ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2549
https://elibrary.ru/ESAOJO

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Коллаген, гидролизованный из сырья маралов: технология получения и биохимический состав

**М. Г. Кротова*, И. Н. Гришаева**

*Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий, Барнаул, Россия*

*Поступила в редакцию: 13.03.2024*
*Принята после рецензирования: 14.05.2024*
*Принята к публикации: 04.06.2024*

**М. Г. Кротова: otdel_wniipo@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7878-8529*
*И. Н. Гришаева: https://orcid.org/0000-0002-5172-4143*

*© М. Г. Кротова, И. Н. Гришаева, 2024*

**Аннотация.**
Коллаген получает все большее признание как составная часть лечебного питания благодаря многостороннему и благоприятному действию на организм человека. Среди огромного разнообразия источников коллагена особое место занимает сырье пантовых оленей, которое более 20 веков используется в традиционной китайской медицине для поддержания здоровья, в том числе костно-мышечной системы. Цель исследования – провести анализ биохимического состава сырья маралов и гидролизованного коллагена в зависимости от технологии получения.
Объектами исследования являлись шкуры и сухожилия 10 маралов. Сырье измельчали до фарша и гидролизовали. Массовую долю коллагена определяли по концентрации оксипролина. Расчет выхода сухих веществ осуществляли по ГОСТ 31640-2012. Определение массовой концентрации макро- и микроэлементов проводили методом атомно-адсорбционной спектроскопии. Аминный азот определяли формольным титрованием. Аминокислотный состав исследовали с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии.
В результате исследований определили аминокислотный состав коллагена. Среди превалирующих аминокислот отмечены глицин – 14,36 г/100 г, пролин – 8,87 г/100 г и оксипролин – 7,83 г/100 г. Выявили различия в концентрации аминокислот в зависимости от технологии получения. При ферментации отметили увеличение содержания аргинина и лизина в 4–5 раз, а при высокотемпературной экстракции – оксипролина, глутаминовой кислоты и треонина в 1,5–2,3 раза. Показали, что для получения коллагена с максимальным выходом сухих веществ и количеством аминокислот необходимо проводить поэтапный гидролиз, включающий ферментацию и высокотемпературную экстракцию.
Коллаген, гидролизованный из сырья маралов, содержал значительное количество глицина, пролина и оксипролина, что делает перспективным его дальнейшее применение для дополнения продуктов, лимитированных по данным аминокислотам. Необходимо проведение дальнейших исследований влияния гидролизованного коллагена на организм человека.

**Ключевые слова.** Марал, коллаген, шкура, сухожилия, гидролиз, аминокислотный состав, ферментация, зольные компоненты

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках проекта с использованием мер государственной поддержки за счет средств гранта Управления Алтайского края по развитию туризма и курортной деятельности по теме «Проведение научных исследований по изучению природных лечебных ресурсов региона и разработке методик их применения и сохранения, выявлению перспективных территорий для развития санаторно-курортной отрасли в Алтайском крае» (договор 9-2022 от 30.11.2022) и при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России) в Федеральном Алтайском научном центре агробиотехнологий.

**Для цитирования:** Кротова М. Г., Гришаева И. Н. Коллаген, гидролизованный из сырья маралов: технология получения и биохимический состав // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 4. С. 884–896. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2549

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2549
https://elibrary.ru/ESAOJO

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Collagen Hydrolysed from Maral Raw Material: Production Technology and Biochemical Composition

**Maria G. Krotova*, Irina N. Grishaeva**

*Federal Altai Scientific Center for Agrobiotechnology, Barnaul, Russia*

*Received: 13.03.2024*
*Revised: 14.05.2024*
*Accepted: 04.06.2024*

**Maria G. Krotova: otdel_wniipo@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7878-8529*
*Irina N. Grishaeva: https://orcid.org/0000-0002-5172-4143*

*© M.G. Krotova, I.N. Grishaeva, 2024*

**Abstract.**
Collagen has a complex beneficial effect on human health, which makes it a popular component in various therapeutic diets. Deer antlers are a promising source of collagen. It has been used in traditional Chinese medicine for more than 20 centuries as an additive that supports the musculoskeletal system. The article describes the effect of extraction technology on the amino acid and biochemical composition of collagen obtained from the Altai wapiti, or maral (*Cervus Canadensis*).
The research featured hydrolysates obtained from ground skin and tendons of ten marals. The mass fraction of collagen was determined by the concentration of oxyproline. The yield of dry solids was calculated in line with State Standard GOST 31640-2012. The method of atomic adsorption spectroscopy made it possible to calculate the mass concentration of macro- and micro-elements. Amine nitrogen was detected by formol titration while the general amino acid composition was studied using the method of high-performance liquid chromatography.
The list of amino acids included glycine (14.36 g/100g), proline (8.87 g/100g), and oxyproline (7.83 g/100 g). Their concentration depended on the production technology. The content of arginine and lysine increased 4–5 times during fermentation and 1.5–2.3 times during high-temperature extraction of oxyproline, glutamic acid, and threonine. A step-by-step hydrolysis protocol with fermentation and high-temperature extraction provided the maximal yield of dry solids and amino acids.
In this study, the collagen hydrolyzed from maral skin and tendons was rich in glycine, proline, and oxyproline, which makes it a prospective additive to be used in products that lack these amino acids. The effect of hydrolyzed maral collagen on the human body needs further research.

**Keywords.** Maral, collagen, skin, tendons, hydrolysis, amino acid composition, fermentation, ash components

**Financing.** The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement 9-2022, November 30, 2022): Natural therapeutic resources of the Altai Region: application and preservation; Development prospects of health resort industry in the Altai Region.

**For citation:** Krotova MG, Grishaeva IN. Collagen Hydrolysed from Maral Raw Material: Production Technology and Biochemical Composition. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(4):884–896. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2549

## Введение

Современный образ жизни, характеризующийся постоянной нехваткой времени, приводит к потреблению высоко переработанной пищи, которая не оказывает благотворного влияния на здоровье человека. Несбалансированные и неполные диеты могут быть причиной многих заболеваний. Исправить данную ситуацию можно посредством специализированной пищевой продукции. Одна из задач лечебного питания – восстановление нарушенного белкового равновесия в организме путем приспособления химического состава рационов к метаболическим особенностям организма. Согласно многочисленным литературным данным, среди группы белковых продуктов особое место занимает коллаген. Коллаген – это волокнистый белок, который составляет 30 % от общего белка во всех многоклеточных организмах и служит основным компонентом кожи, сухожилий, хрящей, костей, кровеносных сосудов и зубов [1]. Белки, семейства коллагенов, представляют собой группу разнообразных молекул внеклеточного матрикса, связанных появлением коллагенового тройно-спирального домена, как общего структурного элемента [2]. В организмах позвоночных животных зарегистрировано 27 типов коллагена с 42 отчетливыми полипептидными цепями [3]. Результаты многих исследований

демонстрируют, что продукты с коллагеном оказывают благоприятное действие на организм человека [4]. Согласно клиническим исследованиям, употребление коллагена способствует уменьшению болевых ощущений в суставах. Получены положительные результаты при лечении дефектов костной ткани, саркопении, гастроэзофагеального рефлюкса, остеоартрита, ревматоидного артрита и заболеваний зубов. Установлено, что применение порошков коллагена помогает регенерации кожи и заживлению ран, ускорению эпителизации. Показана эффективность применения коллагена для лечения язв при синдроме диабетической стопы [5–8].

В связи с особенностью структуры коллаген является плохо усвояемым белком. Для повышения усвоения его необходимо подвергать гидролизу [9]. По литературным данным, гидролиз изменяет физико-химические свойства белков. Чем выше степень гидролиза, тем сильнее изменяются свойства гидролизуемого белкового субстрата. Сообщалось, что гидролизаты белков обладают полезными биологическими функциями и используются в качестве нутрицевтиков для борьбы с различными заболеваниями, включая рак, сердечно-сосудистые заболевания, воспалительные состояния [10].

