

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Доржиева М.В., Хамаганова И.В. Актуальность производства специализированных продуктов питания при изменении возрастной структуры населения // Инновационные технологии в пищевой промышленности: наука, образование и производство: сборник материалов V Международной научно-технической конференции. – Воронеж: Изд-во ВГУИТ, 2018. С. 358-362.
2. Закон Республики Бурятия от 18 марта 2019 г. №360-VI «О Стратегии социально-экономического развития Республики Бурятия на период до 2035 года» (принят Народным Хуралом Республики Бурятия 28 февраля 2019 г. (с изменениями и дополнениями).
3. Тармаева И.Ю., Ефимова Н.В., Ханхареев С.С., Богданова О.Г. Особенности фактического питания взрослого населения Республики Бурятия в современных условиях // Вопросы питания. 2018. Т. 87, № 3. С. 30-35. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10028.
4. <http://03.rospotrebnadzor.ru/content/165/12149/>.
5. <http://03.rospotrebnadzor.ru/content/165/12141/>.

УДК 547.458.6+637.144.5

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КЛАТРАТОВ β-ЦИКЛОДЕКСТРИНА С ПЕПТИДАМИ СЫВОРОТКИ МОЛОКА

Головач Т.Н.¹, Цыганков В.Г.², Бондарук А.М.²,
Журихина Л.Н.², Свинтилова Т.Н.², Курченко В.П.¹

¹ Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

² РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь

*По результатам токсиколого-гигиенической оценки на тест-объекте *Tetrahymena pyriformis* опытные образцы клатратов β-циклодекстрина с гидролизатом белков молочной сыворотки относятся к 4 и 5 классу опасности, что соответствует малоопасным и не токсичным соединениям. Так, получены комплексы включения циклического олигосахаридов с пептидами сывороточных белков молока, которые могут быть использованы в качестве биологически активного компонента для специализированных пищевых продуктов.*

Ключевые слова: гидролизат сывороточных белков, β-циклодекстрин, комплексы включения, токсиколого-гигиеническая оценка, инфузории *Tetrahymena pyriformis*.

TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC EVALUATION OF β-CYCLODEXTRIN CLATHRATES WITH WHEY PEPTIDES

Halavach T.M.¹, Zhygankov V.G.², Bondaruk A.M.²,
Zhurikhina L.N.², Svintilova T.N.², Kurchenko V.P.¹

¹ Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

² RUE «Scientific Practical Centre of Hygiene», Minsk, Republic of Belarus

According to toxicological and hygienic evaluation with test object *Tetrahymena pyriformis*, experimental samples of β -cyclodextrin clathrates with hydrolysate of whey proteins belong to toxicity class 4 and 5, which corresponds to low-hazard and non-toxic compounds. Thus, the obtained inclusion complexes of cyclic oligosaccharide with whey peptides can be used as a biologically active ingredient for specialized food products.

Keywords: whey protein hydrolysate, β -cyclodextrin, inclusion complexes, toxicological and hygienic evaluation, infusoria *Tetrahymena pyriformis*.

Введение. Циклодекстрины – циклические олигосахариды со специфической конусообразной пространственной структурой, включающей гидрофобную полость, что обуславливает формирование комплексов включения с различными соединениями [3]. Известно, что белковые гидролизаты с глубокой степенью гидролиза обладают выраженной горечью; это ограничивает их применение как компонента продуктов питания [1].

Согласно данным литературы [5, 6] и проведенным ранее исследованиям [8] формирование комплексов включения с циклическими олигосахаридами (α - и β -ЦД) приводит к уменьшению горечи пептидов сыворотки молока и возрастанию их антиоксидантной активности. В связи с широким применением клатратов в пищевой промышленности актуальным является проведение токсиколого-гигиенической оценки полученных образцов клатратов β -ЦД с гидролизатом сывороточных белков молока.

Оценка безвредности некоторых видов пищевой продукции, в частности специализированной, осуществляется с применением лабораторных животных (крысы, мыши, морские свинки). Альтернативные биомодели должны отвечать ряду требований: обладать сопоставимостью с физиологической реакцией высших животных, отличаться быстротой и экономичностью по сравнению с традиционными методами, а также специфическими свойствами, позволяющими расширить представление о спектре действия тестируемого фактора на биосистему. В настоящее время инфузории *Tetrahymena pyriformis* достаточно успешно используют для разнообразных биологических исследований, в том числе для оценки токсичности и биологической ценности пищевых продуктов и кормов [2, 4].

Преимущества *T. pyriformis* как тест-объекта состоят в следующем: 1) инфузории являются одновременно и клеткой, и эукариотическим организмом, что позволяет оценивать и проводить аналогии при воздействии пищевых продуктов как на клеточном, так и организменном уровнях; 2) по своим основным биохимическим показателям и биологическим потребностям *T. pyriformis* в большей степени, чем другие модели, подобны высшим организмам; 3) многие тест-функции инфузорий соответствуют основным показателям жизнедеятельности высших животных [7]. Таким образом, инфузории *T. pyriformis* являются универсальным тест-организмом, пригодным для изучения безопасности и биологической ценности пищевой продукции, для биологической оценки широкого спектра объектов природного и искусственного происхождения.

