеток печени (HSC), снижая экспрессию α-SMA. На модели мышей с неалкогольной жировой болезнью печени, вызванной диетой с высоким содержанием жиров, RAP-8 снижал уровни триглицеридов, холестерина, аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы, а также уменьшал экспрессию провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1 и IL-6. В модели хронического повреждения печени RAP-8 (350 нМ/кг в сутки) уменьшал фиброз, снижая содержание коллагена и активность HSC. Эти результаты подтверждают терапевтический потенциал RAP-8 для лечения заболеваний печени (Zhao et al., 2018).

Гидролизаты с биоактивными свойствами могут быть получены и при использовании ферментации микроорганизмами совместно с протеолитическими ферментами. Так ферментация жмыха рапса с использованием микроорганизмов *Bacillus subtilis* YY-4 и *Lactobacillus plantarum* 6026 в сочетании с кислотными протеазами, предоставленными компанией (Doing-Higher Bio-Tech Co., Ltd, Китай) позволила значительно увеличить содержание растворимых пептидов и аминокислот, включая низкомолекулярные пептиды (<1 кДа). Полученный ферментированный продукт демонстрировал высокую антиоксидантную активность — 81,66% удаления радикалов DPPH при концентрации 0,9 мг/мл. Кроме того, активность по связыванию ионов железа составила 75,99%. Исследование выявило улучшение питательных и биологических свойств, включая снижение содержания анти-нутритивных факторов (глюкозинолатов и фитиновой кислоты) и повышение усвояемости (Wang et al., 2022a). В другой работе ферментация рапсового жмыха с использованием *Bacillus subtilis* YY-112 была проведена как отдельно, так и в сочетании с *Saccharomyces cerevisiae* YY-21. Результаты показали, что при чистой ферментации с *B. subtilis* YY-112 концентрация пептидов увеличилась до 231,75 мг/г, а молекулярная масса оказалась значительно ниже, чем при совместной ферментации. Этот продукт продемонстрировал не только более высокую антиоксидантную активность, но и улучшенную способность снижать уровень малондиальдегида, что свидетельствует о его потенциальном омолаживающем эффекте при употреблении (Wang et al., 2022b).

#### **Гидролизаты белков рапса в кормах для объектов аквакультуры**

Рапс является перспективным источником белка, альтернативным рыбной муке в производстве кормов для рыб (Kaiser et al., 2021). Изучаются возможности применения не только белков, но и гидролизатов белка семян рапса. На стадии постэмбрионального развития у рыб должны присутствовать в пище свободные аминокислоты, ди-, олиго- и полипептиды, а также низкомолекулярные растворимые белки. Это связано с недостаточной активностью кислых и щелочных протеиназ у рыб на этом этапе роста. Поэтому ведутся исследования по протеолитическому гидролизу рапсового белка, в том числе с применением ферментных комплексов, полученных из дешевого сырья (Muranova et al., 2017; Зинченко и др., 2019; Зин-

ченко и др., 2018). Известно исследование, в котором гидролиз с помощью ферментного комплекса из гепатопанкреаса камчатского краба позволил получить перспективные для кормления мальков белковые гидролизаты из изолята рапсового белка. Гепатопанкреас камчатского краба на данный момент является отходом, что говорит о дешевизне полученного из него комплекса ферментов. Были изучены различные условия гидролиза: при гидролизе в течение 21 часа с отношением фермент/субстрат — 1/20 при комнатной температуре образовывался продукт, не содержащий пептидов молекулярной массы более 2000 Да. Менее длительный гидролиз позволял обогатить изолят рапсового белка пептидами, с массой менее 1000 Да, и свободными аминокислотами (Muranova et al., 2017). Еще один дешевый источник высокоактивных протеолитических ферментов — пилорические придатки промысловых рыб, богатые трипсином и трипсиноподобными ферментами. Гидролиз белкового препарата рапса, полученного методом щелочной экстракции с последующей ультрафильтрационной очисткой и осаждением этанолом, при помощи экстракта из пилорических придатков трески (ЭППТ) позволил добиться практически полного расщепления высокомолекулярных белков до олигопептидов с молекулярной массой менее 14 кДа, свободных аминокислот и коротких пептидов. Данные результаты были получены при проведении реакции в течение 3 часов при отношении ЭППТ/белок 1:20 и в течение 20 часов при отношении ЭППТ/белок 1:100 (Зинченко и др., 2019). Однако гидролиз белковых препаратов рапса коммерческими ферментными препаратами с целью применения в кормах для рыб также является объектом интереса со стороны науки. Изучен протеолитический гидролиз изолята белка рапса ферментным препаратом Протосубтилин ГЗХ (Сиббиофарм, Россия), который активно применяется в производстве кормов. При соотношении фермент-субстрат 1:20, и времени гидролиза 20 ч содержание свободных аминокислот и олигопептидов в гидролизате с молекулярной массой ниже 14 кДа увеличилось на 8 и 53% от исходного белкового материала соответственно (Зинченко и др., 2018).

Известен эксперимент, в котором полученные при гидролизе рапсового изолята ферментным препаратом Alcalase гидролизаты были включены в рацион молоди белуги (*Huso huso*). Было обнаружено, что гидролизаты положительно влия-

ли на прирост массы тела, удельную скорость роста, длину и выживаемость особей. При этом увеличение этих показателей соответствовало увеличению количества гидролизата в рационе, что подтверждает перспективность применения гидролизатов рапсовых белков в кормах для рыб (Ebrahimnezhadarabi et al., 2021).

Основным недостатком применения белковых продуктов из рапса в кормах рыб — это содержание антипитательных веществ, таких как глюкозинолаты, фитиновая кислота, синопин и танины, которые могут негативно влиять на здоровье рыб, вызывая дисфункцию щитовидной железы, повреждение печени и почек, а также снижение иммунитета. Для снижения содержания антипитательных веществ применяются методы термической обработки и ферментации, что делает рапсовые белки и гидролизаты из них более пригодными для использования в кормах для рыб, хотя требуется дальнейшее изучение их долгосрочного воздействия на здоровье и рост рыб (Kaiser et al., 2022).

#### **Получение гидролизатов с улучшенными функционально-технологическими свойствами**

Было изучено применение протеолитических ферментов с целью увеличения эмульгирующих свойств изолята белка рапса. Изучен протеолиз с применением ферментов Alcalase 2.4L, трипсин, пепсин и химотрипсин (Sigma-Aldrich, США) с отношением фермент-субстрат 1:20 в течение 4 часов. Изолят и гидролизаты использовали для получения эмульсий при pH 4,0; 7,0; 9,0. Наиболее стабильная эмульсия была получена из необработанного ферментами изолята при pH 9,0, однако из-за высокой щелочности применение таких эмульсий в пищевой промышленности затруднено. При нейтральных значениях pH обработка ферментными препаратами Alcalase, трипсином и химотрипсином позволили увеличить стабильность эмульсий, причем вне зависимости от температуры хранения. При этом эмульсии гидролизата пепсина оказались нестабильны при любых условиях, что свидетельствует о существенном влиянии на характеристики гидролизатов типа фермента при протеолизе (Alashi et al., 2018).

Исследован ограниченный (степень гидролиза 3,1–7,7%) ферментативный гидролиз изолята белка рапса с помощью ферментного препарата Alcalase 2.4L. Гидролизаты обладали рядом преимуществ

по функционально-технологическим свойствам перед исходным белковым изолятом. Увеличивалась водоудерживающая способность что вероятно связано с выделением ионизируемых полярных аминокислот (Asp, Glu), которые способны связывать почти в три раза больше воды, чем неионизированные полярные группы. Также гидролизаты рапсового белка обладали большей маслоудерживающей способностью, чем исходный белковый изолят. Пенообразующая способность при степени гидролиза 3,1% была в более чем в 3,5 раза выше, чем у исходного изолята, однако при увеличении степени гидролиза уменьшалась, вероятно, в связи со снижением стабильности пены из-за уменьшающегося размера полипептидов. Аналогичная ситуация наблюдалась и с эмульгирующей активностью, которая была максимальна при самой низкой степени гидролиза и убывала при ее возрастании, что опять же вероятно связано с тем, что пептиды слишком маленького размера негативно влияют на стабильность эмульсии и уменьшают способность снижать поверхностное натяжение (Vioque et al., 2000).

В другом исследовании тем же ферментом были гидролизованы изоляты глобулинов и альбуминов рапса по отдельности. Изучены функционально-технологические свойства гидролизатов со степенью гидролиза 5, 10 и 15%. Для изолятов глобулинов улучшились пенообразующая способность, стабильность пены, эмульгирующие свойства. Абсорбция жиров при гидролизе изолята глобулинов также увеличивалась, однако была меньше, чем для изолята альбуминов, не подвергшегося гидролизу. При гидролизе изолята альбуминов абсорбция жиров уменьшалась, также как и стабильность пены. При этом увеличивалась пенообразующая способность и эмульгирующая активность (Chabanon et al., 2007). Исследования демонстрируют похожие результаты и позволяют сделать вывод о том, что ограниченный гидролиз белковых изолятов рапса может применяться для получения продуктов потенциально применимых в качестве эмульгаторов, масло- и водоудерживающих агентов в различных технологиях пищевой промышленности.

