УДК 544.773.432, 547.485.5

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ ФОРМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПРОЦЕССЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА IN VITRO

ЕВТЕЕВ Александр Викторович, *Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова*

ГОРБУНОВА Наталья Владимировна, *Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова*

РАЗУМОВА Людмила Сергеевна, *Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова*

КРЕПНЕВА Анастасия Алексеевна, *Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова*

БАННИКОВА Анна Владимировна, *Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова*

Рассмотрены возможности создания инкапсулированных форм эссенциальных жирных кислот и дана оценка их поведения в условиях ферментативного гидролиза. Исследования степени набухания показали, что все капсулы уменьшаются в размерах в условиях «искусственного желудка» в связи с протонированием свободных карбоксилатных групп растительного биополимера, используемого в качестве стеночного материала. В условиях «искусственного кишечника» капсулы демонстрировали набухание (≈ 40 %). Изменения в размере капсул, содержащих 20 и 40 % эссенциальных жирных кислот, были равнозначны. Установлено, что увеличение содержания жирных кислот ведет к уменьшению прочности геля и, как следствие, к снижению модуля Юнга. Во время кишечной фазы модуль Юнга разработанных инкапсулированных форм статистически не различался в связи с набуханием и дроблением полимерной сетки. Полученные данные позволяют рассматривать разработанные капсулы в качестве защитного средства для предотвращения окисления эссенциальных жирных кислот, а также их контролируемой доставки.

Основным фактором, влияющим на общее состояние и здоровье человека, является питание. Адекватное, сбалансированное питание обеспечивает нормальную жизнь человека, способствует профилактике заболеваний, повышению работоспособности, создает условия для укрепления иммунной системы. Жирные кислоты – это основные строительные блоки в жирах, содержащихся не только в тканях человека, но и в пищевых продуктах. Они являются важным источником энергии для любого организма. Эссенциальные жирные кислоты занимают большую часть в составе защитной оболочки (мембраны), окружающей любую клетку [1, 4].

Многие эксперты считают, что приблизительно 80 % населения нашей страны потребляет недостаточное количество эссенциальных жирных кислот. Ежедневная потребность в них равна 10–20 % от общего количества получаемых калорий. Недостаточность этих нутриентов представляет серьезную угрозу для здоровья. Массовая промышленная переработка жиров, масел и содержащих их пищевых продуктов в значительной мере снизила содержание эссенциальных жирных кислот в нашем пищевом рационе. Вместе с тем значительно увеличилось количество ненатуральных жиров, добавляемых в виде трансжирных кислот и частично гидрогенизированных масел. Если в 1909 г. население потребляло около 125 г жира в день, то сегодня оно потребляет почти 175 г в день, что на 40 % больше. По мере того как снижалось потребление натуральных эссенциальных

жирных кислот радикально повышалось потребление рафинированных жиров. Анализ литературных данных показывает, что современная технология изменяет химический состав жирных кислот в маслах так, что человеческий организм не в состоянии усвоить их в дальнейшем.

В целях сохранения чувствительных к внешнему воздействию витаминов, антиоксидантов, ферментов, эссенциальных жирных кислот, пептидов, белков и микробных клеток в пищевой промышленности уже более 75 лет используются микрокапсулы [2, 6]. Инкапсуляция предполагает защиту включенного элемента от внешних воздействий и его контролируемое высвобождение.

Особенностью эссенциальных жирных кислот является то, что они чувствительны к свету, нагреванию и контакту с воздухом. Это порождает образование токсичных окисей и свободных радикалов. В этой связи их защита и иммобилизация являются актуальным направлением исследований [3]. В литературе описано много примеров инкапсулирования масел, красителей, ароматизаторов, белков, витаминов и других веществ, однако недостаточно сведений по сравнению различных способов инкапсуляции, степени биодоступности инкапсулированного ингредиента и проявлению заданных физиологически ценных свойств.

Целью настоящей работы является создание инкапсулированных форм жирных кислот и исследование их параметров набухания и механических свойств в зависимости от содержания инкапсулируемого вещества в процессе ферментативного гидролиза.

Методика исследований. Для приготовления капсул в водный 1,5%-й раствор альгината натрия вносили 20 и 40 % модельных эссенциальных жирных кислот. Эмульсию тщательно смешивали, гомогенизировали, а затем капли, сформированные с помощью делительной иглы диаметром 0,5 мм, добавляли в 0,012 М раствор хлорида кальция для образования сфер диаметром 1,5–2 мм. Полученные капсулы хранили в 0,01 М растворе $CaCl_2$.

Деградацию капсул исследовали в ходе имитации модели переваривания в желудочных и кишечных соках. Модельный «искусственный желудок»: 2%-й раствор NaCl в деионизированной воде, pH 2 (1 М HCl), пепсин 3600 U/мл, температура 37 °С. Образцы инкубировали на водяной бане при постоянном встряхивании в течение заданного времени (120 мин). Модельный «искусственный кишечник»: 0,68 % одноосновного фосфата калия, 0,1 % солей желчных кислот, 0,4 % панкреатина, pH 7,5 (0,5 М NaOH), температура 37 °С. Образцы инкубировали на водяной бане при постоянном встряхивании в течение заданного времени (≈ 20 мин).