Цель работы – провести токсиколого-гигиеническую оценку образцов клатратов β -циклодекстрина с гидролизатом белков молочной сыворотки при воздействии на тест-объект (инфузории *T. pyriformis*).

Материалы и методы исследования. В экспериментальной работе использовали 4 комплекса β -циклодекстрина с гидролизатом сывороточных белков молока. Комплексы получены при содержании гидролизата 5 %, внесении β -циклодекстрина в количестве 3 и 5 %, а также при различных температурных режимах: комплекс (I) – гидролизат 5 % + β -ЦД

3 % – 25 °С; комплекс (II) – гидролизат 5 % + β-ЦД 5 % – 25 °С; комплекс (III) – гидролизат 5 % + β-ЦД 3 % – 50 °С; комплекс (IV) – гидролизат 5 % + β-ЦД 5 % – 50 °С. Образцы получены в НИЛ прикладных проблем биологии (Белорусский государственный университет) согласно методике, представленной в работе [8].

В Республиканском унитарном предприятии «Научно-практический центр гигиены» разработана оригинальная экспресс-методология комплексной токсикологической оценки объектов на инфузориях *T. pyriformis*. Принцип методов исследований на данном тест-объекте заключается в анализе характера роста популяции в среде культивирования, содержащей исследуемые объекты. О токсичности судили по времени 50 % гибели организмов в среде с определенной концентрацией токсиканта (ЛД₅₀).

Результаты и их обсуждение. Первичную токсикологическую оценку объектов осуществляли на тест-объекте *T. pyriformis* в стационарной фазе роста в стандартной питательной среде при 25 °С. Эффект токсического действия оценивали по альтернативному состоянию «жизнь – смерть» [7]. Готовили суспензии с содержанием клатратов 100, 200 и 250 мг/мл, доводили рН суспензий до 7,1–7,2 ед. По 1 мл раствора каждой концентрации вносили в два десятиллилитровых флакона. В каждую пробу добавляли инокулят инфузорий в стационарной фазе роста (100 000±1000 организмов).

При постановке острого эксперимента пробы инкубировали при 25 °С в течение 2–3 ч, при проведении подострого эксперимента – в течение 24 ч. После стадии инкубации под микроскопом в нативном препарате наблюдали картину интоксикации. В счетной камере Фукса-Розенталя подсчитывали число погибших инфузорий до их фиксации и общее число инфузорий после фиксации 5 % раствором йода. При подсчете % летальности учитывали число лизированных организмов. Пробит-анализ прямой летальности проводили с использованием метода В.Б. Прозоровского [9].

Согласно результатам расчета % летальности тест-объекта в остром и подостром экспериментах устанавливали основные параметры токсичности (ЛД₁₆, ЛД₅₀, ЛД₈₄). Коэффициент кумуляции в остром эксперименте (К_{кум}_{Mac}) рассчитывали отношением ЛД₅₀ подострого эксперимента к ЛД₅₀ острого эксперимента. По итогам оценки образцов на *T. pyriformis* осуществляли их гигиеническую классификацию по показателям токсичности и опасности, как представлено в таблице 1. Отнесение исследуемого объекта к классу опасности производили по показателю, значение которого соответствует наиболее высокому классу опасности.

Таблица 1 – Гигиеническая классификация объектов по результатам изучения их токсичности на *T. pyriformis*

Показатель	Классы по убывающей степени токсичности и опасности				
	1 (чрезвычайно опасные)	2 (высоко опасные)	3 (умеренно опасные)	4 (мало опасные)	5 (не токсичные)
ЛД ₅₀ , мг/мл	менее 0,1	0,1–1,0	1,1–20	21–50	более 50
К _{кум} _{Mac}	менее 0,1	0,10–0,30	0,31–0,49	0,50–1,0	более 1,0

Представлена сравнительная оценка параметров токсичности комплексов включения β-ЦД с пептидами сывороточных белков молока, полученных при различных температурных режимах, на *T. pyriformis*.

Согласно установленной среднесмертельной дозе (ЛД₅₀) все исследованные комплексы I–IV относятся к 5 классу опасности (неопасные вещества). В соответствии с коэффициентом кумуляции (Ккум_{acuta}) комплексы I и II (5 % гидролизат с 3 % β-ЦД и 5 % гидролизат с 5% β-ЦД, полученные при 25 °С) также являются неопасными веществами (5 класс опасности). Исследованные комплексы III и IV (5 % гидролизат с 3 % β-ЦД и 5 % гидролизат с 5% β-ЦД, изготовленные при 50 °С) согласно коэффициенту кумуляции относятся к 4 классу опасности (малоопасное вещество).