Гидролизат коллагена богат гидрофильными и гидрофобными аминокислотами, которые придают ему уникальную амфифильную структуру и наделяют разнообразной биологической активностью, и используется в медицинских целях как высокоэнергетическая добавка, гериатрический продукт, а также в составе кишечных, терапевтических или контрольных диет [11]. Применяются белковые гидролизаты в лечении больных со специфическими нарушениями пищеварения, всасывания и аминокислотного обмена [12]. Z. Guo с соавторами в эксперименте показали влияние гидролизата коллагена из костей яка на микробиоту кишечника и выработку короткоцепочечных жирных кислот на модели мышей [13].

Показано влияние гидролизатов в качестве ингибиторов липазы поджелудочной железы, что, в свою очередь, вызывает снижение всасывания жира, способствуя потере веса [14].

Установлено, что перорально потребляемый гидролизат коллагена всасывается кишечником и накапливается в хрящах, что опосредовано значительным увеличением синтеза макромолекул внеклеточного матрикса хондроцитами. Отмечается, что гидролизат коллагена костной ткани крупного рогатого скота содержит кальций-связывающий пептид, способствующий усвоению кальция [15].

Обнаружено, что коллагеновые и желатиновые гидролизаты содержат пептиды, ингибирующие ангиотензинпревращающий фермент, который играет важную роль в регуляции артериального давления, а ингибирование этого фермента может вызывать гипотензивный эффект [16].

На сегодняшний день в качестве источника коллагенового белка используют такое сырье, как бычья шкура, кости, свиная кожа, рыбьи кости и кожа [17, 18]. Хорошей альтернативой имеющимся видам коллагенового сырья являются соединительнотканные белки пантовых оленей, которые уже более 20 веков широко используются в традиционных китайских средствах для поддержания здоровья костей, при этом сухожилия оленя считаются более эффективными, чем сухожилия крупного рогатого скота [19].

Существуют исследования, согласно которым экстракт сухожилий оленя может предотвратить потерю костной массы и снизить риск травм опорно-двигательного аппарата. H. Zhang и др., используя в качестве модели овариэктомированных крыс, продемонстрировали влияние экстракта на минеральную плотность костной ткани и уровень гидроксипролина в сыворотке крови, а также гистоморфометрические параметры и механические свойства кости при остеопорозе [20]. Подобные результаты получены на модели остеопороза у крыс, индуцированного ретиноевой кислотой. Исследования показали, что экстракт сухожилий оленя может увеличить минеральную плотность костной ткани и массу кости [21]. В эксперименте I.-L. Wang и др. продемонстрировали, что экстракт сухожилий оленя может улучшить результаты физических упражнений и снизить риск получения травм у спортсменов и заболеваний опорно-двигательного аппарата [22]. Согласно исследованиям X. Xu с соавторами, экстракт сухожилий оленя, полученный с применением ультразвука, обладает антиоксидантным действием и способствует пролиферации клеток костной ткани [23].

Помимо сухожилий, источником коллагена может служить шкура оленей, которая составляет до 7 % от массы туши. Ежегодно на маралофермах в России убою подвергаются порядка 10 % поголовья. Шкуры животных, получаемые в качестве побочного продукта, до сих пор не нашли хозяйственного применения и в основном утилизируются. На сегодняшний день нет данных о получении коллагена из шкур оленей.

Разработка технологии получения и исследования биохимического состава коллагена, гидролизованного из сырья пантовых оленей, является актуальной и позволит получить уникальный продукт с перспективой его дальнейшего внедрения в состав санаторно-курортных диет, в особенности для пациентов с болезнями опорно-двигательного аппарата. Цель исследования – провести анализ биохимического состава сырья маралов и гидролизованного коллагена в зависимости от технологии получения.

**Объекты и методы исследования**

Научно-исследовательская работа проводилась в лаборатории переработки и сертификации пантовой продукции «Всероссийского научно-исследова-

тельского института пантового оленеводства» Федеральный Алтайского научного центра агробиотехнологий в 2023 г.

Объектом исследования являлось сырье маралов – шкуры и сухожилия. Образцы сырья были получены от 10 клинически здоровых животных. Взятие материала осуществляли во время убоя в зимний период на опытной станции «Новоталицкое» Чарышского района Алтайского края. Полученное сырье предварительно промывали проточной водой и проводили обезволашивание шкуры. Сухожилия и шкуру нарезали до размера 1×1 см и измельчали до фаршеобразного состояния на мясорубке МИМ-300 (ОАО «Торгмаш», Беларусь). Подготовленное сырье подвергали гидролизу.

На первом этапе исследования провели изучение аминокислотного состава шкуры и сухожилий марала с целью оценки их сырьевого потенциала при получении гидролизованного коллагена.

На втором этапе исследования оценивали влияние гидромодуля на выход сухих веществ при гидролизе сырья. Для выполнения поставленной задачи брали навеску шкуры и сухожилий массой 30 г, заливали дистиллированной водой в соотношении сырья и воды от 1:1 до 1:6 и гидролизовали в автоклаве в течение 6 ч. В каждой из полученных проб определяли массовую долю сухих веществ.

На третьем этапе исследований определяли физико-химические параметры и аминокислотный состав коллагеновых гидролизатов в зависимости от технологии получения. Для выполнения данного этапа коллагенсодержащее сырье подвергали гидролизу с применением различных технологий.

Первый вариант включал ферментативную обработку. В ранее проведенных исследованиях установили положительное влияние ультразвуковых колебаний на процессы экстракции сырья маралов, на основание чего ферментативный гидролиз коллагена проводили с применением ультразвукового оборудования. Сырье ферментировали в ультразвуковой ванне Elmasonic S80H (Elma, Германия) при температуре 45–50 °С, интенсивности ультразвуковых колебаний 22 кГц, в течение 6 ч при гидромодуле 1:5 с применением ферментов микробного происхождения, в частности, щелочной бактериальной протеазы на основе *Bacillus lisheniformis* (Протозим), щелочной грибной протеазы на основе *Acremonium chrysogenum* (Протозим С) и бактериальной протеазы на основе *Bacillus subtilis* (Протеаза нейтральная). Ферментные препараты приобретены в биотехнологической компании «Биопрепарат». В соответствии с технологической инструкцией представленные ферменты обладают коллагеназной и кератиназной активностью. В таблице 1 отражены основные физико-химические параметры ферментных препаратов.

Ферменты вводили в смесь последовательно, сначала бактериальную и грибную протеазы при pH раствора 7,5–8,0 и гидролизовали в течение 3 ч при периодическом перемешивании, добавляли нейтральную протеазу при pH раствора 7,0–7,5 и ферментировали еще 3 ч. Внесение ферментов проводили по ранее отработанной технологии [24, 25]. По окончании гидролиза ферменты нейтрализовали путем нагревания до 75 °С в течение 30 мин. Второй вариант гидролиза включал высокотемпературную обработку в автоклаве при температуре 120 °С и давлении 1,2 атм в течение 6 ч, гидромодуль 1:5. Во всех представленных образцах, полученных с помощью ферментации и высокотемпературного гидролиза, определяли выход сухих веществ, аминный азот и аминокислотный состав.

На четвертом этапе исследования провели последовательный гидролиз сырья путем ферментирования с последующим автоклавированием. Полученный гидролизат высушивали с применением вакуумной сушки при температуре 45 °С до влажности 8–10 %. В полученных образцах конечного продукта определили биохимический состав (жир, белок, зола, сухое вещество), а также количественное содержание макро- и микроэлементов и аминокислот.

Определение массовой доли коллагена в продукте проводили расчетным способом по концентрации оксипролина в соответствии с ГОСТ 33692-2015.

Расчет выхода сухих веществ осуществляли путем высушивания навески образца до постоянной массы при температуре 105 °С в соответствии с ГОСТ 31640-2012.

