

УДК 57.112.083

DOI: <https://doi.org/10.17721/1728.2748.2024.99.45-49>

Сергій ЩИПАНСЬКИЙ, асп.

ORCID ID: 0000-0002-6259-7784

e-mail: shchipansky.s@ukr.net

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Зоряна ШЕВЧУК, студ.

ORCID ID: 0009-0005-3429-4523

e-mail: zoranasev251@gmail.com

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Тетяна ГАЛЕНОВА, канд. біол. наук, ст. дослідник

ORCID ID: 0000-0003-2973-2646

e-mail: galenovatanya@knu.ua

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ПЕПТИДІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

Вступ. Біоактивні пептиди з рослинних джерел є перспективним напрямом сучасної біотехнології, а сфера їх застосування розширюється з кожним роком. Одним із параметрів, які цінуються в таких пептидах, є їх антиоксидантні властивості. У нашому дослідженні ми проаналізували антиоксидантний потенціал пептидів з непопулярних, але перспективних джерел – лушпиння квасолі звичайної та кавової гущі.

Методи. Нами було застосовано два підходи одержання пептидів, а саме: метод оцтовокислого гідролізу (ОКГ) наявних у сировині білкових молекул, а також метод екстракції ендогенних пептидів у поєднанні з багаторічним осадженням молекул з молекулярною масою вище 5 кДа. У цій роботі ми оцінювали загальну антиоксидантну активність за допомогою катіон-радикала ABTS⁺, а також дослідили рівень ТБК-активних продуктів у реакції ферум/аскорбат-залежного окиснення Твін-80 за наявності одержаних пептидних фракцій.

Результати. Відповідно до отриманих результатів, пептиди з кавової гущі, одержані обома шляхами, мали вищий рівень антиоксидантної активності порівняно з пептидами з лушпиння квасолі. Приміром, для пептидів, одержаних шляхом ОКГ, рівень антиоксидантної активності становив – 75 ± 4 та 39 ± 3 % відповідно. Тоді як для ендогенних пептидів, одержаних шляхом екстракції, цей показник становив – 68 ± 3 і 55 ± 5 % відповідно. Пептиди з кавової гущі, отримані шляхом ОКГ, також чинили помітний інгібуючий ефект на інтенсивність накопичення ТБК-активних продуктів. У свою чергу, пептиди з лушпиння квасолі, отримані аналогічним методом, мали менш виражений ефект.

Висновки. Одержані результати дозволяють зробити висновок, що кавова гуща може бути цінним джерелом пептидів з антиоксидантною активністю. Водночас, незважаючи на те, що антиоксидантний потенціал пептидів з лушпиння квасолі є помітно нижчим, використання даної сировини може мати вагоме економічне підґрунтя, оскільки даний рослинний матеріал є елементом відходів переробки бобових у харчовій промисловості.

Ключові слова: *P. vulgaris*, *C. arabica*, біоактивні пептиди, антиоксидантна активність, ТБК-активні продукти.

Вступ

Рослини є відносно дешевим, доступним і масштабним джерелом різноманітних біологічно-активних сполук, зокрема пептидів. До вже досліджених активностей таких пептидів відносять антиоксидантні, антимікробні, анти-діабетичні, антигіпертензивні, гепатопротективні тощо. Такі сполуки в майбутньому легко можуть замінити хімічні речовини з подібними властивостями, маючи такі переваги, як натуральність, біодоступність, меншу токсичність, низьку вартість вихідної сировини. Деякі з них, наприклад, препарати біоактивних пептидів Calpis® та Evolus®, успішно комерціалізовані (Fan et al., 2022).