Таблица 2 – Показатели токсичности комплексов β-ЦД с гидролизатом сывороточных белков молока, полученных при различных температурных режимах, на *T. pyriformis*

Показатель токсичности	Комплекс I (5 % гидролизат с 3 % β-ЦД, полученный при 25 °С)	Комплекс II (5 % гидролизат с 3% β-ЦД, полученный при 50 °С)	Комплекс III (5 % гидролизат с 5 % β-ЦД, полученный при 25 °С)	Комплекс IV (5 % гидролизат с 3% β-ЦД, полученный при 50 °С)
ЛД ₅₀ , мг/мл	400,68 ± 2,09	371,41 ± 2,46	339,82 ± 8,29	357,28 ± 3,45
Класс опасности (ЛД ₅₀)	5	5	5	5
Ккум _{acuta}	1,00 ± 0,004	0,99 ± 0,02	1,02 ± 0,03	0,84 ± 0,04
Класс опасности (Ккум _{acuta})	5	4	5	4

Заключение. По результатам первичной токсиколого-гигиенической оценки на тест-объекте *T. pyriformis* установлено, что в среднесмертельной дозе комплексы включения β-ЦД с пептидами, полученные при 25 °С, относятся к 5 классу опасности (неопасные). Наряду с этим, комплексы циклического олигосахарида с гидролизатом, изготовленные при 50 °С, соответствуют 4 классу опасности (малоопасные).

Перспективным является применение комплексов включения β-ЦД с пептидами гидролизованной молочной сыворотки в составе специализированных продуктов питания.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Aluko, R.E. Food protein-derived peptides: Production, isolation, and purification / R.E. Aluko. – Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Proteins in Food Processing; 2018. – P. 389–412.
2. Combinatorial QSAR modeling of chemical toxicants tested against *Tetrahymena pyriformis* / H. Zhu [et al.] // J. Chem. Inf. Model. – 2008. – Vol. 48, № 4. – P. 766–784.
3. Del Valle, E.M.M. Cyclodextrins and their uses: a review / E.M.M. Del Valle // Process Biochem. – 2004. – Vol. 39, № 9. – P. 1033–1046.
4. Sinks, G. Correlation of *Tetrahymena pyriformis* and Pimephales toxicity: evaluation of 100 additional compounds / G. Sinks, T. Schultz // Environ. Toxicol. Chem. – 2001. – Vol. 20, № 4. – P. 917–921.
5. Taste modification of amino acids and protein hydrolysate by α-cyclodextrin / G.A. Linde [et al.] // Food Res. Int. – 2009. – Vol. 42. – P. 814–818.

6. The use of 2D NMR to study β -cyclodextrin complexation and debittering of amino acids and peptides / G.A. Linde [et al.] // Food Res. Int. – 2010. – Vol. 43. – P. 187–192.

7. Альтернативные методы исследования (экспресс-методы) для токсиколого-гигиенической оценки материалов, изделий и объектов окружающей среды: метод. пособ. / Л.Г. Подунова, Т.А. Меньшикова, Я.Г. Двоскин. – Москва, 1999. – 108 с.

8. Комплексы включения циклодекстрина с пептидами сывороточных белков молока: характеристика антиоксидантной активности / Т.Н. Головач [и др.] // Журнал БГУ. Биология. – 2018. – № 3. – С. 3–13.

Прозоровский, В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / В.Б. Прозоровский // Фармакология и токсикология. – 1962. – № 1. – С. 41–63.

УДК 547.458.6+637.144.5

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕКСА β -ЦИКЛОДЕКСТРИНА С ПЕПТИДАМИ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Головач Т.Н.¹, Цыганков В.Г.², Бондарук А.М.²,
Афонин В.Ю.², Курченко В.П.¹

¹ *Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь*

² *РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь*

*Изучены цитотоксические и цитогенетические повреждения лейкоцитов при энтеральном введении рандомбредным белым крысам *Rattus norvegicus* клатрата β -циклодекстрина с пептидами белков молочной сыворотки. По итогам анализа динамики прироста массы тела и относительного коэффициента массы органов различия по сравнению с контрольной группой не установлены. В соответствии с экспериментальными данными о дифференцировке клеток крови, их гибели и цитогенетических нарушениях заключено, что опытный образец циклического олигосахарида с пептидами в максимально допустимых дозировках для введения (согласно ТКП 125–2008) является нетоксичным.*

Ключевые слова: β -циклодекстрин, пептиды сывороточных белков, комплекс включения, цитогенетические эффекты, *Rattus norvegicus*.

CYTOTOXIC AND CYTOGENETIC EFFECTS OF β -CYCLODEXTRIN COMPLEX WITH WHEY PEPTIDES

Halavach T.M.¹, Zhygankov V.G.², Bondaruk A.M.²,
Afonin V.Yu.², Kurchenko V.P.¹

¹ *Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

² *RUE «Scientific Practical Centre of Hygiene», Minsk, Republic of Belarus*