Энзиматический гидролиз рапсового альбумина с использованием ферментов Alcalase 2.4L, Flavourzyme 1000L и Proluve (PAC 30L) позволил улучшить его низкую перевариваемость *in*

*vitro* (15%), одновременно сохраняя функционально-технологические свойства. Гидролизаты с высокой степенью гидролиза продемонстрировали значительное улучшение перевариваемости и эмульгирующей способности, которая изначально была низкой у исходного изолята альбумина. Оптимальные условия гидролиза с использованием Flavourzyme позволили получить частичный гидролизат, содержащий 50% неизмененного альбумина, который сочетает высокую перевариваемость и улучшенные функциональные свойства, такие как способность к образованию эмульсий. Этот подход демонстрирует эффективность протеолиза для повышения качества рапсового белка в пищевых и технологических применениях (Beaubier et al., 2023b)

Ферментация жмыха рапса с использованием магнитного поля и с использованием мутантного штамма *Bacillus subtilis* значительно улучшила перевариваемость белков и их функциональные свойства. После 96 часов ферментации скорость высвобождения азота достигла 86,3%, а содержание растворимых белков и пептидов увеличилось до 61,81 мг/мл и 69,85 мг/мл соответственно после имитации желудочно-кишечного пищеварения. Анализ микроструктуры показал снижение меж- и внутримолекулярных связей, а также уменьшение числа дисульфидных связей, что способствовало улучшению перевариваемости белков. Эти данные подтверждают эффективность магнитно-усиленной ферментации для улучшения структуры и свойств белков рапса (Betchem et al., 2024).

#### **Другие свойства гидролизатов белков рапса**

В результате гидролиза ферментным препаратом Alcalase был получен гидролизат, который впоследствии был очищен методом гель-хроматографии с получением фракции с высокой гипополипидемической активностью. С помощью масс-спектрометрии в этой фракции был идентифицирован пептид EFLELL. В результате опытов на клеточных линиях 3T3-L1 и HepG2 было установлено, что EFLELL обладает хорошей гипополипидемической биологической активностью за счет регуляции пути LDLR-PCSK9. Таким образом можно назвать актуальным изучение протеолиза белков рапса с целью получения пептидов с гипополипидемической активностью, которые способны стать биологически безопасными и легко усвояемыми заменителями препаратов для снижения уровня липидов (Yang et al., 2023).

В эксперименте *in vivo* на лабораторных крысах были оценены токсичность и метаболические эффекты гидролизата семян рапса, полученного в результате действия фермента Alcalase при температуре 50 °С в течение 60 минут. В исследовании токсичности гидролизаты не вызвали каких-либо существенных изменений параметров, указывающих на безопасность, таких как потребление пищи, рост, масса органов, биохимические показатели крови. Более того гидролизат белка рапса не влиял на функции ферментов, метаболизирующих лекарственные средства в печени и почках. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о возможности безопасного применения гидролизатов рапсового белка в кормах для животных, однако требуются дополнительные исследования, подтверждающие их безопасность (Canistro et al., 2017).

Кроме того пептиды, выделенные из рапсового белка, обладают потенциалом в улучшении состояния при сахарном диабете второго типа. Недавнее исследование показало, что определённые пептидные фракции, полученные с использованием ферментных препаратов Alcalase и Flavourzyme, а также Alcalase и трипсина (Sigma-Aldrich, США), способствуют снижению уровня глюкозы в крови и увеличению массы тела у мышей с диабетом. Эти пептиды стимулируют секрецию глюкагоноподобного пептида-1 через кальций-чувствительный рецептор, активируя путь PI3K-Akt, что приводит к улучшению липидного обмена в печени и снижению жировых отложений. Выделенная фракция, содержащая 14 пептидов с наибольшей способностью стимулировать секрецию глюкагоноподобного пептида-1, была идентифицирована с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией. Это подчеркивает потенциал применения пептидов из рапсового белка в качестве функциональных пищевых добавок для улучшения состояния при сахарном диабете второго типа (Ji et al., 2024).

Способность к связыванию металлов, обнаруженная у пептидов из рапсовых белков, кроме антиоксидантных свойств может также использоваться для создания пищевых добавок с микроэлементами в составе. Так гидролиз белков рапсового жмыха с использованием пепсина и панкреатина (Sigma-Aldrich, США), а также экстракта клеток Caco-2, позволил выделить новый цинк-хелатирующий

пептид ASH. Пептид продемонстрировал 50% активность хелатирования цинка при концентрации 114,09 мМ. Эти данные подчеркивают перспективность рапсового жмыха как источника биоактивных пептидов для разработки микроэлементных добавок (Wang et al., 2023).

Протеолиз белков рапса может быть полезен для определения безопасности пищевой продукции, которая будет их содержать, т.к. применение этих белков может быть сопряжено с риском возникновения аллергических реакций. Так было проведено исследование с протеолизом образца рапсового жмыха трипсином (Promega GmbH, Германия), в ходе которого было выделено 36 уникальных пептидов, способных стать пептидными маркерами для идентификации в составе пищевой продукции белков из рапса, что может быть полезно при проверке подлинности пищевой продукции (Kotecka-Majchrzak et al., 2021).

В таблице 2 представлены сводные данные о различных экспериментах с протеолизом белков рапса, использовавшимся ферментным препаратом и эффектом от гидролиза.

Как видно из таблицы, выбор ферментных препаратов протеолитического действия достаточно ограничен. Наиболее изучено действие на белки рапса ферментного препарата Alcalase (Novozymes, Дания). Исходя из этого перспективными можно назвать эксперименты по протеолизу рапсовых белков коммерческими ферментными препаратами, которые мало изучены в этом отношении. Такими препаратами могут быть: Brewzyme NPS (Suntaq, Китай), протеазы Sunson (Китай), ферментный препарат "Протозим" (Биопрепарат, Россия). Также не раскрыт потенциал использования протеаз растительного происхождения: папаин, бромелаин т.д. Также биологически активные пептиды возможно получить за счет микробной биоконверсии различных продуктов, полученных из рапса, что было продемонстрировано рядом исследований (Xie et al., 2015; Wang et al., 2016; Wang et al., 2022a; Wang et al., 2022b; Betchem et al., 2024). Расширение знаний о таком способе переработки белоксодержащих продуктов из рапса — перспективное направление современных исследований.

**Таблица 2**

Эффект от гидролиза белков рапса различными ферментными препаратами

**Table 2**

Effect of Hydrolysis of Rapeseed Proteins by Various Enzyme Preparations

Ферментный препарат	Производитель ферментного препарата	Эффект от гидролиза	Источник
1	2	3	4
Alcalase	Novozymes, Дания	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Получение пептидов с противоопухолевой, DPP-IV-ингибирующей, антигипертензивной активностями</li> <li>- Получение гидролизатов с повышенной антиоксидантной активностью</li> <li>- Положительное влияние на рост рыбы при включении гидролизатов в рацион</li> <li>- Улучшение перевариваемости <i>in vitro</i> рапсовых белков</li> <li>- Улучшение функционально-технологических свойств гидролизатов</li> <li>- Улучшение состояния при диабете</li> </ul>	He et al., (2019); He et al., (2013b); Wang et al., (2021); Xu et al., (2019); Pérez-Gálvez et al., (2024) Ferrero et al., (2021); Pan et al., (2011); He et al., (2013c); Xu et al., (2019); Zhang et al., (2018); Ebrahimnezhadarabi et al., (2021); Alashi et al., (2018); Vioque et al., (2000); Chabanon et al., (2007); Beaubier et al., (2023b); Yang et al., (2023); Ji et al., (2024);
Flavourzyme	Novozymes, Дания	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Улучшение перевариваемости <i>in vitro</i> рапсовых белков</li> <li>- Получение гидролизатов с повышенной антиоксидантной активностью</li> <li>- Улучшение состояния при диабете</li> </ul>	He et al., (2013c); Beaubier et al., (2023b); Ji et al., (2024);
Prolyve (PAC 30L)	Soufflet Biotechnologies, Франция	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Получение пептидов с высокой способностью к образованию хелатных соединений с металлами;</li> <li>- Улучшение перевариваемости <i>in vitro</i> рапсовых белков</li> </ul>	Durand et al., (2021); Beaubier et al., (2023a); Kaugarenia et al., (2022); Beaubier et al., (2023b);
Пепсин	Sigma-Aldrich, США	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Получение пептидов с DPP-IV-ингибирующей, активностью</li> <li>- Получение гидролизатов с повышенной антиоксидантной активностью</li> <li>- Улучшение функционально-технологических свойств гидролизатов</li> <li>- Образование хелатных соединений с цинком</li> </ul>	You et al., (2022); Bermejo-Cruz et al., (2023); He et al., (2013c); Alashi et al., (2018); Wang et al., (2023);
	Solarbio Biological Technology Company, Китай	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Получение гидролизатов с повышенной антиоксидантной активностью</li> </ul>	Yao et al., (2022a); Yao et al., (2022b);
Трипсин	Sigma-Aldrich, США	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Улучшение функционально-технологических свойств гидролизатов</li> <li>- Улучшение состояния при диабете</li> </ul>	Alashi et al., (2018); Ji et al., (2024);
	Solarbio Biological Technology Company, Китай	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Получение пептидов с DPP-IV-ингибирующей и антиоксидантной активностями</li> <li>- Пептиды с потенциалом защиты клеток печени от инсулинорезистентности</li> </ul>	Xu et al., (2019); Yao et al., (2022a); Yao et al., (2022b);

