



УДК 577.161; 613.22; 613.263; 665.213

DOI: 10.52653/PPI.2021.6.6.016

Нанокомплексы β -циклогексстрина с жирорастворимыми витаминами и пептидами гидролизата белков молока для функциональных продуктов питания

В.П. Курченко*, канд. биол. наук

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

Е.С. Симоненко

НИИ детского питания – филиал ФИЦ питания и биотехнологии, г. Истра, Московская область

Т.Н. Головач, канд. биол. наук; **К.И. Майорова**

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

В.Г. Цыганков, канд. мед. наук

Республикансое унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь

С.В. Симоненко, д-р техн. наук

НИИ детского питания – филиал ФИЦ питания и биотехнологии, г. Истра, Московская область

Дата поступления в редакцию 19.05.2021

Дата принятия в печать 27.05.2021

* kurchenko@tut.by

© Курченко В.П., Симоненко Е.С., Головач Т.Н., Майорова К.И., Цыганков В.Г., Симоненко С.В., 2021

Реферат

Исследования в области диетологии показали, что для разработки функциональных продуктов питания требуется создание мультикомпонентные композиции, в состав которых входят макро- и микронутриенты. Для создания таких композиций были получены пептиды из гидролизата белков сыворотки молока с молекулярными массами 150–6000 Да (ФП-ГБС). Для снижения их горького вкуса они были включены в β -ЦД с использованием метода соосаждения. В полученном комплексе ФП-ГБС: β -ЦД горький вкус пептидов снизился до умеренно горького. Комплексы включения жирорастворимых витаминов D₃: β -ЦД и A: β -ЦД позволили перевести их из жидкого состояния в порошкообразную форму, в которой они обладают повышенной термостабильностью и растворимостью в воде. На их основе был разработан мультикомпонентный композит, в 100 г которого содержалось 30 г ФП-ГБС, 1,06 мг витамина D₃ (42500 МЕ), 86,0 мг витамина A (250000 МЕ) и 4 г оливкового масла. Проведены исследования структурно-функциональных свойств полученных образцов комплексов включения. Показано, что антиоксидантная активность полученных образцов комплексов включения убывает в ряду: мультикомпонентный композит <ФП-ГБС: β -ЦД < A: β -ЦД < D₃: β -ЦД. На модели индуцированного мутагенеза в тесте Эмса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 и *Salmonella typhimurium* TA 100 показано, что ФП-ГБС: β -ЦД и мультикомпонентная композиция проявляют антимутагенное действие, предотвращая на 20 % мутации замены пар оснований и на 15 % сдвиг рамки считывания. Проведенная токсикологическая оценка нанокомплексов ФП-ГБС: β -ЦД, D₃: β -ЦД, A: β -ЦД и их мультикомпонентного композита в экспериментах на *Tetrahymena pyriformis* показала, что по средней смертельной дозе они относятся к 5-му классу опасности (неопасные вещества). Полученные порошкообразные формы жирорастворимых витаминов и пептидов легко дозируются и могут быть использованы при разработке различных функциональных продуктов питания.

Ключевые словавитамин А, витамин D₃, комплексы включения, пептиды, функциональные продукты питания, циклогексстрины**Для цитирования**

Курченко В.П., Симоненко Е.С., Головач Т.Н., Майорова К.И., Цыганков В.Г., Симоненко С.В. (2021) Нанокомплексы β -циклогексстрина с жирорастворимыми витаминами и пептидами гидролизата белков молока для функциональных продуктов питания // Пищевая промышленность. 2021. № 6. С. 43–48.