Зважаючи на великий інтерес з боку наукової спільноти до сфери використання пептидів у медичній та косметичній галузях, на сьогодні розроблено й успішно апробовано ряд методів і підходів щодо отримання пептидів з рослинної сировини. Передусім, це ферментативний гідроліз – отримання пептидів шляхом впливу на вихідну сировину препаратами на основі ферментів, зокрема алкалази, трипсину, пепсину, папаїну тощо (Daliri et al., 2017). При цьому, певний фермент може бути використаний з метою отримання різних пептидів з відмінними біологічними властивостями, а кінцевий результат залежить від температури, часу гідролізу, рівня pH, співвідношення фермент:субстрат та ін. (Wen et al., 2020). Іншим популярним методом отримання біоактивних пептидів є мікробна ферментація, для реалізації якої можуть бути успішно застосовані,

наприклад, культури дріжджів, актиноміцетів, бактерій *Lactobacillus brevis*, *Bacillus subtilis* (Daliri et al., 2017). Урешті-решт, менш популярним, але економічно вигіднішим методом, є хімічний гідроліз за участі кислот або лугів.

В аспекті отримання біологічно активних пептидів менше уваги приділяється ендогенним пептидам, які в нормі наявні у клітинах рослин. З одного боку, такі пептиди можуть виконувати роль біорегуляторів на рівні клітинних рецепторів та, у такий спосіб, брати участь у підтриманні гомеостазу рослинним організмом. Водночас, до ендогенних пептидів належать також ті, які утворилися під дією внутрішньоклітинних протеаз на білкові молекули у відповідь на фактори біотичного та/або абіотичного стресу. Як приклад можуть служити дані, що зрілі сухі плоди бобових містять більше антиоксидантних пептидів, ніж зелені боби (Piovesana et al., 2018).

Отже, антиоксидантний потенціал пептидів привертає особливу увагу, оскільки вони можуть знайти своє використання в широкому спектрі галузей – від харчової до косметичної промисловості. Антиоксидантні пептиди вже давно ідентифіковані у плодах гороху, квасолі, сої, зернях злакових і зелених частинах різних рослин (Wong et al., 2020). Тим не менш, на нашу думку, недостатньо залишаються дослідженими ті рослинні об'єкти, які вважаються відходами переробки рослинного матеріалу і які не мають іншої об'єктивної цінності. Однак виділені з них пептиди цілком можуть мати цікаві

властивості, зокрема антиоксидантні, а отже могли б бути застосовані як харчові добавки.

Зважаючи на це, мета нашого дослідження полягала у виділенні пептидних фракцій з лушпиння квасолі (*Phaseolus vulgaris*) та кавової гуші, отриманої після побутового використання мелених смажених зерен кави (*Coffea arabica*) та оцінці їхнього антиоксидантного потенціалу. З метою отримання більш комплексних результатів, ми обрали два різні шляхи отримання пептидних фракцій з вихідного матеріалу: метод кислотного гідролізу та екстракція ендогенних пептидів.

Методи

Спочатку готували водний екстракт вихідного матеріалу. Процедура його одержання була аналогічною для обох видів сировини: сухого подрібненого лушпиння квасолі (*P. vulgaris*) та висушеної кавової гуші (*C. arabica*). Наважку (132 г) відповідного сухого матеріалу заливали 1 л окропу. Суміш поміщали на киплячу водяну баню на 20 хв, після чого відвар настоювали протягом 18 год при кімнатній температурі. Одержаний екстракт фільтрували та центрифугували при 1000 g протягом 10 хв. Отриманий супернатант збирали та висушували методом ліофілізації за допомогою апарату LyoQuest ("Telstar", Іспанія). У результаті ми отримали приблизно по 8 г сухої речовини з обох типів сировини.

Перший спосіб отримання рослинних пептидів передбачав гідроліз наявних у сировині білкових молекул під дією оцтової кислоти. Для цього до 8 г сухого залишку екстрактів додавали по 250 мл одномолярного розчину оцтової кислоти. Гідроліз тривав 1 год при кімнатній температурі та за умов постійного перемішування. Після цього гідролізат кип'ятили протягом 1 год, охолоджували та центрифугували при 3000 g протягом 45 хв. З метою позбавлення одержаного матеріалу від низькомолекулярних домішок ми провели діаліз кінцевих розчинів проти дистильованої води. Цей процес дозволив видалити речовини, зокрема надлишок оцтової кислоти, які могли б вплинути на результати подальших досліджень. Отримані після діалізу фракції пептидів повторно ліофілізували.