Окончание Таблицы 2

Ферментный препарат	Производитель ферментного препарата	Эффект от гидролиза	Источник
1	2	3	4
Трипсин	Promega GmbH, Германия	– Выявление уникальных пептидных маркеров для идентификации белков рапса в составе пищевой продукции	Kotecka-Majchrzak et al., (2021);
PTN 6.0S (трипсин)	Novozymes, Дания	– Получение пептидов с DPP-IV-ингибирующей, активностью	Pérez-Gálvez et al., (2024);
Химотрипсин	Sigma-Aldrich, США	– Улучшение функционально-технологических свойств гидролизатов	Alashi et al., (2018);
Панкреатин	Sigma-Aldrich, США	– Получение пептидов с DPP-IV-ингибирующей, активностью – Получение гидролизатов с повышенной антиоксидантной активностью – Образование хелатных соединений с цинком	You. et al., (2022); Bermejo-Cruz et al., (2023); He et al., (2013c); Wang et al., (2023);
Протеиназа К	Sigma-Aldrich, США	– Получение гидролизатов с повышенной антиоксидантной активностью	He et al., (2013c);
Термолизин	Sigma-Aldrich, США	– Получение гидролизатов с повышенной антиоксидантной активностью	He et al., (2013c);
Протосубтилин ГЗХ	Сиббиофарм, Россия	– Получение гидролизата, перспективного для использования в кормах для рыб	Зинченко и др., (2018);

### Стратегии выделения и изучения биологически активных пептидов из белков растительного сырья

В изучении биологически активных пептидов в гидролизатах растительных белков важным аспектом является выбор методов препаративного разделения пептидов и анализ их аминокислотных последовательностей. В обзоре были рассмотрены различные исследования, в которых биологически активные пептиды были выделены и идентифицированы различными методами. При анализе представленных в настоящей статье данных можно выделить две основные стратегии исследования биологически активных пептидов гидролизатов растительных белков.

Первая заключается в гидролизе препаратов растительных белков, фракционировании полученных гидролизатов и отбор фракций с наибольшей целевой биологической активностью. Методы фракционирования включают в себя ультрафильтрованное разделение (по молекулярной массе)

(He et al., 2013b; He et al., 2016; Xu et al., 2019; He et al., 2013c; Durand et al., 2021; Beaubier et al., 2023a; Kaugarenia et al., 2022; Yang et al., 2023), электродиализ с ультрафильтрационной мембраной (разделение по молекулярной массе и заряду) (He et al., 2016), гель-фильтрацию (по размеру частиц) (He et al., 2013a; He et al., 2013b; Xu et al., 2019; Yang et al., 2023; Wang et al., 2023), обращённо-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию (ОФ-ВЭЖХ, по межмолекулярной полярности) (Marczak et al., 2003; He et al., 2013a; He et al., 2013b; Xu et al., 2019; Wang et al., 2023), аффинную хроматографию (по связыванию с лигандом) (Beaubier et al., 2023a; Wang et al., 2023). В полученных фракциях пептидов проводят идентификацию аминокислотных последовательностей, для чего зачастую применяют различные методы, основанные на масс-спектрометрии (He et al., 2013a; He et al., 2013b; He et al., 2016; Xu et al., 2019; Yang et al., 2023; Wang et al., 2023). Далее идентифицированные пептиды могут быть химически синтезированы для дальнейшего исследования и подтверждения их биологической активности (Marczak et al., 2003; He et al., 2019; He

et al., 2013a; He et al., 2013b; He et al., 2016; Xu et al., 2019; Xu et al., 2020; Xu et al., 2017; Zhang et al., 2018; Zhao et al., 2018; Yang et al., 2023; Wang et al., 2023).

Для второй стратегии особую роль играют методы биоинформатики. Это может быть *in silico* гидролиз белковых последовательностей растительного сырья и химический синтез пептидов с потенциальной биологической активностью для дальнейшего подтверждения их свойств (Duan et al., 2023). Также возможен поиск пептидов с необходимой биологической активностью в смоделированных гидролизатах белка и дальнейшая идентификация интересующих пептидов в различных фракциях полученных *in vitro* гидролизатов (Han et al., 2019; Han et al., 2021; You et al., 2022). Применение методов биоинформатики дает более широкие возможности для скрининга биологически активных пептидов в гидролизатах растительных белков, а также требует менее существенных затрат времени и ресурсов. Однако полученные *in silico* данные требуют подтверждения *in vitro* и *in vivo*.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Систематизация современных данных по протеолизу белков рапса показала, что данное направление на сегодняшний день представляет собой не просто технологический подход к получению белковых фракций, а развивающуюся междисциплинарную область, объединяющую биохимию, молекулярную биотехнологию, нутрициологию и прикладную фармакологию. Представленные в настоящем обзоре исследования демонстрируют переход от концепции белкового сырья к идее функционального пептидного конструктора, открывающего возможности точечного моделирования биологически активных соединений с заданными свойствами.

Ряд обобщений, выполненных в предыдущих обзорных работах (Wanasundara et al., 2017; Kotecka-Majchrzak et al., 2020; Daroit et al., 2021), заложили основы для понимания аминокислотного состава и растворимости основных фракций рапсового белка, таких как круциферин и напин. Однако в этих работах акцент делался преимущественно на структурные характеристики и проблемы технологической экстракции. В отличие от них, настоящее исследование охватывает широкий спектр функциональной активности пептидов и демонстрирует,

как изменения условий протеолиза и ферментных систем могут радикально влиять на биологические свойства гидролизатов. Этот подход позволяет перейти от инвентаризации к функциональному профилированию и уже на уровне *in silico* прогнозировать терапевтический потенциал отдельных пептидов.

Одним из ключевых выводов обзора является высокая вариативность биологических эффектов гидролизатов в зависимости от ферментного препарата. Например, пептиды, полученные с использованием Alcalase, демонстрировали широкий спектр активности — от антигипертензивной и антиоксидантной до противоопухолевой и DPP-IV-ингибирующей (He et al., 2013b; Xu et al., 2019; Ji et al., 2024). Эти данные подтверждают ранее высказанные предположения о высокой селективности протеолитических процессов (Pan et al., 2011), но уточняют их за счёт привлечения более современных методов биоинформатики (BIOPEP, ExPASy) и спектрометрии. Примечательно, что ряд пептидов (например, RAP и LPK) не только демонстрируют стабильную *in vitro* активность, но и сохраняют её *in vivo*, что сближает исследования в данной области с доклиническими разработками (Zhang et al., 2018; Yao et al., 2022a).

На фоне представленных данных становится очевидной ограниченность более ранних обзоров, где часто отсутствовала взаимосвязь между типом пептида, методом его получения и конкретной прикладной задачей. Настоящий анализ предлагает типологию, в которой гидролизаты классифицируются не только по активности, но и по потенциальной области применения: кормовые технологии (Ebrahimnezhadarabi et al., 2021), функциональное питание (Ferrero et al., 2021), нутрицевтика и лекарственные формы (Wang et al., 2023). Подобный подход соответствует общим трендам биотехнологической специализации белков растительного происхождения, выявленным в работах Arrutia et al., (2020) и Grossi et al., (2019).

Одной из ключевых точек роста остаётся устойчивость пептидов к пищеварению и их системная биодоступность. Многие работы ограничиваются исследованиями *in vitro*, а подтверждение *in vivo* даётся для отдельных фрагментов, таких как GHS или RAP-8. Это подтверждает высказанные ранее опасения, что биологическая активность *in vitro*

не всегда коррелирует с клинически значимыми эффектами (Han et al., 2021; Xu et al., 2020). Также слабо проработаны аспекты токсикологии, аллергенности и долгосрочного метаболического действия, хотя уже сейчас доступны предварительные обнадеживающие данные по безопасности (Canistro et al., 2017).

Кроме того, сравнительный анализ показывает недостаточную проработку вопроса о стабильности пептидов в условиях реальных пищевых матриц. Некоторые исследования, такие как Beaubier et al., (2023a), демонстрируют эффективность пептидов в эмульсиях и липидных системах, однако такие работы единичны. Не менее важным представляется и вопрос масштабирования: несмотря на то, что ферментативные подходы показали высокую селективность, большая часть экспериментов выполнена в лабораторных условиях, с высокой стоимостью реагентов и без оценки выхода целевых фракций при промышленной переработке жмыха и шротов.

Важно подчеркнуть, что в отличие от предыдущих обзоров, данная работа интегрирует как фундаментальные характеристики белков (строение, аминокислотный состав), так и спектр их биологической активности после гидролиза с анализом прикладных перспектив. Тем самым она предлагает более целостное представление о возможностях протеолиза белков рапса, позволяя не только оценить научную насыщенность тематики, но и наметить направления для технологического переноса. К ним относятся: стандартизация протоколов ограниченного гидролиза, разработка биодоступных форм пептидов, выявление маркеров функциональной активности, создание комбинированных ферментных систем и формулирование требований к качеству исходного сырья.

В совокупности это позволяет утверждать, что гидролизаты рапсового белка, при условии дальнейшей валидации их свойств, могут занять устойчивое положение среди компонентов функционального питания, кормовых добавок и нутрицевтических препаратов. Однако для перехода от лабораторных моделей к серийному производству потребуются консолидация усилий исследовательского и индустриального секторов, а также согласование нормативных подходов к оценке биологической эффективности, безопасности и воспроизводимости производственных процессов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный обзор свидетельствует о значительном прогрессе в изучении гидролизатов белков рапса и расширении спектра их потенциальных применений. Рапсовый белок, благодаря высокому содержанию запасующих фракций (круциферина и напина), является перспективным сырьем для получения пептидов с выраженной биологической активностью — антигипертензивной, антиоксидантной, DPP-IV-ингибирующей, противоопухолевой и другими. Установлено, что спектр активности гидролизатов определяется не только структурой исходного белка, но и типом используемого ферментного препарата, степенью гидролиза, методами очистки и стабилизации.