Nanocomplexes of β -cyclodextrin with liposoluble vitamins and peptides of milk protein hydrolyzate for functional food products

V.P. Kurchenko*, Candidate of Biological Sciences

Belarusian State University, Minsk, Belarus

E.S. Symonenko

Research Institute of Baby Food – Branch of the Federal Research Center of Nutrition and Biotechnology, Istra, Moscow Region

T.N. Golovach, Candidate of Biological Sciences; **K.I. Mayorova**

Belarusian State University, Minsk, Belarus

V.G. Tsygankov, Candidate of Medical Sciences

Republican Unitary Enterprise Scientific and Practical Center for Hygiene, Minsk, Belarus

S.V. Symonenko, Doctor of Technical Sciences

Research Institute of Baby Food – Branch of the Federal Research Center of Nutrition and Biotechnology, Istra, Moscow Region

Received: May 19, 2021

* kurchenko@tut.by

Accepted: May 27, 2021

© Kurchenko V.P., Symonenko E.S., Golovach T.N., Mayorova K.I., Tsygankov V.G., Symonenko S.V., 2021

Abstract

Research in the field of dietetics has shown that the development of functional foods requires the creation of multicomponent compositions which include macro- and micronutrients. To create such compositions, peptides were obtained from the hydrolyzate of milk whey proteins with molecular weights of 150–6000 Da (FP-GBS). To reduce their bitter taste, they were incorporated into β -CD using the co-precipitation method. In the resulting complex FP-GBS: β -CD, the bitter taste of the peptides decreased to moderately bitter. The inclusion complexes of liposoluble vitamins D₃: β -CD and A: β -CD made it possible to transform them from a liquid state into a powder form, in which they have increased thermal stability and solubility in water. On their basis, a multicomponent composite was developed, 100 g of which contained 30 g of FP-GBS, 1.06 mg of vitamin D₃ (42,500 IU), 86.0 mg of vitamin A (250,000 IU) and 4 g of olive oil. The structural and functional properties of the obtained samples of inclusion complexes were studied. It was shown that the antioxidant activity of the obtained samples of inclusion complexes decreases in the series: multicomponent composite <FP-GBS: β -CD < A: β -CD < D₃: β -CD. On the model of induced mutagenesis in the Ames test on the strains of *Salmonella typhimurium* TA 98 and *Salmonella typhimurium* TA 100, it was shown that FP-GBS: β -CD and a multicomponent composition exhibit an antimutagenic effect, preventing base pair substitution mutations by 20 % and reading frame shift by 15 %. The toxicological and hygienic assessment nanocomplexes of the FP-GBS: β -CD, D₃: β -CD and A: β -CD and their multicomponent composite in experiments on *Tetrahymena pyriformis* showed that, in terms of the average lethal dose, they belong to the 5th hazard class (non-hazardous substances). The obtained powder forms of liposoluble vitamins and peptides are easily dosed and can be used in the development of various functional food products.

Key wordscyclodextrins, vitamin A, vitamin D₃, peptides, inclusion complexes, functional foods**For citation**

Kurchenko V.P., Symonenko E.S., Golovach T.N., Mayorova K.I., Tsygankov V.G., Symonenko S.V. (2021) Nanocomplexes of β -cyclodextrin with liposoluble vitamins and peptides of milk protein hydrolyzate for functional food products // Food processing industry = Пищевая промышленность. 2021. No. 6. P. 43–48.



ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Введение. Ряд задач нутрициологии, диетологии и гигиены питания связаны с эффективностью использования макро- и микронутриентов, вводимых в организм человека в виде минерально-витаминных комплексов или обогащенных пищевых продуктов [1, 2]. При производстве специализированных пищевых продуктов вопросы их устойчивости и биодоступности играют важную роль, так как многие из нутриентов обладают плохой растворимостью, выраженной гидрофобностью или неустойчивы в процессе изготовления [2, 3]. Исследования в области диетологии показали, что для разработки функциональных продуктов питания требуется создать мультикомпонентные композиции, в составе которых содержатся одновременно гидрофильные и гидрофобные соединения. Одним из путей решения этих проблем является применение комплексов включения циклодекстринов с микро- и макронутриентами, как в виде самостоятельных ингредиентов в питании, так и в составе специализированных пищевых продуктов [4–7].