Другий спосіб базувався на екстракції ендогенних пептидів, тобто таких, що природно наявні у рослинних клітинах. Для цього ми застосували підхід, який передбачає багатоетапний процес осадження молекул, молекулярна маса яких не перевищує 5 кДа (Gunas et al., 2023). Спочатку сухий залишок екстрактів розчиняли в дистильованій воді та змішували з рівним об'ємом 1,2 M HClO₄. Преципітат видаляли центрифугуванням при 7000 g протягом 15 хв. До супернатанту додавали 96 % етанолу у співвідношенні 1 : 5, осад знову відділяли центрифугуванням за тих самих умов. Одержаний супернатант піддавали діалізу проти дистильованої води, після чого ліофілізували.

Одним із методів оцінки антиоксидантного потенціалу отриманих пептидних фракцій було обрано протокол, запропонований Erel (Erel, 2004). Дана методика базується на використанні стабільного катіон-радикалу 2,2'-азино-біс(3-етилбенз-тіазіолін-6-сульфонові кислоти) (ABTS^{•+}), який забарвлює розчин у зелено-блакитний колір. За наявності антиоксидантів розчин знебарвлюється. Відповідно, активність антиоксидантів пропорційна швидкості знебарвлення розчину, що можна детектувати спектрофотометрично. У дослідженні використовували свіжоприготовлені водні розчини пептидів з концентрацією 1 мг/мл. Концентрацію пептидів визначали за допомогою УФ-спектрофотометрії при довжині хвилі 210 нм (Gunas et al., 2023). Інкубаційне середо-

вище містило 10 мкл розчину пептидів і 200 мкл ацетатного буферного розчину (0,4 моль/л, pH 5,8). Реакцію запускали внесенням 20 мкл розчину ABTS^{•+} (Erel, 2004). Оптичну щільність проб визначали при 660 нм до моменту внесення катіон-радикалу (холоста) та через 10 хв після його додавання. Контрольною пробою служила така сама реакційна суміш, що містила 10 мкл дистильованої води замість розчину пептидів. Як позитивний контроль нами було використано референтний антиоксидант – аскорбінову кислоту в концентрації 0,001 M. Відносний рівень загальної антиоксидантної активності пептидів розраховували за формулою:

$$\text{Антиоксидантна активність (\%)} = \frac{(A_{\text{контроль}} - A_{\text{холоста}}) - (A_{\text{зразок}} - A_{\text{холоста}})}{(A_{\text{контроль}} - A_{\text{холоста}})} \times 100;$$

де $A_{\text{контроль}}$ – абсорбція контрольного зразка, $A_{\text{зразок}}$ – абсорбція зразка, що містив пептиди, $A_{\text{холоста}}$ – абсорбція відповідної холостої проби.

Для більш повного розкриття антиоксидантних властивостей досліджуваних зразків ми також оцінили їхню здатність інгібувати утворення активних сполук тіобарбітурової кислоти (ТБК-активних сполук). Для цього готували реакційну суміш такого складу: 2,0 мл 1-% розчину твіну-80, 0,2 мл 1 mM розчину FeSO₄·7H₂O, 0,2 мл 10 mM розчину аскорбінової кислоти та 0,2 мл розчину пептидів (з вихідною концентрацією 1 мг/мл). У контрольну пробу замість пептидного розчину додавали 0,2 мл дистильованої води. Холоста проба містила 2,0 мл 1-% розчину твіну-80 та 0,6 мл дистильованої води. Після 48 год інкубації при 37° C до реакційної суміші додавали 1 мл 40 % розчину трихлороцтової кислоти. Суміш залишали на годину при кімнатній температурі, а потім центрифугували при 6000 g протягом 15 хв. До 1 мл супернатанту додавали 2 мл 0,25 % розчину тіобарбітурової кислоти (ТБК) і нагрівали в киплячій водяній бані протягом 15 хв. Після охолодження проб визначали їхню оптичну щільність при довжині хвилі 532 нм. Рівень інгібування накопичення ТБК-активних продуктів установлювали за формулою:

$$\text{Інгібуюча активність (\%)} = \frac{A_{\text{контроль}} - A_{\text{зразок}}}{A_{\text{контроль}}} \times 100;$$

де $A_{\text{контроль}}$ – абсорбція контрольного зразка, $A_{\text{зразок}}$ – абсорбція зразка, що містив пептиди.