В отличие от более ранних обобщений, сосредоточенных преимущественно на характеристике состава и методов выделения белков, настоящее исследование демонстрирует высокий потенциал рапсовых пептидов как функциональных ингредиентов в различных отраслях — от пищевой промышленности и аквакультуры до биомедицины. Приведённые данные подтверждают, что направленный протеолиз может использоваться как инструмент тонкой настройки свойств белковых продуктов под конкретные технологические или терапевтические задачи.

В то же время выявлены существенные ограничения текущего состояния исследований: дефицит *in vivo* подтверждений биологической активности, ограниченная изученность биодоступности и стабильности пептидов в реальных пищевых матрицах, а также недостаточное внимание к вопросам токсикологии и нормативной стандартизации. Проблемы масштабируемости и экономической эффективности ферментативных процессов также остаются нерешёнными.

Таким образом, дальнейшее развитие этого научного направления должно быть направлено на междисциплинарную интеграцию: объединение биоинформатических прогнозов, экспериментальных подтверждений и прикладной апробации, а также разработку устойчивых технологических решений, ориентированных на промышленную реализацию. При соблюдении этих условий гидролизаты белков рапса могут стать важным компонентом инновационных функциональных продуктов, отвечающих

требованиям устойчивого производства и повышенного потребительского спроса на продукты с заданной биологической активностью.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Ирина Михайловна Чернуха:** разработка концепции; административное руководство исследовательским проектом; научное руководство; получение финансирования.

**Сергей Леонидович Тихонов:** разработка методологии; предоставление ресурсов; написание рукописи — рецензирование и редактирование.

**Иван Александрович Дегтярев:** проведение исследования; курирование данных; формальный анализ.

**Иван Андреевич Фоменко:** разработка методологии; формальный анализ; написание рукописи — рецензирование и редактирование.

**Илья Александрович Детинкин:** проведение исследования; написание черновика рукописи.

## ЛИТЕРАТУРА

- Гончаров, С. В., & Горлова, Л. А. (2018). Масличные культуры: новые вызовы и тенденции их развития. *Масличные культуры*, 2(174), 96–100. <https://doi.org/10.220/212-608X-201-2-1-100>
- Горлова, Л. А., Бочкарева, Э. Б., Сердюк, В. В., & Ефименко, С. Г. (2017). Направления и результаты селекции рапса и сурепицы во ВНИИМК. *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*, (2), 20–33.
- Зинченко, Д. В., Муранова, Т. А., Меланьина, Л. А., & Мирошников, А. И. (2019). Гидролиз белков сои и рапса экстрактом из пилорических придатков трески. *Прикладная биохимия и микробиология*, 55(2), 172–180. <https://doi.org/10.1134/S0555109919020181>
- Зинченко, Д. В., Муранова, Т. А., Меланьина, Л. А., Белова, Н. А., & Мирошников, А. И. (2018). Гидролиз белков сои и рапса ферментным препаратом протосубтилин. *Прикладная биохимия и микробиология*, 54(3), 277–285. <https://doi.org/10.7868/S0555109918030066>
- Зыбалов, В. С. (2019). Яровой рапс-культура больших возможностей на Южном Урале. *АПК России*, 26(5), 755.
- Кудинова, М. Г., Шевчук, Н. А., Корнева, Г. В., Захарова, Е. В., & Горбатко, Е. С. (2023). Экономическая эффективность производства рапса, как высокомаржинальной культуры региона, и роль SWOT-анализа в его научно-технологическом форсайте. *Инновации и инвестиции*, (2), 202–209.
- Поморова, Ю. Ю., Пятовский, В. В., Бескорвайный, Д. В., & Болховитина, Ю. С. (2019). Характеристика, методы выделения белковой фракции семян основных масличных культур (обзор). *Масличные культуры*, 4(180), 161–169. <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-4-180-161-169>
- Alashi, A. M., Blanchard, C. L., Mailer, R. J., Agboola, S. O., Mawson, J. A., & Aluko, R. E. (2018). Influence of enzymatic hydrolysis, pH and storage temperature on the emulsifying

## AUTHORS CONTRIBUTION

**Irina M. Chernukha:** conceptualization; project administration; supervision; funding acquisition; writing — review & editing.

**Sergey L. Tikhonov:** methodology; resources; writing — review & editing.

**Ivan A. Degtyarev:** investigation; data curation; formal analysis.

**Ivan A. Fomenko:** methodology; formal analysis; writing — review & editing.

**Ilya A. Detinkin:** investigation; writing — original draft preparation.

**Sergey V. Frolov:** data visualization; writing — original draft preparation.

- properties of canola protein isolate and hydrolysates. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(10), 2316–2324. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13823>
- Arrutia, F., Binner, E., Williams, P., & Waldron, K. W. (2020). Oilseeds beyond oil: Press cakes and meals supplying global protein requirements. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 88–102. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.044>
- Beaubier, S., Durand, E., Lenclume, C., Fine, F., Aymes, A., Framboisier, X., Kapel, R. & Villeneuve, P. (2023). Chelating peptides from rapeseed meal protein hydrolysates: Identification and evaluation of their capacity to inhibit lipid oxidation. *Food Chemistry*, 422, 136187. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136187>
- Beaubier, S., Pineda-Vadillo, C., Mesieres, O., Framboisier, X., Galet, O., & Kapel, R. (2023). Improving the in vitro digestibility of rapeseed albumins resistant to gastrointestinal proteolysis while preserving the functional properties using enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, 407, 135132. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135132>
- Bermejo-Cruz, M., Osorio-Ruiz, A., Rodríguez-Canto, W., Betancur-Ancona, D., Martínez-Ayala, A., & Chel-Guerrero, L. (2023). Antioxidant potential of protein hydrolysates from canola (*Brassica napus L.*) seeds. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102687. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102687>
- Bermejo-Cruz, M., Osorio-Ruiz, A., Rodríguez-Canto, W., Betancur-Ancona, D., Martínez-Ayala, A., & Chel-Guerrero, L. (2023). Antioxidant potential of protein hydrolysates from canola (*Brassica napus L.*) seeds. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102687. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102687>
- Betchem, G., Dabbour, M., Tuly, J. A., Lu, F., Liu, D., Monto, A. R., Dusabe, K. D. & Ma, H. (2024). Effect of magnetic field-assisted fermentation on the in vitro protein digestibility and molecular structure of rapeseed meal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(7), 3883–3893. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13269>
- Canistro, D., Vivarelli, F., Ugolini, L., Pinna, C., Grandi, M., Antonazzo, I. C., Cirillo S., Sapone A., Cint S.i, Lazzeri L., Conte E. & Biagi, G. (2017). Digestibility, toxicity and metabolic effects of rapeseed and sunflower protein hydrolysates in mice. *Italian Journal of Animal Science*, 16(3), 462–473. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1298410>
- Chabanon, G., Chevalot, I., Framboisier, X., Chenu, S., & Marc, I. (2007). Hydrolysis of rapeseed protein isolates: Kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates. *Process Biochemistry*, 42(10), 1419–1428. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.07.009>
- Chmielewska, A., Kozłowska, M., Rachwał, D., Wnukowski, P., Amarowicz, R., Nebesny, E., & Rosicka-Kaczmarek, J. (2021). Canola/rapeseed protein–nutritional value, functionality and food application: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(22), 3836–3856. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1809342>
- Daroit, D. J., & Brandelli, A. (2021). In vivo bioactivities of food protein-derived peptides — A current review. *Current Opinion in Food Science*, 39, 120–129. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.01.002>
- Daszkiewicz, T. (2022). Food production in the context of global developmental challenges. *Agriculture*, 12(6), 832. <https://doi.org/10.3390/agriculture12060832>
- Duan, X., Dong, Y., Zhang, M., Li, Z., Bu, G., & Chen, F. (2023). Identification and molecular interactions of novel ACE inhibitory peptides from rapeseed protein. *Food Chemistry*, 422, 136085. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136085>
- Duan, X., Zhang, M., & Chen, F. (2021). Prediction and analysis of antimicrobial peptides from rapeseed protein using *in silico* approach. *Journal of Food Biochemistry*, 45(4), e13598. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13598>
- Durand, E., Beaubier, S., Fine, F., Villeneuve, P., & Kapel, R. (2021). High metal chelating properties from rapeseed meal proteins to counteract lipid oxidation in foods: Controlled proteolysis and characterization. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 123(6), 2000380. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202000380>
- Ebrahimnezhadarabi, M. R., Changizi, R., Hoseinifard, S. M., Vatandoust, S., & Ghobadi, S. (2021). Research Article Effects of canola protein hydrolysate (CPH) on growth performance, blood biochemistry, immunity, and gastrointestinal microbiota of