Циклодекстрины относятся к классу природных макроциклических олигосахаридов, получаемых путем ферментативной изомеризации крахмала. Они представляют собой уникальные природные nanoструктуры, имеющие гидрофобную внутреннюю полость и гидрофильную внешнюю поверхность [6]. Циклодекстрины способны формировать клатратные комплексы включения по типу «гость–хозяин» с различными типами молекул: органическими, неорганическими, металлоорганическими и другими соединениями [5, 7]. Жирорастворимые витамины и другие гидрофобные вещества способны встраиваться в их внутреннюю полость, образуя порошкообразные формы [5]. Благодаря комплексообразованию циклодекстринов с жирорастворимыми витаминами и другими гидрофобными веществами они приобретают большую растворимость, становятся стабильными в процессе хранения, меняют вкус, цвет и запах [6]. В диетологии детского питания находят применение гидролизаты белков молока, которые обладают гипоаллергенными свойствами [3, 8, 9]. Вместе с тем пептиды, входящие в гидролизат белков, обладают горьким вкусом, для уменьшения которого они могут быть включены в β-циклодекстрин (β-ЦД) [10]. Пептиды включаются в формулы, которые содержат также различные витамины и минералы [11]. Для включения в их состав жирорастворимых витаминов D₃ и A их необходимо перевести в порошкообразную форму путем комплексообразования с β-ЦД. На основе порошкообразных комплексов включения в β-ЦД пептидов, жирорастворимых витаминов и гидрофильных макро- и микронутриентов могут быть созданы мультикомпонентные композиции, пригодные для специализированных продуктов питания.

Цель исследования – разработка технологии получения нанокомплексов β-ЦД

с жирорастворимыми витаминами D₃, A и пептидами гидролизата белков молока и создание на их основе мультикомпонентных композиций, обладающих антиоксидантными, генопротекторными и другими функциональными свойствами.

Объекты и методы исследований. Объектом исследования являлась фракция пептидов ферментативного гидролизата белков сыворотки молока, жирорастворимые витамины D₃ и A, а также их нанокомплексы с β-ЦД.

В работе использованы витамин D₃ с содержанием 0,425 мг (соответствует 17 000 МЕ холекальциферола) в 1 мл растительного масла (СП ОО «Фармленд», Беларусь); витамин A с содержанием 34,4 мг (соответствует 100 000 МЕ ретинол ацетата) в 1 мл растительного масла (ПРАТ «Технолог», Украина); β-циклодекстрин («Sigma», США, CAS 7585-39-9, E459); концентрат сывороточных белков, полученный методом ультрафильтрации (КСБ-УФ-70, ОАО «Щучинский маслосырзавод», ТУ BY 100377914.550-2008); алкализаза (protease from *Bacillus licheniformis*, активность 2,64 Е/г, «Sigma», США).

Ферментативный гидролиз белков молочной сыворотки

Ферментативное расщепление сывороточных белков (КСБ-УФ-70) алкализазой проводили при концентрации белковых субстратов 2 % и соотношении фермент/субстрат 5 %, температуре 50 °C, активной кислотности среды 8,0 ед. pH в течение 2 ч. Образцы гидролизатов белков сыворотки (ГБС) подвергали фильтрации с использованием фильтров с пропускной способностью 5 кДа для получения низкомолекулярной фракции пептидов (ФП-ГБС). Анализировали содержание общего белка в ГБС и в полученных ультрафильтратах ФП-ГБС [12, 13].

Определение молекулярно-массового распределения пептидов ферментативного гидролизата белков сыворотки молока

Состав пептидов ФП-ГБС анализировали методом хромато-масс-спектрометрии. Для достижения концентрации белка, равной 100 мкг/мл, образцы смешивали с раствором, содержащим ацетонитрил, воду и муравьиную кислоту в объемном соотношении 47,5 : 47,5 : 5,0. Полученные растворы подвергали ультразвуковой обработке продолжительностью 15 мин, далее центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин, фильтровали в хроматографические виалы с применением полиэтиленовых фильтров (диаметр пор 0,45 мкм; Carl Roth, Германия). Для записи масс-спектров использовали хромато-масс-спектрометрическую систему Agilent 1290 с масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения Q-TOF 6550 в режиме положительной электроспрей ионизации (ESI+). ВЭЖХ-анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1290 (Agilent, США) с применением колонки Hypersil Gold (100x2,1 мм, 1,9 мкм, Agilent, США). Колонку уравновешивали 0,1 %-ным водным раствором муравьи-