Таблица 1. Физико-химические параметры ферментных препаратов

Table 1. Physicochemical parameters of enzyme preparations

| Ферментный препарат | Форма выпуска | Активность, ед/г | Температура, °С | | pH | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Рабочий диапазон | Оптимальный диапазон | Рабочий диапазон | Оптимальный диапазон |
| Протозим (протеаза бактериальная щелочная) | порошок | 50000 | 25–70 | 55–65 | 5,5–11,0 | 6,0–10,0 |
| Протозим С (протеаза грибная щелочная) | порошок | 50000 | 30–70 | 50–60 | 5,5–11,5 | 8,0–10,5 |
| Протеаза нейтральная (бактериальная протеаза) | порошок | 50 | 25–70 | 55–65 | 5,5–8,5 | 6,8–8,0 |

Показатели влажности и золы определяли в соответствии с ГОСТ 24027.2-80, массовой доли белка по методу Кьельдаля по ГОСТ 25011-2017, массовой доли жира кислотным методом в соответствии с ГОСТ 5867-90. Определение массовой концентрации макро- и микроэлементов проводили методом атомно-адсорбционной спектроскопии на спектрофотометре Shimadzu AA-7000 (Shimadzu, Япония) по ГОСТ Р ИСО 27085-2012.

Аминный азот определяли формольным титрованием по упрощенному методу Зеренсена-Гаврилова. Метод формольного титрования основан на реакции щелочных аминогрупп белка с формалином, в результате которой освобождаются карбоксильные кислые группы белка. Для определения аминного азота в стеклянный стакан вносили испытуемый раствор в количестве 2 мл, прибавляли 18 мл воды дистиллированной и нейтрализовали жидкость путем добавления в раствор 0,1 М NaOH или 0,1 М HCl до pH 7,0. Затем вносили 2 мл раствора формольной смеси, нейтрализованной в день исследования. Полученную смесь титровали раствором 0,1 М NaOH до pH 9,2.

Аминокислотный состав исследовали с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии на аппарате Shimadzu LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) с диодно-матричным-детектированием на длине волны 254 нм. Хроматографическая колонка 250×4,6 мм C18, 5 мкм (MZ-Analysentechnik GmbH, Германия). Хроматографический анализ провели в градиентном режиме при расходе элюента 1,0 мл/мин и температуре термостата колонки 40 °С. В качестве подвижной фазы использовали смесь 6 М раствора ацетата натрия с pH 5,5 (компонент А), 1 % раствор изопропилового спирта в ацетонитриле (компонент В) и 6 М раствор ацетата натрия с pH 4,05 (компонент С). Для построения градуированной зависимости использовали стандартные концентрированные образцы аминокислот (Sigma, Германия), разведенные в 1 М растворе соляной кислоты. Перед исследованием проводили пробоподготовку образцов, путем гидролиза в растворе 6 М соляной кислоты при температуре 110 °С в течение 18 ч с последующей модификацией аминокислот фенилизитиоционатом.

Полученные данные обработаны общепринятыми статистическими методами, используя программное обеспечение MS Excel (office 2010). Разница достоверно значимой считалась при $p < 0,05$.

**Результаты и их обсуждение**

На первом этапе исследования проведена оценка сырьевого потенциала сухожилий и шкуры марала для получения коллагена. Поскольку коллаген состоит в основном из белка, на долю которого приходится до 98 % состава сырья, целесообразно оценивать сырье по качественному и количественному составу аминокислот. Полученные результаты представлены на рисунках 1 и 2.

Качественный состав аминокислот – важный параметр, характеризующий сбалансированность рациона по белку. Особенно важны в питании незаменимые

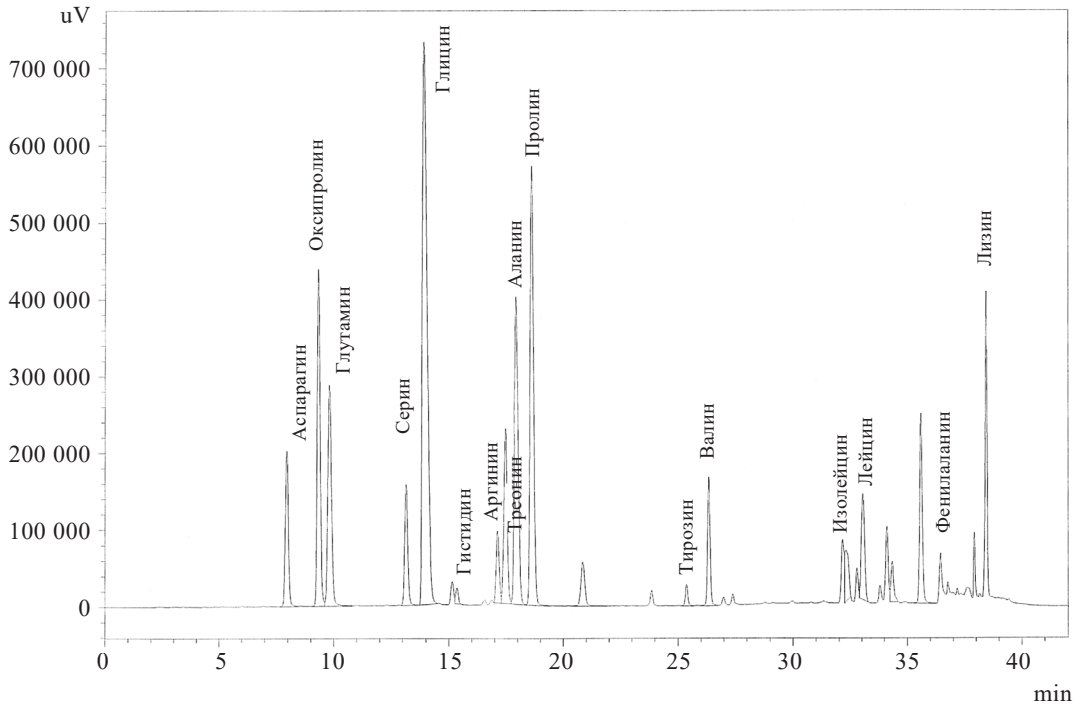


Рисунок 1. Аминокислотный состав сухожилий марала (нативное сырье)

Figure 1. Amino acid composition of maral tendons (native raw material)

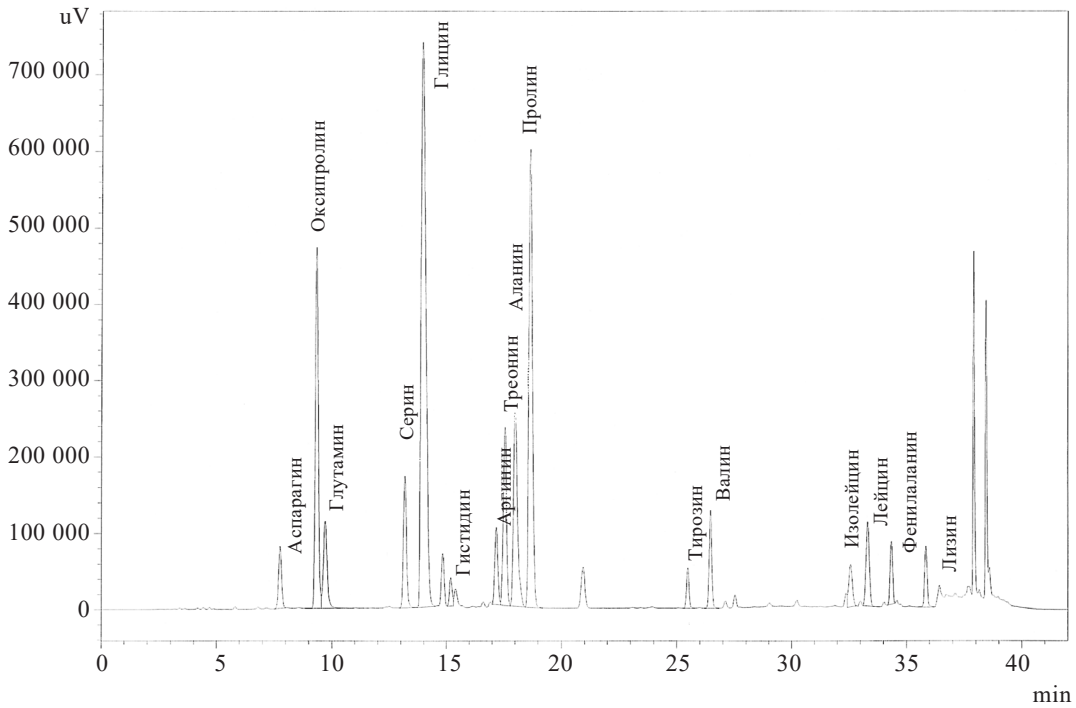


Рисунок 2. Аминокислотный состав шкуры марала (нативное сырье)

Figure 2. Amino acid composition of maral skin (native raw material)

аминокислоты. Исключение из рациона хотя бы одной при сохранении остальных может повлечь за собой задержку роста, а также нарушение белкового обмена. В литературе представлены данные по влиянию на организм дефицита аминокислот. S. Goto с соавторами в эксперименте на крысах показали, что диета с дефицитом валина вызывала тяжелую анорексию, которая связана со значительным снижением концентрации валина в спинномозговой жидкости [26]. В исследованиях на различных видах рыб и креветках показано, что дисбаланс уровня треонина приводит к замедлению роста [27]. В свою очередь недостаток лизина и гистидина вызывает снижение гемоглобина.