Степень набухания капсул определяли в условиях ферментативного гидролиза по следующей формуле:

$$S = 100\frac{m_f - m_i}{m_i},$$

где S – степень набухания капсул; m_f – конечная масса капсулы; m_i – начальная масса капсулы [6, 7].

Текстурный анализ: сжатие капсул, прошедших условия ферментативного гидролиза in vitro, проводили с помощью анализатора текстуры Brookfield CT3-4500. Измерительная проба состояла из цилиндрического алюминиевого зонда (диаметр 6 мм), которым сжимали образец на 30 % от первоначальной высоты капсулы при 1,5 мм/с с нагрузкой 0,067 М. В целях получения статистически репрезентативных результатов было сжато тридцать капсул каждого образца. Все эксперименты проводили при комнатной температуре (22 ± 1 °С).

Модуль Юнга рассчитывали используя следующее уравнение [6]:

$$E = \frac{3 \times (1 - \nu^2) \times F}{\sqrt{d \times H^3}},$$

где ν – коэффициент Пуассона; F – сила, приложенная к капсуле, Н; d – диаметр капсулы, мм; H – смещение, м.

Результаты исследований. Биодоступность микронутриента характеризуется такими факторами, как состав рациона (определяет время прохождения пищи через кишечник, вязкость и эмульсионные характеристики пищи, pH), форма микронутриента (определяет скорость и степень его всасывания, стабильность в желудке и кишечнике при переваривании и метаболическую функциональность, то есть легкость превращения в метаболически активные или коферментные формы),

взаимодействие между микронутриентом и другими микро- и макрокомпонентами пищи [6]. Следует учитывать, что взаимодействие микро- и макронутриентов может оказывать не только прямое разрушающее или инактивирующее воздействие, но и косвенное влияние на снижение степени всасывания микронутриента в кишечнике.

Степень набухания разработанных капсул в модельных условиях желудочно-кишечного тракта изображена на рис. 1. В результате исследования выявлена похожая тенденция для двух видов капсул, заключающаяся в уменьшении размеров в условиях, где pH ниже 2. Наблюдения показали, что уменьшение в размере капсул, содержащих 20 и 40 % эссенциальных жирных кислот, было равнозначным (±2,22). Анализ литературных источников показал, что данное сокращение в структуре геля альгината происходит за счет протонирования его свободных карбоксилатных групп, позволяя альгинатной цепи сближаться и образовывать водородные связи [5].

В стадии модельного «искусственного кишечника» все капсулы стали набухать в различной степени в связи с увеличением электростатических сил отталкивания, что впоследствии привело к распаду капсул.

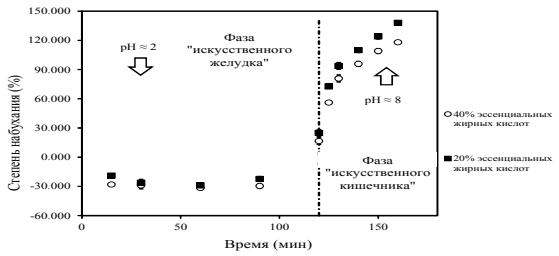

Рис. 1. Степень набухания капсул в модельных условиях желудочно-кишечного тракта

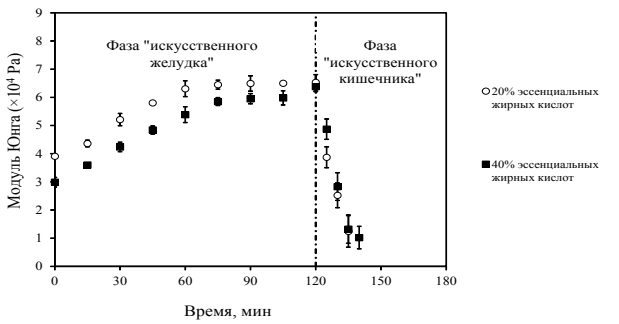

Рис. 2. Модуль Юнга капсул в модельных условиях желудочно-кишечного тракта

Механические свойства капсул были охарактеризованы с помощью модуля Юнга (рис. 2). Показано, что прочность капсул значительно различалась в зависимости от количества инкапсулируемых жирных кислот. Увеличение содержания жирных кислот привело к уменьшению прочности геля и, как следствие, снижению модуля Юнга. Выявлено, что капсулы, содержащие 40 % жирных кислот, обладали недостаточной способностью к инкапсуляции всех биологически активных веществ. Это имеет значение в будущих разработках для определения количества инкапсулируемого вещества.

Оба вида капсул демонстрировали снижение прочности во время фазы «искусственного кишечника», что связано с более открытой пористой структурой геля. Во время кишечной фазы модуль Юнга статистически не различался в связи с набуханием и дроблением полимерной сетки. Таким образом, было отмечено, что структура капсул в конце фазы «модельного желудка» была гораздо более плотная, чем структура геля, наблюдаемая в конце кишечной фазы. Возрастающая пористость геля увеличивает шарики, что в конечном счете приводит к разрушению и высвобождению инкапсулируемого ингредиента.