ной кислоты. Разделение образцов осуществляли с использованием линейного градиента ацетонитрила 5–95 % в течение 55 мин при температуре 45 °C; скорость потока подвижной фазы – 200 мкл/мин; объем пробы – 15 мкл; детекцию проводили при 230 и 280 нм. Параметры источника ионизации: температура газа – 290 °C, поток газа – 12 л/мин, температура оболочечного газа – 325 °C, поток оболочечного газа – 9 л/мин. Напряжение на фрагменторе устанавливали 150 V, диапазон регистрации спектров составлял 100–3200 m/z (соотношение массы к заряду).

Получение и характеристика комплексов включения

β-циклодекстрин с витаминами D₃, A и фракцией пептидов гидролизата белков сыворотки молока

Для получения комплексов включения витаминов D₃, A и фракции пептидов гидролизата белков сыворотки молока с β-циклодекстрином (β-ЦД) использовали метод соосаждения. Готовили 10 %-ный водный раствор β-ЦД при температуре 60 °C, в который вносили 5 %-ный раствор ФП-ГБС. При перемешивании смесь охлаждали до 5 °C. Полученную суспензию центрифугировали 15 мин при 3 тыс. об./мин. Лиофильно высушенный осадок комплекса включения ФП-ГБС:β-ЦД хранили при 5 °C. Для получения комплекса включения витаминов аналогично готовили раствор β-ЦД, в который вносили 10 % витаминов D₃ или A. Полученные комплексы включения D₃:β-ЦД и A:β-ЦД отделяли центрифугированием и лиофильно высушивали [5, 6, 10].

С использованием гравиметрического метода определяли содержание витаминов и пептидов в полученных комплексах D₃:β-ЦД и A:β-ЦД. Для элюции витаминов навеску порошка комплексов массой 2 г промывали 4 мл гексана. Супернатант, содержащий витамины в гексане, отделяли центрифугированием. Процедуру экстракции повторяли 3 раза. Осадок β-ЦД высушивали при температуре 70 °C и определяли его массу. По разнице масс полученного β-ЦД и комплексов D₃:β-ЦД или A:β-ЦД определяли содержание витаминов в комплексе включения [4, 5, 7].

Термогравиметрическим методом анализировалось образование комплексов D₃:β-ЦД, A:β-ЦД и ФП-ГБС:β-ЦД и их стабильность при термическом разложении. Измерения проводились с помощью термоаналитической системы TA-4000 «Mettler Toledo», Швейцария. Масса исследуемой навески ~10,5 мг. Использовались программирование температуры в диапазоне 25–550 °C, скорость подъема температуры 5 °C/мин. Время проведения анализа – 110 мин [9, 12].

Определение антиоксидантной активности комплексов включения

Для оценки антиоксидантной активности (АОА) образцов D₃:β-ЦД, A:β-ЦД и ФП-ГБС:β-ЦД применяли флуориметрический метод ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) [13]. Метод основан на измерении уменьшения интенсивности флуоресценции при его взаимодействии



с кислородными радикалами. Определяли АОА комплексов D₃:β-ЦД, A:β-ЦД и ФП-ГБС:β-ЦД по их способности связывать свободные радикалы, образованные в системе Фентона в методе ORAC. По ранее описанному методу рассчитывали концентрацию комплексов IC₅₀, соответствующую 50 %-ному ингибированию флуоресценции [14]. Достоверность различий между выборками данных определяли методом доверительных интервалов.

Определение антимутагенных свойств комплексов включения

В качестве тест-объектов для определения антимутагенного действия комплексов D₃:β-ЦД, A:β-ЦД и ФП-ГБС:β-ЦД были использованы ауксотрофные по гистидину штаммы *Salmonella typhimurium* TA100 и TA98.