Кожен дослідний зразок аналізували у трьох повторях у трьох незалежних експериментах. Дані наведені у вигляді $M \pm m$. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою пакету прикладних програм для статистичної обробки даних STATISTICA. Перевірку на нормальність розподілу даних здійснювали з використанням критеріїв Шапіро – Уїлкі та Колмогоров – Смирнова. Достовірність різниць між вибірками, що потрапляли під закон нормального розподілу, визначали з використанням критерію Стюдента (t-критерію). Критичне значення рівня значущості (p) приймалося < 0,05.

Результати

Для оцінки загальної антиоксидантної активності досліджуваних пептидних фракцій ми обрали метод, що базується на використанні стабільного катіон-радикалу ABTS^{•+}. Цей метод має ряд переваг порівняно з іншими аналогічними методами із залученням стабільних радикалів (напр., 2,2'-дифеніл-1-пікрилгідразилу (DPPH)). Крім того, метод-ABTS є традиційно більш популярним, коли йдеться про визначення загальної антиоксидантної активності у продуктах харчування, клітинних лізатах, гомогенатах, рослинних екстрактах (Wołosiak et al., 2021). Відповідно до результатів нашого дослі-

дження, найбільш виражені антиоксидантні властивості були помічені для зразків пептидних фракцій, одержаних з кавової гущі – $68 \pm 3\%$ для ендогенних пептидів та $75 \pm 4\%$ – для пептидів, одержаних методом ОКГ. Варто зауважити, що антиоксидантний потенціал кавових пептидів, незалежно від способу отримання, достовірно перевищував антиоксидантний потенціал 1 мМ аскорбінової кислоти в аналогічному експерименті (рис. 1). Водночас, рівень загальної антиоксидантної активності пептидів з лушпиння квасолі був дещо нижчим і становив $55 \pm 5\%$ для ендогенних пептидів (що є на рівні 1 мМ аскорбінової кислоти) та $39 \pm 3\%$ – для пептидів, одержаних методом ОКГ (рис. 1).

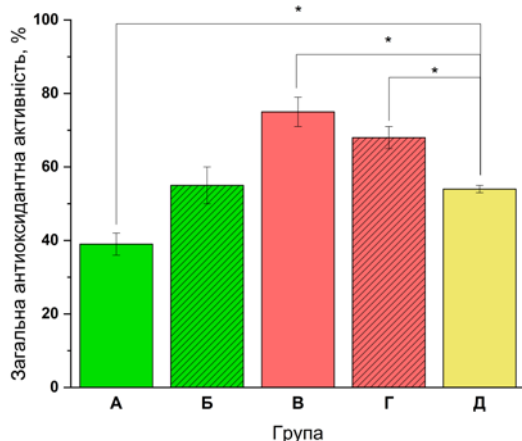


Рис. 1. Рівень загальної антиоксидантної активності (АОА) у дослідних зразках:

А – пептиди з лушпиння квасолі, одержані методом ОКГ; Б – ендогенні пептиди з лушпиння квасолі; В – пептиди з кавової гущі, одержані методом ОКГ; Г – ендогенні пептиди з кавової гущі; Д – 1 мМ аскорбінова кислота. $M \pm m$, * – $p < 0,05$

На наступному етапі ми оцінили рівень накопичення ТБК-активних продуктів у реакції ферум/аскорбат-залежного окиснення Твін-80 за наявності одержаних пептидних фракцій. Даний підхід дозволяє визначити антиоксидантний потенціал пептидів в умовах перекисного окиснення ліпідів. За наявності у реакційній суміші аскорбату й ферум-сульфату утворюється надзвичайно активний гідроксил радикал ($OH^\bullet$). Останній окиснює Твін-80 до низькомолекулярних фрагментів (ТБК-активних продуктів), імітуючи перекисне окиснення ліпідів клітинних мембран (Koracevic, 2001).