По результатам исследования было установлено, что шкура и сухожилия марала имели сходный качественный состав аминокислот. В коллагенсодержащем сырье маралов определено 17 аминокислот. Из числа заменимых аминокислот в составе обнаружены: аспарагиновая кислота (1,33 г/100 г в сухожилиях и 1,22 г/100 г в шкуре), аланин (2,49 г/100 г в сухожилиях и 2,24 г/100 г в шкуре), глутаминовая кислота (2,45 г/100 г в сухожилиях и 1,96 г/100 г в шкуре), оксипролин (4,29 г/100 г в сухожилиях и 2,82 г/100 г в шкуре), пролин (5,80 г/100 г в сухожилиях и 3,98 г/100 г в шкуре), глицин (7,87 г/100 г в сухожилиях и 6,16 г/100 г в шкуре), серин (1,24 г/100 г в сухожилиях и 1,20 г/100 г в шкуре), тирозин (0,53 г/100 г в сухожилиях и 0,43 г/100 г в шкуре), аргинин (2,44 г/100 г в сухожилиях и 0,78 г/100 г в шкуре), гистидин (0,40 г/100 г в сухожилиях и 0,29 г/100 г в шкуре).

Среди превалирующих аминокислот отмечены глицин, пролин, оксипролин, что характерно для коллагенового сырья. S. Chanmangkang с соавторами пришли к выводу, что глицин составляет примерно 30 % от общего количества аминокислотных остатков коллагена [28]. Согласно другим источникам, в коллагене отмечается высокий уровень глицина, пролина и гидроксипролина, составляющих 57 % от общего количества аминокислот коллагена [29]. Высокий уровень глицина обусловлен структурой коллагена, который состоит из трех полипептидных цепей, расположенных в виде тройной спирали с двумя идентичными цепями ($\alpha 1$) и третьей, которая в некоторой степени отличается по своему химическому составу ($\alpha 2$). Амидные протоны глицина и карбонильный кислород остатков X-сайта в последней цепи образуют основную водородную связь для стабилизации тройной спирали. В дополнение к основным водородным связям существует высокий процент соляных мостиков в естественных последовательностях, что имеет важное значение для стехиометрии цепных ассоциаций при сворачивании коллагена [30]. В тройной спирали глицин является единственной аминокислотой, которая может быть включена в спираль без искажения и является строгим требованием для фибриллообразующих коллагенов. Эта фундаментальная структурная единица обычно имеет длину 300 нм и диаметр 1,5 нм и может упаковываться с другими трехцепочечными молекулами коллагена, образуя иерархические структуры [31]. По данным T. Petcharat с соавторами,

содержание аминокислот в коллагене коррелирует с его термической стабильностью и механическими свойствами. Большее содержание пролина и гидроксипролина повышает термостабильность и укрепляет коллаген [32]. По результатам исследования в коллагенсодержащем сырье маралов концентрация глицина составила 20,7 и 21,6 % для сухожилий и шкуры соответственно, а пролин и оксипролин присутствовали в количестве от 10 до 15 % от общей массы аминокислот.

По содержанию глицина, пролина и оксипролина отмечена значительная разница в зависимости от вида сырья. В сухожилиях глицина больше на 28,4 %, пролина на 52,6 %, оксипролина 52,1 %, чем в шкуре марала. Существенная разница отмечена в концентрации аргинина, уровень которого в сухожилиях был в 3,1 раза выше, чем в шкуре.

Среди незаменимых аминокислот в составе коллагенового сырья выявлены: метионин (0,36 г/100 г в сухожилиях и 0,17 г/100 г в шкуре), фенилаланин (1,04 г/100 г в сухожилиях и 0,70 г/100 г в шкуре), лизин (0,99 г/100 г в сухожилиях и 0,83 г/100 г в шкуре), треонин (2,27 г/100 г в сухожилиях и 2,76 г/100 г в шкуре), валин (1,11 г/100 г в сухожилиях и 0,85 г/100 г в шкуре), лейцин (2,56 г/100 г в сухожилиях и 1,78 г/100 г в шкуре), изолейцин (0,84 г/100 г в сухожилиях и 0,55 г/100 г в шкуре). Образцы из сухожилий марала превосходили образцы из шкуры по количественному содержанию метионина на 52,0 %, фенилаланина на 32,7 %, лизина на 16,2 %, валина на 23,4 %, лейцина на 30,5 %, изолейцина на 34,5 %. Уровень треонина, напротив, был выше в шкуре марала на 17,8 % по сравнению с сухожилиями. Превалирующими среди незаменимых аминокислот являлись лейцин и треонин.

Исходя из анализа аминокислотного состава коллагенового сырья маралов, можно заключить, что как шкура, так и сухожилия лимитированы практически по всем незаменимым аминокислотам. На основании чего применение их в качестве источника белка нерационально. Существуют исследования, согласно которым добавление в состав мясных продуктов до 15 % коллагена приводит к повышению их биологической ценности. Указанный уровень коллагена в составе мясного сырья способствует рациональному использованию заменимых и незаменимых аминокислот и повышает анаболическую эффективность мясного белка [33]. На основании этого можно рекомендовать коллагеновое сырье маралов в качестве компонента для дополнения пищевых продуктов.

Несмотря на несбалансированность коллагена по аминокислотам, многочисленными исследованиями подтверждено положительное влияние перорального приема коллагена при лечении болезней суставов. О. Б. Яременко с соавторами считают, что эффект действия коллагена опосредован пептидами, которые представляют собой последовательность аминокислот с различной молекулярной массой. Биологически активными пептидами считаются вещества с длиной цепи от 2 до 20 аминокислотных остатков. По сравнению с другими функциональными пищевыми ингредиентами биоактивные пептиды обладают специфическими характеристиками, такими как простая структура, высокая безопасность и хорошая стабильность. Отмечается, что применение пептидов коллагена способствует увеличению поступления аминокислот в хрящ с дальнейшим их использованием в синтезе коллагена в хондроцитах [34]. Сообщается, что лучшей биологической активностью и функциональными свойствами обладают пептиды, которые содержат пролин и гидроксипролин, поскольку они более устойчивы к действию пептидаз в пищеварительном тракте [35]. Согласно исследованиям L. Guo, определенный аминокислотный состав пептидов и специфические группы аминокислот образуют с кальцием хелатный комплекс, повышая его усвояемость [36]. В исследовании пептидов, полученных из плазмы свиней, остатки аспарагина, глутамина и глицина идентифицированы как основные кальций-связывающие сайты [37]. По мнению H. S. Lee и др., среди различных пептидных последовательностей, входящих в состав гидролизата коллагена, к основным функциональным компонентам относятся Gly-Pro-Hyp и Pro-Hyp [38]. Для получения из нативной формы коллагена короткоцепочечных пептидов и аминокислот, обладающих биологической активностью, необходимо раздробить фибриллы коллагена путем гидролиза сырья [39, 40]. Большая длина молекул коллагена и высокая молекулярная масса (300 кДа) затрудняют его расщепление, поэтому важен подбор оптимальных условий проведения гидролиза, что позволит получить максимальный выход биологически активных компонентов.