Наличие антимутагенного эффекта исследуемых препаратов учитывалось по снижению частоты индуцированных обратных мутаций стандартными мутагенами, по ранее описанному методу [15]. В качестве стандартных мутагенов для штамма *S. typhimurium* TA 100 использовали азид натрия в концентрации 10 мкг/чашка, для штамма *S. typhimurium* TA 98 – 2-нитрофлуорен 10 мкг/чашка. В рабочий раствор вносились различные концентрации комплексов включения D₃:β-ЦД, A:β-ЦД и ФП-ГБС:β-ЦД. Визуальный учет результатов проводили через 72–120 ч, регистрируя число положительных лунок [15].

Определение токсиколого-гигиенической оценки комплексов включения

Токсиколого-гигиеническую оценку комплексов включения D₃:β-ЦД, A:β-ЦД и ФП-ГБС:β-ЦД проводили с использованием тест-объекта *Tetrahymena rughiformis* на основе принципов и методов, принятых в общей токсикологии: определение основных токсикологических параметров в остром и подостром экспериментах и установление класса опасности [16, 17]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием общепринятых методов вариационной статистики пакета «Анализ данных» программы «Microsoft Office Excel 2003» (Microsoft Corporation).

Результаты и их обсуждение. Для получения мультикомпонентных композиций, пригодных при создании функциональных продуктов питания, были получены нанокомплексы β-ЦД с пептидами гидролизата белков сыворотки молока и жирорастворимыми витаминами A и D₃.

Белки сыворотки молока проявляют аллергенные свойства [18]. Для снижения их аллергенного потенциала они подвергались ферментативному гидролизу алкалазой [9, 12, 18]. Полученные пептиды обладали горьким вкусом, что затрудняет их использование в функциональных продуктах питания. Для снижения горького вкуса гидролизата была разработана технология получения нанокомплексов циклодекстрина с низкомолекулярными пептидами, имеющими молекулярную массу менее 5 кДа.

Для получения гипоаллергенных пептидов после ферментативного гидролиза белков молочной сыворотки образцы подвергали фильтрации через фильтры с пропускной способностью 5 кДа. Установлено, что степень протеолиза в образцах гидролизата белков молочной сыворотки (ГБС) алкалазой достигало 37,2 %. В этом образце после фильтрации фракция пептидов (ФП-ГБС) с молекулярной массой менее 5 кДа составила 39,0 %. С использованием хромато-масс-спектрометрии определен состав пептидов полученных ультрафильтратов.

Согласно данным ВЭЖХ-МС анализа, в состав ФП-ГБС входят пептиды с молекулярной массой 150–6000 Да. В результате протеолиза белков сыворотки молока и его фильтрации получена фракция пептидов, в которой достигнуто практически полное расщепление β-лактальбумина, β-лактоглобулина и минорных белков на пептиды, не содержащие антигенных детерминант.

Получение и свойства нанокомплексов β-ЦД с фильтратами гидролизаторов белков молока и жирорастворимыми витаминами A и D₃

Фильтрат гидролизата сывороточных белков хорошо растворим в воде при 25 °C и обладает выраженной горечью. Для ее снижения были получены комплексы включения циклодекстрина с пептидами при весовом соотношении 2:1. Встраивание пептидов в гидрофобную область циклодекстрина привело к существенному снижению их горечи до умеренно горького вкуса. Исходя из полученных экспериментальных данных ФП-ГБС хорошо растворим при 25 °C и обладает выраженной горечью (10 баллов). Полученные комплексы включения пептидов ФП-ГБС:β-ЦД обеспечивали значительное уменьшение горечи пептидов (3–4 балла) по сравнению с контрольным образцом гидролизата. По результатам гравиметрического анализа в 100 г полученного комплекса содержится 33,0 г пептидов.

С целью подтверждения образования клатратов ФП-ГБС с β-ЦД (ФП-ГБС:β-ЦД) использовали термогравиметрический анализ. Он основан на фиксации изменения массы исследуемого образца при его термическом разложении в диапазоне температур 20..600 °C. В табл. 1 представлены сравнительные характеристики параметров термического разложения исследуемых образцов.