Відповідно до результатів нашого експерименту, найвищим рівнем інгібувальної активності володіла група пептидів з кавової гущі, одержані ОКГ – $44 \pm 5\%$, пептиди з лушпиння квасолі, отримані аналогічним підходом, мали дещо нижчий показник та інгібували накопичення ТБК активних продуктів лише на $30 \pm 2\%$. Ендогенні пептиди з обох видів сировини не чинили помітного ефекту на рівень окиснення твін-80 (рис. 2).

Дискусія і висновки

Отримані нами результати дослідження загальної антиоксидантної активності корелюють з результатами інших експериментів. Наприклад, у роботі Naibaho et al. (Naibaho et al., 2022) було відмічено високий рівень антиоксидантної активності пептидів з кавової гущі, а у праці Ariza-Ortega et al. (Ariza-Ortega et al., 2014) повідомлялося, що рівень загальної антиоксидантної активності пептидів із квасолі становить близько 38 %. Цікавим фактом є те, що в тому самому дослідженні найви-

щий рівень антиоксидантної активності спостерігали для пептидів з молекулярною масою нижче 1 кДа. Схожі висновки були сформувані й у іншій праці (Chen et al., 2022), де найвищим рівнем антиоксидантної активності володіли ті пептиди з гідролізату квасолі, молекулярна маса яких не перевищувала 3 кДа.

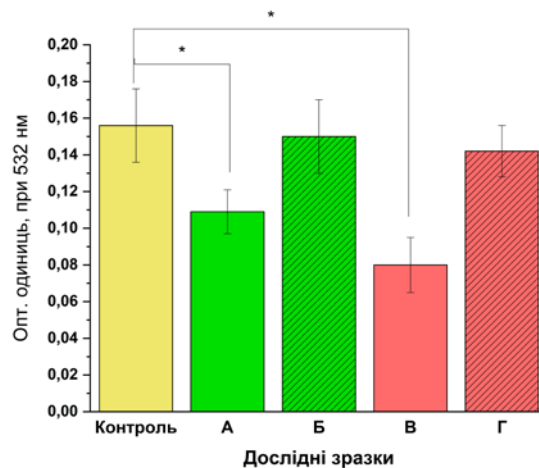


Рис. 2. Рівень ТБК-активних продуктів, накопичених унаслідок Fe^{2+} /аскорбат-залежного окиснення твін-80 (контроль) та за умов наявності дослідних зразка в середовищі інкубації:

А – пептиди з лушпиння квасолі, одержані методом ОКГ; Б – ендогенні пептиди з лушпиння квасолі; В – пептиди з кавової гущі, одержані методом ОКГ; Г – ендогенні пептиди з кавової гущі. $M \pm m$, * – $p < 0,05$

Водночас, результати аналізу рівня накопичення ТБК-активних продуктів за наявності пептидів можна пояснити декількома механізмами. Передусім, можна припустити, що пептиди з кавової гущі здатні хелатувати метали у зв'язку з наявністю у їхньому складі таких амінокислотних залишків, як гістидин, аспартат, глутамат, аспарагін, глутамін, цистеїн (Carrasco-Castilla et al., 2012) та/або амінокислот з вільними $-OH$ -групами (Gulcin, & Alwasel, 2022). При хелатуванні іону заліза кількість гідроксил-радикалу, що формується в реакції з аскорбатом, є нижчою, відповідно і рівень утворення ТБК-активних продуктів знижується (Xu et al., 2024). Інший механізм може полягати в донатії пептидами своїх протонів. Приміром, в одному із досліджень було доведено, що інгібування купрум-залежного окиснення ліпідів було пов'язано з наявністю у пептидів, що вивчаються, великого вмісту гістидину, який був донором протонів через наявність імідазольного кільця (Torres-Fuentes et al., 2014). Тим не менш, для точної ідентифікації механізму дії цих пептидів доцільним є проведення в майбутньому додаткових експериментів з ідентифікацією амінокислотного складу отриманих пептидів.