При проведении гидролиза технологическое значение имеет гидромодуль. Данный показатель напрямую влияет на интенсификацию диффузионных процессов, а также на затраты при высушивании продуктов. В рамках научных исследований проведена работа по определению гидромодуля, позволяющего наиболее эффективно извлечь белковые компоненты из коллагенового сырья. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, при гидролизе шкур и сухожилий установлена схожая динамика изменения выхода сухих веществ в гидролизат в зависимости от гидромодуля. Отмечено, что массовая концентрация сухих веществ в гидролизате повышалась по мере увеличения гидромодуля и достигала максимума при разведении 1:5 и 1:6. При соотношении 1:1 выход сухих веществ составил 21,92 и 42,7 % для шкуры и сухожилий соответственно. Увеличение водной фазы в 2 раза способствовало возрастанию выхода на 10 %. В дальнейшем интенсивность гидролиза постепенно снижалась, и при гидромодуле 1:5 и 1:6 выход сухих веществ достоверно не изменялся. На основании вышеизложенного оптимальным является проведение

Таблица 2. Условия и результаты гидролиза коллагенового сырья (n = 5)

Table 2. Hydrolysis of collagen raw materials: conditions and results (n = 5)

| Гидромодуль | Выход сухих веществ при гидролизе, г к массе сырья (% от массы сырья) | |
|---|---|---|
| | Шкура (M ± m) | Сухожилия (M ± m) |
| 1:1 | 2,61 ± 0,35 (21,90 ± 1,15) | 4,41 ± 0,27 (42,73 ± 1,16) |
| 1:2 | 3,83 ± 0,15*** (31,91 ± 2,75*) | 5,92 ± 0,45* (53,00 ± 2,26**) |
| 1:3 | 5,00 ± 0,21** (41,33 ± 0,96*) | 7,00 ± 0,15 (62,82 ± 1,47*) |
| 1:4 | 5,70 ± 0,61 (47,82 ± 2,15*) | 7,74 ± 0,23* (69,71 ± 1,66*) |
| 1:5 | 6,74 ± 0,25 (55,40 ± 1,75*) | 8,30 ± 0,17 (74,92 ± 1,13*) |
| 1:6 | 6,72 ± 0,77 (56,20 ± 3,11) | 8,41 ± 0,86 (75,21 ± 1,83) |

Примечание: *$p < 0,05$; **$p < 0,01$; ***$p < 0,001$ – разница достоверна в сравнении с предыдущим значением.

Note: *$p < 0.05$; **$p < 0.01$; ***$p < 0.001$ – the difference is significant relative to the previous value.

гидролиза коллагенового сырья маралов при гидромодуле 1:5, данное соотношение позволяет получить высокую концентрацию белковых компонентов в продукте, а дальнейшее увеличение гидромодуля является экономически нецелесообразным. Установлены достоверные различия по содержанию сухих веществ в гидролизатах в зависимости от вида сырья во всех вариантах гидромодуля.

Важным фактором, влияющим на качество гидролизованного коллагена, является способ его получения. Переработка белковых продуктов с использованием ферментных препаратов в последние годы наиболее перспективна. Ферментация – широко используемый метод расщепления пептидных связей и получения пептидов. Ферментативный гидролиз используется для изменения свойств нативных белков, таких как растворимость, вспенивание, эмульгирование, и может повысить биологическую активность [41]. Гидролиз пищевых белков ферментами разработан в 1990-х гг. в качестве альтернативы кислотного и щелочного гидролиза и имеет ряд существенных преимуществ, таких как мягкие условия обработки, снижение содержания солей, увеличение степени гидролиза и т. д. Согласно данным U. Mohanty с соавторами, с увеличением степени гидролиза возрастают антиоксидантные свойства гидролизатов, что значительно влияет на качество продукции. Установлено, что белковые гидролизаты, полученные путем ферментативного гидролиза, лучшая альтернатива для повышения пищевой ценности различных промышленных побочных продуктов [42]. По сравнению с гидролизатами, произведенными с применением высоких температур, ферментированный коллаген проявляет повышенную растворимость в воде и может потребляться в больших количествах в качестве функционального продукта [43].

В исследовании представлено сравнение двух технологических способов гидролиза коллагенового сырья маралов: ферментативный и высокотемпературный. Качество гидролизатов оценивали по выходу сухих веществ, степени гидролиза и аминокислотному составу. Полученные данные представлены в таблицах 3 и 4.

Как видно из таблицы 3, при переработке шкуры путем ферментации выход сухих веществ выше по сравнению с высокотемпературной экстракцией в среднем на 13 %, тогда как при гидролизе сухожилий, напротив, максимальное количество экстрагируемых веществ получено под действием высоких температур.

Одним из значимых физико-химических показателей качества белковых гидролизатов является степень гидролиза. В результате гидролиза белка образуются пептиды, отличающиеся по молекулярной массе, которая может варьироваться в широком диапазоне. Белковые препараты с высокой степенью расщепления содержат значительное количество низкомолекулярных фракций пептидов. О глубине гидролиза белковых продуктов можно судить по аминному азоту, наличие и количество которого с высокой степенью точности свидетельствует о накоплении в гидролизате низкомолекулярных фракций белков, в частности, свободных аминокислот и пептидов. Показано, что при ферментации концентрация аминного азота достоверно выше по сравнению с высокотемпературной экстракцией

Таблица 3. Показатели качества гидролизатов в зависимости от технологии (n = 5)

Table 3. Effect of technology on quality indicators of hydrolysates (n = 5)

| Вид сырья | Способ гидролиза | Показатели (M ± m) | |
|---|---|---|---|
| | | Сухое вещество, % | Аминный азот, мг/100 г |
| Шкура | Ферментация | 69,50 ± 1,06 | 49,00 ± 1,76 |
| | Высокотемпературный гидролиз | 56,20 ± 0,74*** | 42,00 ± 1,03* |
| Сухожилия | Ферментация | 61,89 ± 0,74 | 70,00 ± 0,85 |
| | Высокотемпературный гидролиз | 75,20 ± 1,25*** | 42,00 ± 0,67*** |

Примечание: *$p < 0,05$; **$p < 0,01$; ***$p < 0,001$ – разница достоверна в сравнении с предыдущим значением.

Note: *$p < 0.05$; **$p < 0.01$; ***$p < 0.001$ – the difference is significant relative to the previous value.

Таблица 4. Аминокислотный состав коллагеновых гидролизатов в зависимости от технологии (n = 5)

Table 4. Effect of technology on amino acid composition of collagen hydrolysates (n = 5)