- beluga (*Huso huso*) juveniles. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 20(4), 1165–1178. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2021.124567>
- Etemadian, Y., Ghaemi, V., Shaviklo, A. R., Pourashouri, P., Mahoonak, A. R. S., & Rafipour, F. (2021). Development of animal/plant-based protein hydrolysate and its application in food, feed and nutraceutical industries: State of the art. *Journal of Cleaner Production*, 278, 123219. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123219>
- Ferrero, R. L., Soto-Maldonado, C., Weinstein-Oppenheimer, C., Cabrera-Muñoz, Z., & Zúñiga-Hansen, M. E. (2021). Antiproliferative rapeseed defatted meal protein and their hydrolysates on MCF-7 breast cancer cells and human fibroblasts. *Foods*, 10(2), 309. <https://doi.org/10.3390/foods10020309>
- Fetzer, A., Herfellner, T., Stäbler, A., Menner, M., & Eisner, P. (2018). Influence of process conditions during aqueous protein extraction upon yield from pre-pressed and cold-pressed rapeseed press cake. *Industrial Crops and Products*, 112, 236–246. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.011>
- Fetzer, A., Müller, K., Schmid, M., & Eisner, P. (2020). Rapeseed proteins for technical applications: Processing, isolation, modification and functional properties – A review. *Industrial Crops and Products*, 158, 112986. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112986>
- Gerzhova, A., Mondor, M., Benali, M., & Aider, M. (2016). Study of total dry matter and protein extraction from canola meal as affected by the pH, salt addition and use of zeta-potential/turbidimetry analysis to optimize the extraction conditions. *Food Chemistry*, 201, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.074>
- Grossi, G., Goglio, P., Vitali, A., & Williams, A. G. (2019). Livestock and climate change: Impact of livestock on climate and mitigation strategies. *Animal Frontiers*, 9(1), 69–76. <https://doi.org/10.1093/af/vfy034>
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Rinne, M., Lamminen, M., Mapato, C., Ampapon, T., Wanapat, M., & Vanhatalo, A. (2018). Alternative and novel feeds for ruminants: Nutritive value, product quality and environmental aspects. *Animal*, 12(s2), s295-s309. <https://doi.org/10.1017/S1751731118002252>
- Han, R., Álvarez, A. J. H., Maycock, J., Murray, B. S., & Boesch, C. (2021). Comparison of alcalase- and pepsin-treated oilseed protein hydrolysates - Experimental validation of predicted antioxidant, antihypertensive and antidiabetic properties. *Current Research in Food Science*, 4, 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.001>
- Han, R., Maycock, J., Murray, B. S., & Boesch, C. (2019). Identification of angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory peptides derived from oilseed proteins using two integrated bioinformatic approaches. *Food Research International*, 115, 283–291. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.015>
- He, R., Girgih, A. T., Malomo, S. A., Ju, X., & Aluko, R. E. (2013). Antioxidant activities of enzymatic rapeseed protein hydrolysates and the membrane ultrafiltration fractions. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.10.008>
- He, R., Girgih, A. T., Rozoy, E., Bazinet, L., Ju, X. R., & Aluko, R. E. (2016). Selective separation and concentration of antihypertensive peptides from rapeseed protein hydrolysate by electrodialysis with ultrafiltration membranes. *Food Chemistry*, 197, 1008–1014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.081>
- He, R., Malomo, S. A., Alashi, A., Girgih, A. T., Ju, X., & Aluko, R. E. (2013). Purification and hypotensive activity of rapeseed protein-derived renin and angiotensin converting enzyme inhibitory peptides. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 781–789. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.01.024>
- He, R., Malomo, S. A., Girgih, A. T., Ju, X., & Aluko, R. E. (2013). Glycyl-histidyl-serine (GHS), a novel rapeseed protein-derived peptide has blood pressure-lowering effect in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(35), 8396–8402. <https://doi.org/10.1021/jf400865m>
- He, R., Yang, Y. J., Wang, Z., Xing, C. R., Yuan, J., Wang, L. F., Udenigwe, C. & Ju, X. R. (2019). Rapeseed protein-derived peptides, LY, RALP, and GHS, modulates key enzymes and

- intermediate products of renin–angiotensin system pathway in spontaneously hypertensive rat. *NPJ Science of Food*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.1038/s41538-018-0033-5>
- Ibáñez, M. A., De Blas, C., Cámara, L., & Mateos, G. G. (2020). Chemical composition, protein quality and nutritive value of commercial soybean meals produced from beans from different countries: A meta-analytical study. *Animal Feed Science and Technology*, 267, 114531. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114531>
- Ji, T., Xu, G., Wu, Y., Wang, Y., Xiao, C., Zhang, B., Xu B. & Xu, F. (2024). Amelioration of type 2 diabetes mellitus using rapeseed (Brassica napus)-derived peptides through stimulating calcium-sensing receptor: Effects on glucagon-like peptide-1 secretion and hepatic lipid metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(43), 23804–23818. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c03987>
- Kaiser, F., Harbach, H., & Schulz, C. (2022). Rapeseed proteins as fishmeal alternatives: A review. *Reviews in Aquaculture*, 14(4), 1887–1911. <https://doi.org/10.1111/raq.12678>
- Kaiser, F., Harloff, H. J., Tressel, R. P., Kock, T., & Schulz, C. (2021). Effects of highly purified rapeseed protein isolate as fishmeal alternative on nutrient digestibility and growth performance in diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 27(5), 1352–1362. <https://doi.org/10.1111/anu.13273>
- Kaugarenia, N., Beaubier, S., Durand, E., Aymes, A., Villeneuve, P., Lesage, F., & Kapel, R. (2022). Optimization of selective hydrolysis of cruciferins for production of potent mineral chelating peptides and napins purification to valorize total rapeseed meal proteins. *Foods*, 11(17), 2618. <https://doi.org/10.3390/foods11172618>
- Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., & Montowska, M. (2020). Oilseed proteins – Properties and application as a food ingredient. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 160–170. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.004>
- Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., & Montowska, M. (2021). Proteomic analysis of oilseed cake: a comparative study of species-specific proteins and peptides extracted from ten seed species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(1), 297–306. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10643>
- Marczak, E. D., Usui, H., Fujita, H., Yang, Y., Yokoo, M., Lipkowski, A. W., & Yoshikawa, M. (2003). New antihypertensive peptides isolated from rapeseed. *Peptides*, 24(6), 791–798. [https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(03\)00174-8](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(03)00174-8)
- Muranova, T. A., Zinchenko, D. V., Kononova, S. V., Belova, N. A., & Miroshnikov, A. I. (2017). Plant protein hydrolysates as fish fry feed in aquaculture. Hydrolysis of rapeseed proteins by an enzyme complex from king crab hepatopancreas. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 53, 680–687. <https://doi.org/10.1134/S0003683817060102>
- Östbring, K., Malmqvist, E., Nilsson, K., Rosenlind, I., & Rayner, M. (2019). The effects of oil extraction methods on recovery yield and emulsifying properties of proteins from rapeseed meal and press cake. *Foods*, 9(1), 19. <https://doi.org/10.3390/foods9010019>
- Pan, M., Jiang, T. S., & Pan, J. L. (2011). Antioxidant activities of rapeseed protein hydrolysates. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1144–1152. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0206-y>
- Perera, S. P., McIntosh, T. C., & Wanasundara, J. P. (2016). Structural properties of cruciferin and napin of Brassica napus (canola) show distinct responses to changes in pH and temperature. *Plants*, 5(3), 36. <https://doi.org/10.3390/plants5030036>
- Pérez-Gálvez, R., Berraquero-García, C., Ospina-Quiroga, J. L., Espejo-Carpio, F. J., Almécija, M. C., Guadix, A., García-Moreno, J. P. & Guadix, E. M. (2024). Influence of in vitro digestion on Dipeptidyl Peptidase-IV (DPP-IV) inhibitory activity of plant-protein hydrolysates obtained from agro-industrial by-products. *Foods*, 13(17), 2691. <https://doi.org/10.3390/foods13172691>
- Raboanatahiry, N., Li, H., Yu, L., & Li, M. (2021). Rapeseed (Brassica napus): Processing, utilization, and genetic improvement. *Agronomy*, 11(9), 1776. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy11091776>
- Sá, A. G. A., Moreno, Y. M. F., & Carciofi, B. A. M. (2020). Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 170–184. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.011>