Отже, у нашому дослідженні ми провели аналіз загальної антиоксидантної та АСТБК-інгібувальної активності пептидних фракцій з кавової гущі та лушпиння квасолі звичайної. Відповідно до результатів, можна зробити висновок, що кавова гуща є більш перспективним джерелом пептидів, які мають антиоксидантні властивості, особливо це стосується пептидів, отриманих методом оцтовокислого гідролізу. Антиоксидантні властивості більш виражені у МСМ, тобто тих пептидів, які є нативними, у той час як АСТБК-інгібувальна активність вища у пептидів, утворених унаслідок гідролізу. Задля кращого розуміння ме-

ханізму впливу цих сполук на окисні процеси, у майбутньому планується дослідити їх амінокислотний склад і послідовність. Теоретична вигода від використання біоактивних сполук як заміників хімічних консервантів є значною, особливо враховуючи дешевизну сировини.

Внесок авторів: Сергій Щипанський – отримання та валідація даних, написання; Зоряна Шевчук – отримання даних, аналіз джерел, підготовка огляду літератури; Тетяна Галенова – концептуалізація, перегляд і редагування статті.

Список використаних джерел

- Ariza-Ortega, T. de J., Zenón-Briones, E. Y., Castrejón-Flores, J. L., Yáñez-Fernández, J., Gómez-Gómez, Y. de las M., & Oliver-Salvador, M. del C. (2014). Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory, antimicrobial, and antioxidant effect of bioactive peptides obtained from different varieties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) with in vivo antihypertensive activity in spontaneously hypertensive rats. *European Food Research and Technology*, 239(5), 785–794. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2271-3>
- Carrasco-Castilla, J., Hernández-Álvarez, A. J., Jiménez-Martínez, C., Jacinto-Hernández, C., Alaiz, M., Girón-Calle, J., Vioque, J., & Dávila-Ortiz, G. (2012). Antioxidant and metal chelating activities of peptide fractions from phaseolin and bean protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 135(3), 1789–1795. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.016>
- Chen, Y., Zheng, Z., Ai, Z., Zhang, Y., Tan, C. P., & Liu, Y. (2022). Exploring the Antioxidant and Structural Properties of Black Bean Protein Hydrolysate and Its Peptide Fractions. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.884537>
- Daliri, E., Oh, D., & Lee, B. (2017). Bioactive Peptides. *Foods*, 6(5), 32. <https://doi.org/10.3390/foods6050032>
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37(4), 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015>
- Fan, H., Liu, H., Zhang, Y., Zhang, S., Liu, T., & Wang, D. (2022). Review on plant-derived bioactive peptides: biological activities, mechanism of action and utilizations in food development. *Journal of Future Foods*, 2(2), 143–159. Beijing Academy of Food Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.003>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2022). Metal Ions, Metal Chelators and Metal Chelating Assay as Antioxidant Method. *Processes*, 10(1), 132. <https://doi.org/10.3390/pr10010132>
- Gunas, V., Maievskiy, O., Raksha, N., Vovk, T., Savchuk, O., Shchypanskyi, S., & Gunas, I. (2023). Protein and peptide profiles of rats' organs in scorpion envenomation. *Toxicology Reports*, 10, 615–620. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2023.05.008>
- Koracevic, D. (2001). Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *Journal of Clinical Pathology*, 54(5), 356–361. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.5.356>
- Naibaho, J., Korzeniowska, M., Wojdyło, A., Muchdatul Ayunda, H., Foste, M., & Yang, B. (2022). Techno-functional properties of protein from protease-treated brewers' spent grain (BSG) and investigation of antioxidant activity of extracted proteins and BSG residues. *Journal of Cereal Science*, 107, 103524. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103524>
- Piovesana, S., Capriotti, A. L., Cavaliere, C., La Barbera, G., Montone, C. M., Zenezini Chiozzi, R., & Laganà, A. (2018). Recent trends and analytical challenges in plant bioactive peptide separation, identification and validation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(15), 3425–3444. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0852-x>
- Torres-Fuentes, C., Alaiz, M., & Vioque, J. (2014). Chickpea chelating peptides inhibit copper-mediated lipid peroxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(15), 3181–3188. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6668>
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Duan, Y., & Ma, H. (2020). Plant protein-derived antioxidant peptides: Isolation, identification, mechanism of action and application in food systems. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 308–322. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.019>
- Wolosiak, R., Drużyńska, B., Derewiaka, D., Piecyk, M., Majewska, E., Ciecierska, M., Worobiej, E., & Pakosz, P. (2021). Verification of the Conditions for Determination of Antioxidant Activity by ABTS and DPPH Assays – A Practical Approach. *Molecules*, 27(1), 50. <https://doi.org/10.3390/molecules27010050>
- Wong, F.-C., Xiao, J., Wang, S., Ee, K.-Y., & Chai, T.-T. (2020). Advances on the antioxidant peptides from edible plant sources. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 44–57. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.012>