| Аминокислоты | Количественное содержание аминокислот в гидролизатах (M ± m), г/100г | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Высокотемпературный гидролиз | | | Ферментация | | |
| | Сухожилия | Шкура | Объединенный гидролизат | Сухожилия | Шкура | Объединенный гидролизат |
| Аспарагиновая кислота | 0,45 ± 0,09 | 0,42 ± 0,01 | 0,43 ± 0,05 | 0,34 ± 0,07 | 0,31 ± 0,05 | 0,33 ± 0,01 |
| Аланин | 0,40 ± 1,12 | 0,36 ± 0,05 | 0,38 ± 0,03 | 0,52 ± 0,05 | 0,47 ± 0,12 | 0,49 ± 0,05 |
| Глутаминовая кислота | 0,94 ± 0,05 | 0,75 ± 0,02 | 0,86 ± 0,00 | 0,53 ± 0,16* | 0,42 ± 0,24 | 0,48 ± 0,09* |
| Оксипролин | 1,19 ± 0,03 | 0,78 ± 0,11 | 0,91 ± 0,01 | 0,75 ± 0,21 | 0,49 ± 0,11 | 0,58 ± 0,01*** |
| Пролин | 0,69 ± 0,10 | 0,47 ± 0,04 | 0,58 ± 0,09 | 0,82 ± 0,25 | 0,56 ± 0,23 | 0,70 ± 0,01 |
| Глицин | 1,48 ± 0,67 | 1,16 ± 0,31 | 1,30 ± 0,02 | 1,35 ± 0,18 | 1,06 ± 0,42 | 1,20 ± 0,09 |
| Серин | 0,15 ± 0,01 | 0,14 ± 0,01 | 0,29 ± 0,01 | 0,20 ± 0,06 | 0,19 ± 0,01 | 0,19 ± 0,02 |
| Цистин+цистеин | – | – | – | – | – | – |
| Тирозин | 0,05 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | 0,04 ± 0,02 | 0,05 ± 0,03 |
| Аргинин | 0,08 ± 0,02 | 0,002 ± 0,00 | 0,007 ± 0,03 | 0,03 ± 0,01 | 0,01 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01*** |
| Гистидин | 0,05 ± 0,02 | 0,04 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | 0,05 ± 0,03 | 0,03 ± 0,01 | 0,04 ± 0,00 |
| **Сумма заменимых аминокислот** | **5,48 ± 0,27** | **4,16 ± 0,11** | **4,90 ± 0,31** | **4,64 ± 0,13*** | **3,58 ± 0,21*** | **4,09 ± 0,27** |
| Метионин | 0,06 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | – | – | – |
| Фенилаланин | 0,12 ± 0,05 | 0,08 ± 0,05 | 0,10 ± 0,00 | 0,22 ± 0,10 | 0,15 ± 0,01 | 0,18 ± 0,05 |
| Лизин | 0,15 ± 0,05 | 0,12 ± 0,05 | 0,14 ± 0,01 | 0,71 ± 0,25 | 0,59 ± 0,13* | 0,63 ± 0,07*** |
| Треонин | 0,39 ± 0,11 | 0,48 ± 0,10 | 0,43 ± 0,03 | 0,16 ± 0,09 | 0,20 ± 0,05* | 0,18 ± 0,09*** |
| Триптофан | – | – | – | – | – | – |
| Валин | 0,11 ± 0,01 | 0,09 ± 0,03 | 0,10 ± 0,00 | 0,17 ± 0,10 | 0,13 ± 0,050 | 0,15 ± 0,03 |
| Лейцин | 0,28 ± 0,06 | 0,19 ± 0,05 | 0,24 ± 0,02 | 0,53 ± 0,15 | 0,44 ± 0,16 | 0,45 ± 0,07 |
| Изолейцин | 0,12 ± 0,01 | 0,08 ± 0,01 | 0,10 ± 0,01 | 0,13 ± 0,01 | 0,09 ± 0,08 | 0,11 ± 0,00 |
| **Сумма незаменимых аминокислот** | **1,23 ± 0,26** | **1,07 ± 0,22** | **1,16 ± 0,15** | **1,92 ± 0,24** | **1,60 ± 0,33** | **1,70 ± 0,21** |
| **Общая сумма аминокислот** | **6,71 ± 0,56** | **5,23 ± 0,48** | **6,06 ± 0,34** | **6,56 ± 0,37** | **5,18 ± 0,41** | **5,79 ± 0,24** |

Примечание: *$p < 0,05$; **$p < 0,01$; ***$p < 0,001$ – разница достоверна при сравнении гидролизатов, полученных разными технологиями из аналогичного сырья

Note: *$p < 0.05$; **$p < 0.01$; ***$p < 0.001$ – the difference is significant in comparing hydrolysates from similar raw materials obtained by different technologies

на 17 % при гидролизе шкур и на 67 % при гидролизе сухожилий. Высокий уровень аминного азота в ферментативных гидролизатах из сухожилий может свидетельствовать о высокой субстратной специфичности применяемых ферментов к данному виду сырья.

На следующем этапе исследования определен аминокислотный состав гидролизатов из коллагенового сырья. Полученные данные представлены в таблице 4.

Как видно из таблицы 4, по сумме заменимых аминокислот образец, полученный путем высокотемпературной экстракции, превосходил ферментативный гидролизат в среднем на 16–20 % в зависимости от вида сырья. Показано достоверное увеличение содержания оксипролина, глутаминовой кислоты и треонина при высокотемпературном гидролизе по сравнению с экстрактом, полученным при ферментативном гидролизе. Количественное содержание аргинина и лизина достоверно выше в ферментативных гидролизатах.

Исходя из результатов анализа качественного и количественного состава аминокислот гидролизатов из коллагенсодержащего сырья маралов, показано, что объединенные гидролизаты, полученные при гидролизе шкуры и сухожилий, взятых в равном соотношении, практически не отличаются от гидролизатов, полученных при гидролизе отдельно шкуры и сухожилий. Использование шкуры при получении коллагена является экономически более целесообразным ввиду низкой стоимости сырья.

На завершающем этапе для получения концентрированного продукта с высоким содержанием питательных компонентов гидролизаты высушили до влажности 6–10 % и провели оценку биохимического и аминокислотного состава готового продукта. Результаты представлены в таблице 5.

Согласно данным биохимического состава, уровень белка в гидролизованном коллагене составил 88,1 % при влажности готового продукта 6,1 %. Показано высокое содержание коллагена в продукте, массовая доля которого составила 87,7 % от массы белка. В числе других компонентов сухого вещества отмечены

Таблица 5. Биохимический состав гидролизованного коллагена маралов (n = 5)

Table 5. Biochemical composition of hydrolyzed maral collagen (n = 5)

| Химический состав (M ± m) | |
|---|---|
| Массовая доля сухого вещества, % | 93,90 ± 1,25 |
| Массовая доля жира, % | 1,60 ± 0,07 |
| Массовая доля белка, % | 88,11 ± 0,15 |
| Массовая доля золы, % | 4,22 ± 0,05 |
| Массовая доля влаги, % | 6,10 ± 0,11 |
| Массовая доля коллагена, % | 77,30 ± 1,15 |
| Макроэлементы, г/кг | |
| Фосфор | 2,61 ± 0,09 |
| Кальций | 5,33 ± 0,10 |
| Магний | 0,30 ± 0,02 |
| Калий | 6,41 ± 0,11 |
| Натрий | 1,60 ± 0,09 |
| Хлор | 3,60 ± 0,25 |
| Сера | 5,44 ± 0,15 |
| Микроэлементы, мг/кг | |
| Железо | 92,70 ± 1,12 |
| Медь | 2,81 ± 0,07 |
| Цинк | 4,42 ± 0,02 |
| Марганец | 7,30 ± 0,13 |

Таблица 6. Аминокислотный состав коллагена, гидролизованного из сырья маралов (n = 5)

Table 6. Amino acid composition of collagen hydrolyzed from maral raw materials (n = 5)

| Наименование аминокислоты | Количество (M ± m), г/100 г | % от общего количества |
|---|---|---|
| Аспарагиновая кислота | 2,15 ± 0,10 | 3,58 |
| Аланин | 4,40 ± 0,35 | 7,33 |
| Глутаминовая кислота | 3,24 ± 0,11 | 5,40 |
| Оксипролин | 7,83 ± 0,56 | 13,04 |
| Пролин | 8,87 ± 0,76 | 14,78 |
| Глицин | 14,36 ± 0,96 | 23,93 |
| Серин | 2,65 ± 0,22 | 4,42 |
| Цистин+цистеин | – | – |
| Тирозин | 0,51 ± 0,07 | 0,85 |
| Аргинин | 1,61 ± 0,34 | 2,68 |
| Гистидин | 0,94 ± 0,21 | 1,57 |
| **Сумма заменимых аминокислот** | **46,56 ± 0,67** | **77,57** |
| Метионин | 0,22 ± 0,03 | 0,37 |
| Фенилаланин | 1,52 ± 0,21 | 2,53 |
| Лизин | 0,61 ± 0,09 | 1,02 |
| Треонин | 6,75 ± 0,87 | 11,25 |
| Триптофан | – | – |
| Валин | 1,36 ± 0,13 | 2,27 |
| Лейцин | 1,79 ± 0,24 | 2,98 |
| Изолейцин | 1,21 ± 0,54 | 2,02 |
| **Сумма незаменимых аминокислот** | **13,45 ± 0,32** | **22,41** |
| **Общая сумма аминокислот** | **60,02 ± 0,75** | **100,00** |

жир, присутствующий в составе продукта в минимальном количестве (1,6 %), и зольные вещества (4,2 %). По данным биохимического состава гидролизованного коллагена определена его энергетическая ценность, равная 366,8 ккал на 100 г продукта.