- Singh, R., Langyan, S., Sangwan, S., Rohtagi, B., Khandelwal, A., & Shrivastava, M. (2022). Protein for human consumption from oilseed cakes: A review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 856401. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.856401>
- Tang, H., Feng, G., Zhao, J., Ouyang, Q., Liu, X., Jiang, X., Den, M., Xie, Z., Chen, F., Zhou, X., Li R. & Yin, Y. (2024). Determination and prediction of amino acid digestibility in rapeseed cake for growing-finishing pigs. *Animals*, 14(19), 2764. <https://doi.org/10.3390/ani14192764>
- Turner, J. M., & Kodali, R. (2020). Should angiotensin-converting enzyme inhibitors ever be used for the management of hypertension?. *Current Cardiology Reports*, 22, 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11886-020-01352-8>
- Van Dijk, M., Morley, T., Rau, M. L., & Saghai, Y. (2021). A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, 2(7), 494–501. <https://doi.org/10.1038/s43016-021-00322-9>
- Vioque, J., Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Pedroche, J., & Millán, F. (2000). Partially hydrolyzed rapeseed protein isolates with improved functional properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77, 447–450. <https://doi.org/10.1007/s11746-000-0072-y>
- Volk, C., Brandsch, C., Schlegelmilch, U., Wensch-Dorendorf, M., Hirche, F., Simm, A., Gargum, O., Wiacek, C., Braun, P. G., Kopp, J. F., Schwerdtle, T., Treede, H., & Stangl, G. I. (2020). Postprandial metabolic response to rapeseed protein in healthy subjects. *Nutrients*, 12(8), 2270. <https://doi.org/10.3390/nu12082270>
- Wanasundara, J. P. (2011). Proteins of *Brassicaceae* oilseeds and their potential as a plant protein source. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(7), 635–677. <https://doi.org/10.1080/10408391003749942>
- Wanasundara, J. P., Kapel, R., & Albe-Slabi, S. (2024). Proteins from canola/rapeseed – current status. In *Sustainable protein sources* (pp. 285–309). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91652-3.00004-6>
- Wang, H., Huang, J., Yang, M., Zhou, Y., Yin, J., Yan, Y., & Xie, N. (2023). A novel zinc-chelating peptide identified from rapeseed (*Brassica napus*) protein hydrolysate: Insights into its zinc-binding sites by density functional theory. *International Journal of Food Science and Technology*, 58(10), 5203–5213. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16622>
- Wang, L., Zhang, J., Yuan, Q., Xie, H., Shi, J., & Ju, X. (2016). Separation and purification of an anti-tumor peptide from rapeseed (*Brassica campestris* L.) and the effect on cell apoptosis. *Food & function*, 7(5), 2239–2248. <https://doi.org/10.1039/C6FO00042H>
- Wang, Q., Dong, X., Castañeda-Reyes, E. D., Wu, Y., Zhang, S., Wu, Z., Wang, Z., Dai L., Xu, B. & Xu, F. (2024). Chitosan and sodium alginate nanocarrier system: Controlling the release of rapeseed-derived peptides and improving their therapeutic efficiency of anti-diabetes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 265, 130713. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130713>
- Wang, Y., Cao, K., Li, H., Sun, H., & Liu, X. (2022). Improvement of active peptide yield, antioxidant activity and anti-aging capacity of rapeseed meal fermented with YY-112 pure fermentation and co-fermentation. *Food Bioscience*, 49, 101938. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101938>
- Wang, Y., Li, Y., Ruan, S., Lu, F., Tian, W., & Ma, H. (2021). Antihypertensive effect of rapeseed peptides and their potential in improving the effectiveness of captopril. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(7), 3049–3055. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10939>
- Wang, Y., Sun, H., & Liu, X. (2022). A novel fermented rapeseed meal, inoculated with selected protease-assisting screened *B. subtilis* YY-4 and *L. plantarum* 6026, showed high availability and strong antioxidant and immunomodulation potential capacity. *Foods*, 11(14), 2118. <https://doi.org/10.3390/foods11142118>
- Wnukowski, P., Veerman, C., & Smolders, G. J. F. (2015). *U.S. Patent Application No. 14/234,741*.
- Woźniak, E., Waszkowska, E., Zimny, T., Sowa, S., & Twardowski, T. (2019). The rapeseed potential in Poland and Germany in the context of production, legislation, and intellectual property rights. *Frontiers in plant science*, 10, 1423. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01423>
- Xie, H., Wang, Y., Zhang, J., Chen, J., Wu, D., & Wang, L. (2015). Study of the fermentation conditions and the antiproliferative activity of rapeseed peptides by bacterial and enzymatic cooperation. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(3), 619–625. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12682>

- Xu, F., Gonzalez, E., Chen, H., Rebecca, K., Pan, M., He, R., Yao, Y., Wang, L., & Ju, X. (2020). Assessment of the DPP-IV inhibitory activity of a novel octapeptide derived from rapeseed using Caco-2 cell monolayers and molecular docking analysis. *Journal of Food Biochemistry*, 44(10). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13406>
- Xu, F., Wang, L., Ju, X., Zhang, J., Yin, S., Shi, J., He, R. & Yuan, Q. (2017). Transepithelial transport of YWDHNNPQIR and its metabolic fate with cytoprotection against oxidative stress in human intestinal Caco-2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(10), 2056–2065. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04731>
- Xu, F., Yao, Y., Xu, X., Wang, M., Pan, M., Ji, S., Wu, J., Jiang, D., Ju X. & Wang, L. (2019). Identification and quantification of DPP-IV-inhibitory peptides from hydrolyzed-rapeseed-protein-derived napin with analysis of the interactions between key residues and protein domains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(13), 3679–3690. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01069>
- Yang, F., Huang, J., He, H., Ju, X., Ji, Y., Deng, F., Wang, Z. & He, R. (2023). Study on the hypolipidemic activity of rapeseed protein-derived peptides. *Food Chemistry*, 423, 136315. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136315>
- Yao, M., Xu, F., Yao, Y., Wang, H., Ju, X. & Wang, L. (2022). Assessment of novel oligopeptides from rapeseed napin (*Brassica napus*) in protecting HepG2 cells from insulin resistance and oxidative stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(39), 12418–12429. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c03718>
- Yao, M., Yao, Y., Qin, B., Pan, M., Ju, X., Xu, F. & Wang, L. (2022). Screening and identification of high bioavailable oligopeptides from rapeseed napin (*Brassica napus*) protein-derived hydrolysates via Caco-2/HepG2 co-culture model. *Food Research International*, 155, 111101. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111101>
- You, H., Zhang, Y., Wu, T., Li, J., Wang, L., Yu, Z., Liu, J, Liu, X. & Ding, L. (2022). Identification of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides from rapeseed proteins. *Lwt*, 160, 113255. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113255>
- Zhang, M., Yan, Z., Bu, L., An, C., Wang, D., Liu, X., Zhang, J., Yang, W., Deng, B., Xie, J. & Zhang, B. (2018). Rapeseed protein-derived antioxidant peptide RAP alleviates renal fibrosis through MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathways in diabetic nephropathy. *Drug Design, Development and Therapy*, 1255–1268. <https://doi.org/10.2147/dddt.s162288>
- Zhang, Z., He, S., Liu, H., Sun, X., Ye, Y., Cao, X., Wu, Z. & Sun, H. (2020). Effect of pH regulation on the components and functional properties of proteins isolated from cold-pressed rapeseed meal through alkaline extraction and acid precipitation. *Food Chemistry*, 327, 126998. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126998>
- Zhao, Q., Xu, H., Hong, S., Song, N., Xie, J., Yan, Z., Wang, P., Yang, P. & Jiang, X. (2018). Rapeseed protein-derived antioxidant peptide RAP ameliorates nonalcoholic steatohepatitis and related metabolic disorders in mice. *Molecular Pharmaceutics*, 16(1), 371–381. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b01030>

## REFERENCES

- Goncharov S. V., & Gorlova L. A. (2018). Oil crops: New challenges and trends in their development. *Oil Crops*, 2(174), 96–100. (In Russ.). <https://doi.org/10.220/212-608X-201-2-1-100>
- Gorlova L.A., Bochkareva E.B., Serdyuk V.V., Efimenko S.G. (2017). Trends and results of rapeseed and turnip rape breeding at VNIIMK. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*, (2), 20–33. (In Russ.)
- Zinchenko D. V., Muranova T. A., Melan'ina L. A., Miroshnikov A. I. (2019). Hydrolysis of soybean and rapeseed proteins using cod pyloric caeca extract. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 55(2), 172–180. (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0555109919020181>
- Zinchenko D. V., Muranova T. A., Melan'ina L. A., Belova N. A., Miroshnikov A. I. (2018). Hydrolysis of soybean and rapeseed proteins by the enzyme preparation protosubtilin. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 54(3), 277–285. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0555109918030066>

- Zybalov V. S. (2019). Spring rapeseed as a crop of great potential in the Southern Urals. *APK Rossii (Agro-industrial Complex of Russia)*, 26(5), 755. (In Russ.)
- Kudinova M. G., Shevchuk N. A., Korneva G. V., Zakharova E. V., & Gorbatko E. S. (2023). Economic efficiency of rapeseed production as a high-margin crop in the region and the role of SWOT analysis in its science–technology foresight. *Innovatsii i Investitsii (Innovations and Investments)*, (2), 202–209. (In Russ.).
- Pomorova Yu. Yu., Pyatovsky V. V., Beskorovainy D. V., & Bolhovitina Yu. S. (2019). Characteristics and methods for isolating the protein fraction from seeds of major oilseed crops (review). *Oil Crops*, 4(180), 161–169. (In Russ.). <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-4-180-161-169>
- Alashi, A. M., Blanchard, C. L., Mailer, R. J., Agboola, S. O., Mawson, J. A., & Aluko, R. E. (2018). Influence of enzymatic hydrolysis, pH and storage temperature on the emulsifying properties of canola protein isolate and hydrolysates. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(10), 2316–2324. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13823>
- Arrutia, F., Binner, E., Williams, P., & Waldron, K. W. (2020). Oilseeds beyond oil: Press cakes and meals supplying global protein requirements. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 88–102. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.044>
- Beaubier, S., Durand, E., Lenclume, C., Fine, F., Aymes, A., Framboisier, X., Kapel, R. & Villeneuve, P. (2023). Chelating peptides from rapeseed meal protein hydrolysates: Identification and evaluation of their capacity to inhibit lipid oxidation. *Food Chemistry*, 422, 136187. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136187>
- Beaubier, S., Pineda-Vadillo, C., Mesieres, O., Framboisier, X., Galet, O., & Kapel, R. (2023). Improving the in vitro digestibility of rapeseed albumins resistant to gastrointestinal proteolysis while preserving the functional properties using enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, 407, 135132. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135132>
- Bermejo-Cruz, M., Osorio-Ruiz, A., Rodríguez-Canto, W., Betancur-Ancona, D., Martínez-Ayala, A., & Chel-Guerrero, L. (2023). Antioxidant potential of protein hydrolysates from canola (*Brassica napus* L.) seeds. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102687. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102687>
- Bermejo-Cruz, M., Osorio-Ruiz, A., Rodríguez-Canto, W., Betancur-Ancona, D., Martínez-Ayala, A., & Chel-Guerrero, L. (2023). Antioxidant potential of protein hydrolysates from canola (*Brassica napus* L.) seeds. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102687. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102687>
- Betchem, G., Dabbour, M., Tuly, J. A., Lu, F., Liu, D., Monto, A. R., Dusabe, K. D. & Ma, H. (2024). Effect of magnetic field-assisted fermentation on the in vitro protein digestibility and molecular structure of rapeseed meal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(7), 3883–3893. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13269>
- Canistro, D., Vivarelli, F., Ugolini, L., Pinna, C., Grandi, M., Antonazzo, I. C., Cirillo S., Sapone A., Cint S.i, Lazzeri L., Conte E. & Biagi, G. (2017). Digestibility, toxicity and metabolic effects of rapeseed and sunflower protein hydrolysates in mice. *Italian Journal of Animal Science*, 16(3), 462–473. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1298410>
- Chabanon, G., Chevalot, I., Framboisier, X., Chenu, S., & Marc, I. (2007). Hydrolysis of rapeseed protein isolates: Kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates. *Process Biochemistry*, 42(10), 1419–1428. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.07.009>
- Chmielewska, A., Kozłowska, M., Rachwał, D., Wnukowski, P., Amarowicz, R., Nebesny, E., & Rosicka-Kaczmarek, J. (2021). Canola/rapeseed protein–nutritional value, functionality and food application: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(22), 3836–3856. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1809342>
- Daroit, D. J., & Brandelli, A. (2021). In vivo bioactivities of food protein-derived peptides — A current review. *Current Opinion in Food Science*, 39, 120–129. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.01.002>
- Daszkiewicz, T. (2022). Food production in the context of global developmental challenges. *Agriculture*, 12(6), 832. <https://doi.org/10.3390/agriculture12060832>