- Xu, B., Dong, Q., Yu, C., Chen, H., Zhao, Y., Zhang, B., Yu, P., & Chen, M. (2024). Advances in Research on the Activity Evaluation, Mechanism and Structure-Activity Relationships of Natural Antioxidant Peptides. *Antioxidants*, 13(4), 479. <https://doi.org/10.3390/antiox13040479>

References

- Ariza-Ortega, T. de J., Zenón-Briones, E. Y., Castrejón-Flores, J. L., Yáñez-Fernández, J., Gómez-Gómez, Y. de las M., & Oliver-Salvador, M. del C. (2014). Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory, antimicrobial, and antioxidant effect of bioactive peptides obtained from different varieties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) with in vivo antihypertensive activity in spontaneously hypertensive rats. *European Food Research and Technology*, 239(5), 785–794. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2271-3>
- Carrasco-Castilla, J., Hernández-Álvarez, A. J., Jiménez-Martínez, C., Jacinto-Hernández, C., Alaiz, M., Girón-Calle, J., Vioque, J., & Dávila-Ortiz, G. (2012). Antioxidant and metal chelating activities of peptide fractions from phaseolin and bean protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 135(3), 1789–1795. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.016>
- Chen, Y., Zheng, Z., Ai, Z., Zhang, Y., Tan, C. P., & Liu, Y. (2022). Exploring the Antioxidant and Structural Properties of Black Bean Protein Hydrolysate and Its Peptide Fractions. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.884537>
- Daliri, E., Oh, D., & Lee, B. (2017). Bioactive Peptides. *Foods*, 6(5), 32. <https://doi.org/10.3390/foods6050032>
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37(4), 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015>
- Fan, H., Liu, H., Zhang, Y., Zhang, S., Liu, T., & Wang, D. (2022). Review on plant-derived bioactive peptides: biological activities, mechanism of action and utilizations in food development. *Journal of Future Foods*, 2(2), 143–159. Beijing Academy of Food Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.003>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2022). Metal Ions, Metal Chelators and Metal Chelating Assay as Antioxidant Method. *Processes*, 10(1), 132. <https://doi.org/10.3390/pr10010132>
- Gunas, V., Maievskiy, O., Raksha, N., Vovk, T., Savchuk, O., Shchypanskyi, S., & Gunas, I. (2023). Protein and peptide profiles of rats' organs in scorpion envenomation. *Toxicology Reports*, 10, 615–620. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2023.05.008>
- Koracevic, D. (2001). Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *Journal of Clinical Pathology*, 54(5), 356–361. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.5.356>
- Naibaho, J., Korzeniowska, M., Wojdyło, A., Muchdatul Ayunda, H., Foste, M., & Yang, B. (2022). Techno-functional properties of protein from protease-treated brewers' spent grain (BSG) and investigation of antioxidant activity of extracted proteins and BSG residues. *Journal of Cereal Science*, 107, 103524. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103524>
- Piovesana, S., Capriotti, A. L., Cavaliere, C., La Barbera, G., Montone, C. M., Zenezini Chiozzi, R., & Laganà, A. (2018). Recent trends and analytical challenges in plant bioactive peptide separation, identification and validation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(15), 3425–3444. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0852-x>
- Torres-Fuentes, C., Alaiz, M., & Vioque, J. (2014). Chickpea chelating peptides inhibit copper-mediated lipid peroxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(15), 3181–3188. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6668>
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Duan, Y., & Ma, H. (2020). Plant protein-derived antioxidant peptides: Isolation, identification, mechanism of action and application in food systems. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 308–322. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.019>
- Wolosiak, R., Drużyńska, B., Derewiaka, D., Piecyk, M., Majewska, E., Ciecierska, M., Worobiej, E., & Pakosz, P. (2021). Verification of the Conditions for Determination of Antioxidant Activity by ABTS and DPPH Assays – A Practical Approach. *Molecules*, 27(1), 50. <https://doi.org/10.3390/molecules27010050>
- Wong, F.-C., Xiao, J., Wang, S., Ee, K.-Y., & Chai, T.-T. (2020). Advances on the antioxidant peptides from edible plant sources. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 44–57. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.012>
- Xu, B., Dong, Q., Yu, C., Chen, H., Zhao, Y., Zhang, B., Yu, P., & Chen, M. (2024). Advances in Research on the Activity Evaluation, Mechanism and Structure-Activity Relationships of Natural Antioxidant Peptides. *Antioxidants*, 13(4), 479. <https://doi.org/10.3390/antiox13040479>