Полученные данные позволяют рассматривать разработанные капсулы в качестве защитного средства для предотвращения окисления эссенциальных жирных кислот, а также их контролируемой доставки. Следующий этап работы – изучение изменений количества инкапсулированного соединения в процессе ферментативного гидролиза *in vitro* с учетом разрушения капсул и высвобождения биологически активных веществ.

Выводы. Интерес данного исследования заключается в совершенствовании технологии приготовления капсул для защиты и контролируемого высвобождения модельных микронутриентов. При изучении влияния условий модельного ЖКТ наблюдали заметное уплотнение геля капсул из композиционных материалов при низких pH, что предполагает усиление межмолекулярных взаимодействий полимера.

Показано сжатие капсул в условиях модельного «искусственного желудка», в то время как в кишечной фазе коэффициент набухания капсул был увеличен. Исследования механических свойств выявили, что получен-

ные капсулы в конечном итоге распадаются в течение 160 мин модельного пищеварения, подтверждая таким образом возможность «управляемой доставки» биоактивных компонентов.

Перспективы промышленного применения данных технологических решений заключаются в защите и контролируемом транспорте веществ, что впоследствии имеет важное значение в разработке «функциональных продуктов» и продуктов спортивного и детского питания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Банникова А.В.* Разработка технологии инкапсулированных форм белков и антиоксидантов // Современная наука и инновации. – 2016. – № 1 (16). – С. 56–60.

2. *Горбунова Н.В., Банникова А.В.* Практические аспекты создания и исследование инкапсулированных форм аскорбиновой кислоты в условиях ферментативного гидролиза // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. – 2016. – № 2 (37). – С. 35–40.

3. *Горбунова Н.В., Банникова А.В.* Совершенствование получения биополимерных матриц адресной доставки инкапсулированных форм биологически активных веществ // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – № 6 (2). – С. 65–70.

4. *Замощина Т.А.* Лекарства и пища // Новая аптека. – 2010. – № 9. – С. 57–60.

5. Оценка возможности применения полислойных капсул на основе пищевых волокон в качестве средств адресной доставки биоактивных белков / Л.С. Разумова [и др.] // Аграрный научный журнал. – 2016. – № 8. – С. 75–78.

6. *Gorbunova N., Evteev A., Evdokomov I.* Kinetics of ascorbic acid transport from alginate materials during in vitro digestion // Journal of Food and Nutrition Research, 2016, No. 55 (2), P. 148–158.

7. Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 1: In vitro characterization / P. Rayment, P. Wright, C. Hoad, E. Ciampi, D. Haydock, P. Gowland, M.F. Butler // Food Hydrocolloids, 2009, No. 23, P. 816–822.

Евтеев Александр Викторович, *ведущий специалист УНИЛ по определению качества пищевой и сельскохозяйственной продукции, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.*

Горбунова Наталья Владимировна, *аспирант кафедры «Технологии продуктов питания», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.*

Разумова Людмила Сергеевна, *аспирант кафедры «Технологии продуктов питания», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.*

Крепнева Анастасия Алексеевна, *аспирант кафедры «Технологии продуктов питания», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.*

Банникова Анна Владимировна, *канд. техн. наук, доцент кафедры «Технологии продуктов питания», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.*

410005, г. Саратов, ул. Соколовая, 335.

Тел.: (8542) 69-25-32.

Ключевые слова: *инкапсуляция; набухание; механические свойства; ферментативный гидролиз.*

THE PHYSICAL PROPERTIES OF ENCAPSULATED FORMS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES DURING ENZYMATIC HYDROLYSIS IN VITRO

Evteev Aleksandr Viktorovich, *Head Researcher of the Laboratory of Quality Determination of Foods and Agricultural Products, Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.*

Gorbunova Natalya Vladimirovna, *Post-graduate Student of the chair "Food Technology", Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.*

Razumova Lyudmila Sergeevna, *Post-graduate Student of the chair "Food Technology", Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.*

Krepneva Anastasia Alekseevna, *Post-graduate Student of the chair "Food Technology", Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.*

Bannikova Anna Vladimirovna, *Candidate of Technical Sciences, Associate Professor of the chair "Technologies of Foodstuffs", Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.*

Keywords: *encapsulation; swelling; mechanical properties; enzymatic hydrolysis.*

This work deals with evaluation of possibility of encapsulated form of essential fatty acids development and their behavior during the enzymatic hydrolysis. Studies on the degree of swelling show that all capsules are reduced in size in "artificial stomach" due to the protonation of the free carboxylate groups of plant biopolymer used as the wall material, while capsules in the conditions of "artificial gut" showed swelling (≈ 40%). Observations showed that changes in the size of capsules containing 20 and 40% of essential fatty acids were similar. It has been revealed that increasing of the content of fatty acids leads to a decrease in gel strength and, consequently, a decrease in Young's modulus. During the intestinal phase, Young's modulus of the encapsulated form was not statistically different due to swelling and fragmentation of the polymer network. The data obtained allow considering the designed capsules as a protective material to prevent oxidation of essential fatty acids and their controlled delivery.