Зольные компоненты представлены макро- и микроэлементами. Согласно полученным данным, в гидролизованном коллагене в преобладающем количестве присутствовали калий, сера и кальций. В 100 г порошка гидролизованного коллагена содержалось в среднем 640 мг калия, 540 мг серы и 530 мг кальция. В числе других макроэлементов отмечены фосфор в количестве 260 мг/100 г, натрий – 160 мг/100 г, хлор 360 мг/100 г, а также магний в минимальном количестве 30 мг/100 г.

Из числа микроэлементов в преобладающем количестве выявлено железо 9,2 мг/100 г, в следовом количестве отмечены медь, цинк и марганец. Зольные вещества, присутствующие в составе гидролизованного коллагена, находятся в легкоусвояемой форме. В пище макро- и микроэлементы находятся в составе органических соединений, а именно связаны с белками, аминокислотами и фосфолипидами. В структуре органических соединений активность указанных элементов в организме возрастает в сотни тысяч раз по сравнению с их ионным состоянием [44]. Следовательно, данные элементы, находясь в составе продукта в минимальном количестве, могут оказывать влияние на организм человека.

Проведена оценка аминокислотного состава гидролизованного коллагена оленя. Полученные данные представлены в таблице 6.

Как видно из таблицы 6, в гидролизованном коллагене общая сумма аминокислот составила 60,02 г/100 г, из них 46,56 г/100 г заменимых аминокислот и 13,45 г/100 г незаменимых аминокислот. В коллагеновом сырье и в гидролизованном коллагене, превалирующими являлись такие аминокислоты как глицин, пролин и оксипролин. Количественное содержание аминокислот в готовом продукте увеличилось по сравнению с сырьем в 1,3–2,3 раза, исключение составили тирозин, аргинин, метионин, лизин, валин и лейцин, уровень которых достоверно не изменился.

## Выводы

Исходя из анализа аминокислотного состава коллагенового сырья маралов, можно заключить, что шкура и сухожилия лимитированы практически по всем незаменимым аминокислотам, на основании этого использование их в качестве источника белка нерационально. Однако можно рекомендовать применение для обогащения пищевых продуктов, в частности глицином, пролином и оксипролином, которые составляют 15–21 % от массы аминокислот коллагена маралов.

Установлено, что при переработке шкур и сухожилий марала для получения максимального выхода сухих

веществ целесообразно проводить гидролиз при гидромодуле 1:5. Показаны различия в концентрации аминокислот в зависимости от технологии получения, в частности при ферментации отмечено увеличенное содержание аргинина и лизина, а при высокотемпературной экстракции показано увеличение концентрации глутаминовой кислоты, оксипролина и треонина. Из результатов можно заключить, что для получения коллагенового продукта с максимальным выходом сухих веществ и количеством как заменимых, так и незаменимых аминокислот необходимо проводить поэтапный гидролиз сырья маралов, включающий как ферментативную обработку, так и высокотемпературную экстракцию, что позволит расширить спектр аминокислот и увеличить выход готового продукта.

Данные биохимического анализа коллагена, гидролизованного из сырья маралов, позволили отнести данный вид белкового продукта к первой категории в соответствии с общими техническими требованиями межгосударственного стандарта ГОСТ 33692-2015. Установлено, что коллаген, гидролизованный из сырья маралов, содержит 17 аминокислот в количестве 60,02 г/100 г, из них 46,56 г/100 г заменимых аминокислот и 13,46 г/100 г незаменимых аминокислот. Зольные компоненты в превалирующем количестве представлены калием 640 мг/100 г, серой 540 мг/100 г и кальцием 530 мг/100 г.

Анализ аминокислотного состава коллагена маралов свидетельствует о перспективности его дальнейшего применения в составе функциональных продуктов питания в качестве белкового компонента, а также в составе рационов санаторно-курортного лечения и спортивного питания.

**Критерии авторства**

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Contribution**

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

**Conflict of interest**

The authors declared no conflict of interests regarding the publication of this article.

**References/Список литературы**

1. Sun S, Gao Y, Chen J, Liu R. Identification and release kinetics of peptides from tilapia skin collagen during alcalase hydrolysis. Food Chemistry. 2022;378:132089. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132089

2. Nuñez SM, Guzmán F, Valencia P, Almonacid S, Cárdenas C. Collagen as a source of bioactive peptides: A bioinformatics approach. Electronic Journal of Biotechnology. 2020;48:101–108. https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2020.09.009

3. Palamutoğlu R, Palamutoğlu MI. Beneficial health effects of collagen hydrolysates. Studies in natural products. 2024;80:477–503. https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15589-5.00014-1

4. Wang H. A Review of the Effects of Collagen Treatment in Clinical Studies. Polymers. 2021;13(22):3868. https://doi.org/10.3390/polym13223868

5. Shavlovskaya OA, Bokova IA, Romanov ID, Shavlovsky NI. Efficacy of undenatured and hydrolyzed type II collagen in the treatment of pain syndrome. Russian Medical Inquiry. 2022;6(10):571–575. (In Russ.). https://doi.org/10.32364/2587-6821-2022-6-10-571-575

6. Gromova OA, Torshin IYu, Lila AM, Shavlovskaya OA. On the prospects for the use of undenatured type II collagen in the treatment of osteoarthritis and other joint diseases. Modern Rheumatology Journal. 2022;16(4):111–116. http://doi.org/10.14412/1996-7012-2022-4-111-116

7. Oslan SNH, Li CX, Shapawi R, Mokhtar RAM, Noordin WN, Huda N. Extraction and Characterization of Bioactive Fish By-Product Collagen as Promising for Potential Wound Healing agent in Pharmaceutical Applications: Current Trend and Future Perspective. International of Food Science. 2022;9437878. https://doi.org/10.1155/2022/9437878

8. Xu R, Wu J, Zheng L, Zhao M. Undenatured type II collagen and its role in improving osteoarthritis. Ageing Research Reviews. 2023;91:102080. https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.102080

9. Kıyak BD, Çınkır NI, Çelebi Y, Malçok SD, Koç GC, Adal S, Yüksel AN, *et al.* Advanced technologies for the collagen extraction from food waste – A review on recent progress. Microchemical Journal. 2024;201:110404. https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110404

10. Gao R, Yu Q, Shen Y, Chu Q, Chen G, Fenet S, *et al.* Production, bioactive properties, and potential applications of fish protein hydrolysates: Developments and challenges. Trends in Food Science and technology. 2021;110:687–699. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.031

11. Du B, Deng G, Zaman F, Ma H, Li X, Chen J, *et al.* Huang Antioxidant cuttlefish collagen hydrolysate against ethyl carbamate-induced oxidative damage. Royal Society of Chemistry. 2021;11:2337–2345. https://doi.org/10.1039/d0ra08487e

12. Shikh EV. Clinical and pharmacological aspects of application of hydrolyzed collagen of the second type for prevention and treatment of osteoarthrosis. Pharmacology and Pharmacotherapy. 2021;(4):10–18. (In Russ.). https://doi.org/10.46393/2713-2129_2021_4_10_18. https://elibrary.ru/SNKUBE

13. Guo Z, Yi D, Hu B, Zhu L, Zhang J, Yang Y, *et al.* Supplementation with yak *(Bos grunniens)* bone collagen hydrolysate altered the structure of gut microbiota and elevated short-chain fatty acid production in mice. Food Science and Human Wellness. 2023;12(5):1637–1645. http://doi.org/10.1016/j.fshw.2023.02.017

14. González-Noriega JA, Valenzuela-Melendres M, Hernández–Mendoza A, Astiazarán-García H, Ángel Mazorra-Manzano M, Peña-Ramos EA. Hydrolysates and peptide fractions from pork and chicken skin collagen as pancreatic lipase inhibitors. Food Chemistry:X. 2022;13:100247. http://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100247