Отримано редакцією журналу / Received: 12.10.24
Прорецензовано / Revised: 14.11.24
Схвалено до друку / Accepted: 24.12.24

Serhii SHCHYPANSKYI, PhD Student
ORCID ID: 0000-0002-6259-7784
e-mail: shchipansky.s@ukr.net
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Zoriana SHEVCHUK, Student
ORCID ID: 0009-0005-3429-4523
e-mail: zoranasev251@gmail.com
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Tetiana HALENOVA, PhD (Biol.), Senior Researcher
ORCID ID: 0000-0003-2973-2646
e-mail: galenovatanya@knu.ua
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PEPTIDES FROM PLANT SOURCES

Background. Bioactive peptides from plant sources are a promising area of modern biotechnology, and their scope of application is expanding every year. One of the parameters valued in such peptides is their antioxidant properties. In our study, we analyzed the antioxidant properties of peptides from unpopular but promising sources - common bean husks and coffee grounds.

Methods. We used two approaches to obtain peptides, namely, the method of acetic acid hydrolysis (AAH) of protein molecules present in the raw material, as well as the method of extraction of native peptides in combination with multistage precipitation of molecules with a molecular weight below 5 kDa. In this study, we evaluated the total antioxidant activity using the ABTS-+ cation radical and also investigated the level of TBA-active products in the reaction of ferric/ascorbate-dependent oxidation of Tween-80 in the presence of the obtained peptide fractions.

Results. According to the results obtained, peptides from coffee grounds obtained by both methods had a higher level of antioxidant activity compared to peptides from bean husks. Thus, for the peptides obtained by the AAH method, the level of antioxidant activity was $75 \pm 4\%$ and $39 \pm 3\%$, respectively. Whereas, for native peptides obtained by extraction, this figure was $68 \pm 3\%$ and $55 \pm 5\%$, respectively. The peptides from coffee grounds obtained by AAH also had a noticeable inhibitory effect on the intensity of accumulation of TBA-active products, while the peptides from bean husks obtained by a similar method had a less pronounced effect.

Conclusions. Our results suggest that coffee grounds can be a valuable source of peptides with antioxidant activity. At the same time, despite the fact that the antioxidant potential of peptides from bean husks is significantly lower, the use of this raw material may have a significant economic basis, since this plant material is an element of legume processing waste in the food industry, in particular.

Keywords: *P. vulgaris*, *C. arabica*, bioactive peptides, antioxidant activity, TBA-active products.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів. Спонсори не брали участі в розробленні дослідження; у зборі, аналізі чи інтерпретації даних; у написанні рукопису; в рішенні про публікацію результатів.

The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.