- Duan, X., Dong, Y., Zhang, M., Li, Z., Bu, G., & Chen, F. (2023). Identification and molecular interactions of novel ACE inhibitory peptides from rapeseed protein. *Food Chemistry*, *422*, 136085. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136085>
- Duan, X., Zhang, M., & Chen, F. (2021). Prediction and analysis of antimicrobial peptides from rapeseed protein using *in silico* approach. *Journal of Food Biochemistry*, *45*(4), e13598. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13598>
- Durand, E., Beaubier, S., Fine, F., Villeneuve, P., & Kapel, R. (2021). High metal chelating properties from rapeseed meal proteins to counteract lipid oxidation in foods: controlled proteolysis and characterization. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *123*(6), 2000380. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202000380>
- Ebrahimnezhadarabi, M. R., Changizi, R., Hoseinifard, S. M., Vatandoust, S., & Ghobadi, S. (2021). Research Article Effects of canola protein hydrolysate (CPH) on growth performance, blood biochemistry, immunity, and gastrointestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, *20*(4), 1165–1178. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2021.124567>
- Etemadian, Y., Ghaemi, V., Shaviklo, A. R., Pourashouri, P., Mahoonak, A. R. S., & Rafipour, F. (2021). Development of animal/plant-based protein hydrolysate and its application in food, feed and nutraceutical industries: State of the art. *Journal of Cleaner Production*, *278*, 123219. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123219>
- Ferrero, R. L., Soto-Maldonado, C., Weinstein-Opppenheimer, C., Cabrera-Muñoz, Z., & Zúñiga-Hansen, M. E. (2021). Antiproliferative rapeseed defatted meal protein and their hydrolysates on MCF-7 breast cancer cells and human fibroblasts. *Foods*, *10*(2), 309. <https://doi.org/10.3390/foods10020309>
- Fetzer, A., Herfellner, T., Stäbler, A., Menner, M., & Eisner, P. (2018). Influence of process conditions during aqueous protein extraction upon yield from pre-pressed and cold-pressed rapeseed press cake. *Industrial Crops and Products*, *112*, 236–246. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.011>
- Fetzer, A., Müller, K., Schmid, M., & Eisner, P. (2020). Rapeseed proteins for technical applications: Processing, isolation, modification and functional properties — A review. *Industrial Crops and Products*, *158*, 112986. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112986>
- Gerzhova, A., Mondor, M., Benali, M., & Aider, M. (2016). Study of total dry matter and protein extraction from canola meal as affected by the pH, salt addition and use of zeta-potential/turbidimetry analysis to optimize the extraction conditions. *Food Chemistry*, *201*, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.074>
- Grossi, G., Goglio, P., Vitali, A., & Williams, A. G. (2019). Livestock and climate change: Impact of livestock on climate and mitigation strategies. *Animal Frontiers*, *9*(1), 69–76. <https://doi.org/10.1093/af/vfy034>
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Rinne, M., Lamminen, M., Mapato, C., Ampapon, T., Wanapat, M., & Vanhatalo, A. (2018). Alternative and novel feeds for ruminants: Nutritive value, product quality and environmental aspects. *Animal*, *12*(s2), s295-s309. <https://doi.org/10.1017/S1751731118002252>
- Han, R., Álvarez, A. J. H., Maycock, J., Murray, B. S., & Boesch, C. (2021). Comparison of alcalase- and pepsin-treated oilseed protein hydrolysates — Experimental validation of predicted antioxidant, antihypertensive and antidiabetic properties. *Current Research in Food Science*, *4*, 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2021.03.001>
- Han, R., Maycock, J., Murray, B. S., & Boesch, C. (2019). Identification of angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory peptides derived from oilseed proteins using two integrated bioinformatic approaches. *Food Research International*, *115*, 283–291. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.015>
- He, R., Girgih, A. T., Malomo, S. A., Ju, X., & Aluko, R. E. (2013). Antioxidant activities of enzymatic rapeseed protein hydrolysates and the membrane ultrafiltration fractions. *Journal of Functional Foods*, *5*(1), 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.10.008>

- He, R., Girgih, A. T., Rozoy, E., Bazinet, L., Ju, X. R., & Aluko, R. E. (2016). Selective separation and concentration of antihypertensive peptides from rapeseed protein hydrolysate by electrodialysis with ultrafiltration membranes. *Food Chemistry*, *197*, 1008–1014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.081>
- He, R., Malomo, S. A., Alashi, A., Girgih, A. T., Ju, X., & Aluko, R. E. (2013). Purification and hypotensive activity of rapeseed protein-derived renin and angiotensin converting enzyme inhibitory peptides. *Journal of Functional Foods*, *5*(2), 781–789. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.01.024>
- He, R., Malomo, S. A., Girgih, A. T., Ju, X., & Aluko, R. E. (2013). Glycinylnl-histidinyl-serine (GHS), a novel rapeseed protein-derived peptide has blood pressure-lowering effect in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(35), 8396–8402. <https://doi.org/10.1021/jf400865m>
- He, R., Yang, Y. J., Wang, Z., Xing, C. R., Yuan, J., Wang, L. F., Udenigwe, C. & Ju, X. R. (2019). Rapeseed protein-derived peptides, LY, RALP, and GHS, modulates key enzymes and intermediate products of renin–angiotensin system pathway in spontaneously hypertensive rat. *NPJ Science of Food*, *3*(1), 1. <https://doi.org/10.1038/s41538-018-0033-5>
- Ibáñez, M. A., De Blas, C., Cámara, L., & Mateos, G. G. (2020). Chemical composition, protein quality and nutritive value of commercial soybean meals produced from beans from different countries: A meta-analytical study. *Animal Feed Science and Technology*, *267*, 114531. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114531>
- Ji, T., Xu, G., Wu, Y., Wang, Y., Xiao, C., Zhang, B., Xu B. & Xu, F. (2024). Amelioration of type 2 diabetes mellitus using rapeseed (*Brassica napus*)-derived peptides through stimulating calcium-sensing receptor: Effects on glucagon-like peptide-1 secretion and hepatic lipid metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *72*(43), 23804–23818. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c03987>
- Kaiser, F., Harbach, H., & Schulz, C. (2022). Rapeseed proteins as fishmeal alternatives: A review. *Reviews in Aquaculture*, *14*(4), 1887–1911. <https://doi.org/10.1111/raq.12678>
- Kaiser, F., Harloff, H. J., Tressel, R. P., Kock, T., & Schulz, C. (2021). Effects of highly purified rapeseed protein isolate as fishmeal alternative on nutrient digestibility and growth performance in diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, *27*(5), 1352–1362. <https://doi.org/10.1111/anu.13273>
- Kaugarenia, N., Beaubier, S., Durand, E., Aymes, A., Villeneuve, P., Lesage, F., & Kapel, R. (2022). Optimization of selective hydrolysis of cruciferins for production of potent mineral chelating peptides and napins purification to valorize total rapeseed meal proteins. *Foods*, *11*(17), 2618. <https://doi.org/10.3390/foods11172618>
- Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., & Montowska, M. (2020). Oilseed proteins – Properties and application as a food ingredient. *Trends in Food Science & Technology*, *106*, 160–170. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.004>
- Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., & Montowska, M. (2021). Proteomic analysis of oilseed cake: A comparative study of species-specific proteins and peptides extracted from ten seed species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *101*(1), 297–306. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10643>
- Marczak, E. D., Usui, H., Fujita, H., Yang, Y., Yokoo, M., Lipkowski, A. W., & Yoshikawa, M. (2003). New antihypertensive peptides isolated from rapeseed. *Peptides*, *24*(6), 791–798. [https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(03\)00174-8](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(03)00174-8)
- Muranova, T. A., Zinchenko, D. V., Kononova, S. V., Belova, N. A., & Miroshnikov, A. I. (2017). Plant protein hydrolysates as fish fry feed in aquaculture. Hydrolysis of rapeseed proteins by an enzyme complex from king crab hepatopancreas. *Applied Biochemistry and Microbiology*, *53*, 680–687. <https://doi.org/10.1134/S0003683817060102>
- Östbring, K., Malmqvist, E., Nilsson, K., Rosenlind, I., & Rayner, M. (2019). The effects of oil extraction methods on recovery yield and emulsifying properties of proteins from rapeseed meal and press cake. *Foods*, *9*(1), 19. <https://doi.org/10.3390/foods9010019>