15. Qi L, Zhang H, Guo Y, Zhang C, Xu Y. A novel calcium-binding peptide from bovine bone collagen hydrolysate and chelation mechanism and calcium absorption activity of peptide-calcium chelate. Food Chemistry. 2023;410:135387. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135387

16. Li B, Chen F, Wang X, Ji B, Wu Y. Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysat by conescutive xhromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. Food Chemistry. 2007;102(4):1135–1143. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.002

17. Wang H, Tu Z, Wang H. Preparation of high content collagen peptides and study of their biological activities. Food Research International. 2023;174:113561. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113561

18. Espinales C, Romero-Pena M, Calderon G, Vergara K, Caceres PJ, Castillo P. Collagen, protein hydrolysates and chitin from by-products of fish and shellfish: An overview. Heliyon. 2023;9(4):e14937. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14937

19. Zhou Z. Zhao D, Zhang P, Zhang M, Leng X, Yao B. The enzymatic hydrolysates from deer sinew promote MC3T3-E1 cell proliferation and extracellular matrix synthesis by regulating multiple functional genes. BMC Complementary Medicine and Therapies. 2021;21:59. https://doi.org/10.1186/s12906-021-03240-2

20. Zhang H, Dong Y, Qi B, Liu L, Zhou G, Bai X, *et al.* Preventive effects of collagen peptide from deer sinew on bone loss in ovariectomized rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2014;2014(1):627285. https://doi.org/10.1155/2014/627285

21. Zhang H, Zhao Y, Li YQ, Sun XD. Bai XY, Zhao DQ. Effects of deer tendons collagen on osteoporosis rats induced by retinoic acid. Zhong Yao Cai. 2010;33(3):411–414.

22. Wang I-L, Hsiao C-Y, Shen J, Wang Y, Huang C-C, Chen Y-M. The effects of Jilin sika Deer's *(Cervus dybowski)* tendon liquid supplementation on endurance drop jumps performance, biochemistry profile of free boxing players. Journal Ethnopharmacology. 2019;245:112119. https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112119

23. Xu X, Wang D, Li J, Zeng X, Zhang Z, Zhu J, *et.al.* Collagen hydrolysates from deer tendon: Preparation assisted with different ultrasound pretreatment times and promotion in MC3T3-E1 cell proliferation and antioxidant activities. Process Biochemistry. 2023;133:228–240. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.09.010

24. Krotova MG, Lunitsyn VG. Effectiveness of using enzymes of microbial origin in maral raw stuff processing. Siberian Herald of Agricultural Science. 2017;47(5):97–103. (In Russ.). https://doi.org/10.26898/0370-8799-2017-5-12; https://elibrary.ru/TLOWWE

25. Krotova MG. Improving the technology of hydrolysis of marals' raw materials. Bulletin of KSAU. 2020;(5):147–152. (In Russ.). https://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-5-147-152; https://elibrary.ru/BABKSV

26. Goto S, Nagao K, Bannai M, Takahashi M, Nakahara K, Kangawa K, *et al*. Anorexia in rats caused by a valine-deficient diet is not ameliorated by systemic ghrelin treatment. Neuroscience. 2010;166(1):333–340. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.12.013

27. Worlanyo HG, Jiang S, Yu Y, Liu B, Zhou Q, Sun C, *et.al.* Effects of dietary threonine on growth and immune response of oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*). Fish and Shellfish Immunology. 2022;128:288–299. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.07.072

28. Chanmangkang S, Maneerote J, Surayot U, Panya A, You S, Wangtueai S. Physicochemical and biological properties of collagens obtained from tuna tendon by using the ultrasound-assisted extraction. Journal of Agriculture and Food Research. 2024;15:100984. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.100984

29. Guo H, Zhang Q, Liu X, Zhang H, Wang S. Wen X, *et al.* Dietary hydroxyproline promotes collagen deposition in swim bladder through regulating biosynthesis of amino acid: In-vitro and in-vivo investigations in *Nibea coibor*. Aquaculture. 2023;573:739614. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739614

30. Sun, T, Qiang S, Lu C, Xu F. Composition-dependent energetic contribution of complex salt bridges to collagen stability. Biophysical Journal. 2021;120:3429–3436. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2021.05.028

31. Yu C-H, Khare E, Narayan OP, Parker R, Kaplan DL, Buehler J. ColaGen: An end-to-end deep learning model to predict thermal stability of de novo collagen sequences. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2022;125:104921. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104921

32. Petcharat T, Benjakul S, Karnjanapratum S, Nalinanon S. Ultrasound-assisted extraction of collagen from clown featherback (*Chitala ornata*) skin: yield and molecular characteristics. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2021;101(2):648–658. https://doi.org/10.1002/jsfa.10677

33. Tekeev AA. The importance of collagen in the biological value of meat. Hygiene and Sanitation. 1997;2:16–19. (In Russ.). [Текеев А. А. Значение коллагена в биологической ценности мяса // Гигиена питания. 1997. Т. 2. С. 16–19.].

34. Yaremenko OB, Anokhina HA, Burianov OA. Joint. Cartilage. Collagen. Injury. 2020;21(4):6–12. (In Russ.). https://doi.org/10.22141/1608-1706.4.21.2020.212531; https://elibrary.ru/BJFWDU

35. Hernández-Ruiz KL, López-Cervantes J, Sánchez-Machado DI, Campas-Baypoli ON, Quintero-Guerrero AA, Grijalva-Delgado MdeL. Collagen peptide fractions from tilapia (*Oreochromis aureus* Steindachner, 1864) scales: Chemical characterization and biological activity. Food Bioscience. 2023;53:102658. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102658

36. Guo L, Harnedy PA, Li B, Hou H, Zhang Z, Zhao X, *et al.* Food protein-derived chelating peptides: biofunctional ingredients for dietary mineral bioavailability enhancement. Trends Food Science and Technology. 2014;37(2):92–105. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.02.007

37. Lee SH, Song KB. Isolation of a calcium-binding peptide from enzymatic hydrolysates of porcine blood plasma protein. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. 2009;52:290–294. https://doi.org/10.3839/jksabc.2009.051

38. Lee HS, Oh KJ, Moon YW, In Y, Lee HJ, Kwon SY. Intra-articular injection of type I Atelocollagen to alleviate knee pain: a double-blind, randomized controlled trial. Cartilage. 2021;13(1):342–350. https://doi.org/10.1177/1947603519865304

39. Ren B, Yue K, Zhang Y, Fu Y. Collagen-derived peptides as prebiotics to improve gut health. Current Opinion in Food Science. 2024;55:101123. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2024.101123

40. Ahmed M, Verma AK, Patel R. Collagen extraction and recent biological activities of collagen peptides derived from sea-food waste: A review. Sustainable Chemistry and Pharmacy. 2020;18:100315. https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100315

41. Gharehbeglou P, Sarabandi K, Akbarbaglu Z. Insights into enzymatic hydrolysis: Exploring effects on antioxidant and functional properties of bioactive peptides from Chlorella proteins. Journal of Agriculture and Food Research. 2024;16:101129. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101129

42. Mohanty U, Majumdar RK, Mohanty B, Mehta NK, Parhi J. Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysates from visceral waste of *Labeo rohita*. Food Science Technology. 2021;58(11):4349–4358. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04915-3

43. Bai L, Tian X, Wang Y, Zhang K, Guo J, Ma C, *et al.* Antioxidant activity during in vitro gastrointestinal digestion and the mode of action with tannins of cowhide-derived collagen hydrolysates: The effects of molecular weight. Food Bioscience. 2023;53:102773. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102773

44. Viktorova EP, Bokovikova TN, Lisovaya EV. The relevance of creating chelate complexes of biogenic metals and phospholipids for the enrichment of food products. Technologies of the Food and Processing Industry of the Agro-Industrial Complex-Healthy Food Products. 2019;(2):46–50. (In Russ.). [Викторова Е. П., Боковикова Т. Н., Лисовая Е. В. Актуальность создания хелатных комплексов биогенных металлов и фосфолипидов для обогащения продуктов питания // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. 2019. № 2. С. 46–50.].