- Pan, M., Jiang, T. S., & Pan, J. L. (2011). Antioxidant activities of rapeseed protein hydrolysates. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1144–1152. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0206-y>
- Perera, S. P., McIntosh, T. C., & Wanasundara, J. P. (2016). Structural properties of cruciferin and napin of *Brassica napus* (canola) show distinct responses to changes in pH and temperature. *Plants*, 5(3), 36. <https://doi.org/10.3390/plants5030036>
- Pérez-Gálvez, R., Berraquero-García, C., Ospina-Quiroga, J. L., Espejo-Carpio, F. J., Almécija, M. C., Guadix, A., García-Moreno, J. P. & Guadix, E. M. (2024). Influence of in vitro digestion on Dipeptidyl Peptidase-IV (DPP-IV) inhibitory activity of plant-protein hydrolysates obtained from agro-industrial by-products. *Foods*, 13(17), 2691. <https://doi.org/10.3390/foods13172691>
- Raboanatahiry, N., Li, H., Yu, L., & Li, M. (2021). Rapeseed (*Brassica napus*): Processing, utilization, and genetic improvement. *Agronomy*, 11(9), 1776. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy11091776>
- Sá, A. G. A., Moreno, Y. M. F., & Carciofi, B. A. M. (2020). Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 170–184. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.011>
- Singh, R., Langyan, S., Sangwan, S., Rohtagi, B., Khandelwal, A., & Shrivastava, M. (2022). Protein for human consumption from oilseed cakes: A review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 856401. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.856401>
- Tang, H., Feng, G., Zhao, J., Ouyang, Q., Liu, X., Jiang, X., Den, M., Xie, Z., Chen, F., Zhou, X., Li R. & Yin, Y. (2024). Determination and Prediction of Amino Acid Digestibility in Rapeseed Cake for Growing-Finishing Pigs. *Animals*, 14(19), 2764. <https://doi.org/10.3390/ani14192764>
- Turner, J. M., & Kodali, R. (2020). Should angiotensin-converting enzyme inhibitors ever be used for the management of hypertension?. *Current Cardiology Reports*, 22, 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11886-020-01352-8>
- Van Dijk, M., Morley, T., Rau, M. L., & Saghai, Y. (2021). A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, 2(7), 494–501. <https://doi.org/10.1038/s43016-021-00322-9>
- Vioque, J., Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Pedroche, J., & Millán, F. (2000). Partially hydrolyzed rapeseed protein isolates with improved functional properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77, 447–450. <https://doi.org/10.1007/s11746-000-0072-y>
- Volk, C., Brandsch, C., Schlegelmilch, U., Wensch-Dorendorf, M., Hirche, F., Simm, A., Gargum, O., Wiacek, C., Braun, P. G., Kopp, J. F., Schwerdtle, T., Treede, H., & Stangl, G. I. (2020). Postprandial metabolic response to rapeseed protein in healthy subjects. *Nutrients*, 12(8), 2270. <https://doi.org/10.3390/nu12082270>
- Wanasundara, J. P. (2011). Proteins of *Brassicaceae* oilseeds and their potential as a plant protein source. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(7), 635–677. <https://doi.org/10.1080/10408391003749942>
- Wanasundara, J. P., Kapel, R., & Albe-Slabi, S. (2024). Proteins from canola/rapeseed - Current status. In *Sustainable protein sources* (pp. 285–309). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91652-3.00004-6>
- Wang, H., Huang, J., Yang, M., Zhou, Y., Yin, J., Yan, Y., & Xie, N. (2023). A novel zinc-chelating peptide identified from rapeseed (*Brassica napus*) protein hydrolysate: Insights into its zinc-binding sites by density functional theory. *International Journal of Food Science and Technology*, 58(10), 5203–5213. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16622>
- Wang, L., Zhang, J., Yuan, Q., Xie, H., Shi, J., & Ju, X. (2016). Separation and purification of an anti-tumor peptide from rapeseed (*Brassica campestris* L.) and the effect on cell apoptosis. *Food & Function*, 7(5), 2239–2248. <https://doi.org/10.1039/C6FO00042H>
- Wang, Q., Dong, X., Castañeda-Reyes, E. D., Wu, Y., Zhang, S., Wu, Z., Wang, Z., Dai L., Xu, B. & Xu, F. (2024). Chitosan and sodium alginate nanocarrier system: Controlling the release of rapeseed-derived peptides and improving their therapeutic efficiency of anti-diabetes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 265, 130713. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130713>

- Wang, Y., Cao, K., Li, H., Sun, H., & Liu, X. (2022). Improvement of active peptide yield, antioxidant activity and anti-aging capacity of rapeseed meal fermented with YY-112 pure fermentation and co-fermentation. *Food Bioscience*, 49, 101938. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101938>
- Wang, Y., Li, Y., Ruan, S., Lu, F., Tian, W., & Ma, H. (2021). Antihypertensive effect of rapeseed peptides and their potential in improving the effectiveness of captopril. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(7), 3049–3055. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10939>
- Wang, Y., Sun, H., & Liu, X. (2022). A novel fermented rapeseed meal, inoculated with selected protease-assisting screened *B. subtilis* YY-4 and *L. plantarum* 6026, showed high availability and strong antioxidant and immunomodulation potential capacity. *Foods*, 11(14), 2118. <https://doi.org/10.3390/foods11142118>
- Wnukowski, P., Veerman, C., & Smolders, G. J. F. (2015). *U.S. Patent Application No. 14/234,741*.
- Woźniak, E., Waszkowska, E., Zimny, T., Sowa, S., & Twardowski, T. (2019). The rapeseed potential in Poland and Germany in the context of production, legislation, and intellectual property rights. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1423. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01423>
- Xie, H., Wang, Y., Zhang, J., Chen, J., Wu, D., & Wang, L. (2015). Study of the fermentation conditions and the antiproliferative activity of rapeseed peptides by bacterial and enzymatic cooperation. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(3), 619–625. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12682>
- Xu, F., Gonzalez, E., Chen, H., Rebecca, K., Pan, M., He, R., Yao, Y., Wang, L., & Ju, X. (2020). Assessment of the DPP-IV inhibitory activity of a novel octapeptide derived from rapeseed using Caco-2 cell monolayers and molecular docking analysis. *Journal of Food Biochemistry*, 44(10). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13406>
- Xu, F., Wang, L., Ju, X., Zhang, J., Yin, S., Shi, J., He, R. & Yuan, Q. (2017). Transepithelial transport of YWDHNNPQIR and its metabolic fate with cytoprotection against oxidative stress in human intestinal Caco-2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(10), 2056–2065. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04731>
- Xu, F., Yao, Y., Xu, X., Wang, M., Pan, M., Ji, S., Wu, J., Jiang, D., Ju X. & Wang, L. (2019). Identification and quantification of DPP-IV-inhibitory peptides from hydrolyzed-rapeseed-protein-derived napin with analysis of the interactions between key residues and protein domains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(13), 3679–3690. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01069>
- Yang, F., Huang, J., He, H., Ju, X., Ji, Y., Deng, F., Wang, Z. & He, R. (2023). Study on the hypolipidemic activity of rapeseed protein-derived peptides. *Food Chemistry*, 423, 136315. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136315>
- Yao, M., Xu, F., Yao, Y., Wang, H., Ju, X. & Wang, L. (2022). Assessment of novel oligopeptides from rapeseed napin (*Brassica napus*) in protecting HepG2 cells from insulin resistance and oxidative stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(39), 12418–12429. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c03718>
- Yao, M., Yao, Y., Qin, B., Pan, M., Ju, X., Xu, F. & Wang, L. (2022). Screening and identification of high bioavailable oligopeptides from rapeseed napin (*Brassica napus*) protein-derived hydrolysates via Caco-2/HepG2 co-culture model. *Food Research International*, 155, 111101. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111101>
- You, H., Zhang, Y., Wu, T., Li, J., Wang, L., Yu, Z., Liu, J, Liu, X. & Ding, L. (2022). Identification of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides from rapeseed proteins. *Lwt*, 160, 113255. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113255>
- Zhang, M., Yan, Z., Bu, L., An, C., Wang, D., Liu, X., Zhang, J., Yang, W., Deng, B., Xie, J. & Zhang, B. (2018). Rapeseed protein-derived antioxidant peptide RAP alleviates renal fibrosis through MAPK/NF-κB signaling pathways in diabetic nephropathy. *Drug Design, Development and Therapy*, 1255–1268. <https://doi.org/10.2147/dddt.s162288>
- Zhang, Z., He, S., Liu, H., Sun, X., Ye, Y., Cao, X., Wu, Z. & Sun, H. (2020). Effect of pH regulation on the components and functional properties of proteins isolated from cold-pressed rapeseed meal through alkaline extraction and acid precipitation. *Food Chemistry*, 327, 126998. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126998>

Zhao, Q., Xu, H., Hong, S., Song, N., Xie, J., Yan, Z., Wang, P., Yang, P. & Jiang, X. (2018). Rapeseed protein-derived antioxidant peptide RAP ameliorates nonalcoholic steatohepatitis and related metabolic disorders in mice. *Molecular Pharmaceutics*, 16(1), 371–381. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b01030>