Согласно расчетам энергии активации для механических смесей и клатратов

ФП-ГБС:β-ЦД показано увеличение Е_a в 1,4–1,6 раза по сравнению с образцом ФП-ГБС. Это свидетельствует о стабилизации фракции пептидов гидролизата сыворотки молока в составе нанокомплексов ФП-ГБС:β-ЦД. Установлены стадии термического разложения образцов в условиях программируемого нагрева от 30 °C до 600 °C со скоростью 5 °C/мин. Как показано на рисунке, в профиле дифференциальной термогравиметрии (ДТГ) механических смесей гидролизаторов с β-ЦД представляют собой наложение пиков потери массы индивидуальных соединений.

Установлено смещение пика термодеструкции циклического олигосахарида с 301,8 до 297,5 и 289,7 °C при анализе механических смесей. В образцах клатратов ФП-ГБС:β-ЦД сохраняется доминирующий пик термодеструкции β-ЦД со смещением и изменением его конфигурации, тогда как практически не выявляются пики разложения, характерные для ФП-ГБС, что подтверждает образование комплексов включения. Кроме того, на ДТГ-профилях образцов клатратов в температурном диапазоне 307,0..415,6 °C появляются не свойственные для механических смесей экзотермические пики. В случае клатрата ФП-ГБС:β-ЦД, полученного при смешивании циклического олигосахарида и гидролизата молочной сыворотки, показано смещение пика термодеструкции β-ЦД с 297,5 до 305,1 °C и снижение скорости потери массы образца с 0,29 до 0,15 мг/1 °C по сравнению с механической смесью. Это свидетельствует о возрастании устойчивости образца клатрата к термодеструкции.

С целью подтверждения образования клатратов β-ЦД с жирорастворимыми витаминами использовали термогравиметрический анализ. Для D₃:β-ЦД и A:β-ЦД установлены стадии термического разложения в условиях программируемого нагрева от 20 °C до 600 °C со скоростью 5 °C/мин⁻¹. Температура максимальной скорости окислительной деструкции клатратов жирорастворимых витаминов приходится на 308,26 °C и составляет 1,77 мг·мин⁻¹. Образование комплексов включения D₃:β-ЦД и A:β-ЦД приводит к изменению их физико-химических свойств, что влияет на изменение параметров их термического разложения. Сравнительный анализ термодеструкции β-ЦД и комплекса D₃:β-ЦД показывает, что для витамина D₃ характерна стадия тер-

Таблица 1
Сравнительный анализ параметров термического разложения пептидов гидролизаторов сыворотки молока (ФП-ГБС), их механической смеси с циклодекстрином и клатрата β-ЦД с пептидами гидролизата молочной сыворотки (ФП-ГБС:β-ЦД)

Образец	Температура максимальной скорости деструкции (T _{V_{max}}), °C	Максимальная скорость деструкции (V _{max}), мг/°C	Количество образца в системе при T _{V_{max}} % от исходного содержания	Энергия активации (E _a), кДж/моль
ФП-ГБС	268,3	0,029	80,9	76
ФП-ГБС и β-ЦД 1 : 2	297,5	0,29	68,8	118
ФП-ГБС:β-ЦД 1 : 2	305,1	0,15	55,6	105



ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

мического разложения при температуре 220,35...273,44 °C. При этом происходит сдвиг максимальной скорости термодеструкции β-ЦД с 320 °C до 295 °C. Эти результаты свидетельствуют об образовании комплекса включения.

Дальнейшие исследования были направлены на изучение антиоксидантных свойств, antimутагенной активности и токсико-гигиенической оценки комплексов ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД, A:β-ЦД и их мультикомпонентной композиции. С использованием полученных нанокомплексов была разработана мультикомпонентная композиция, в состав которой входили ФП-ГБС:β-ЦД – 90 г, D₃:β-ЦД – 5 г и A:β-ЦД – 5 г. В полученной порошкообразной форме содержалось 30 г ФП-ГБС, 1,06 мг витамина D₃ (42500 МЕ), 86,0 мг витамина А (250000 МЕ) и 4 г оливкового масла.

Функциональные свойства нанокомплексов β-ЦД с фильтратами гидролизатов белков молока, жирорастворимыми витаминами А и D₃ и их мультикомпонентным композитом

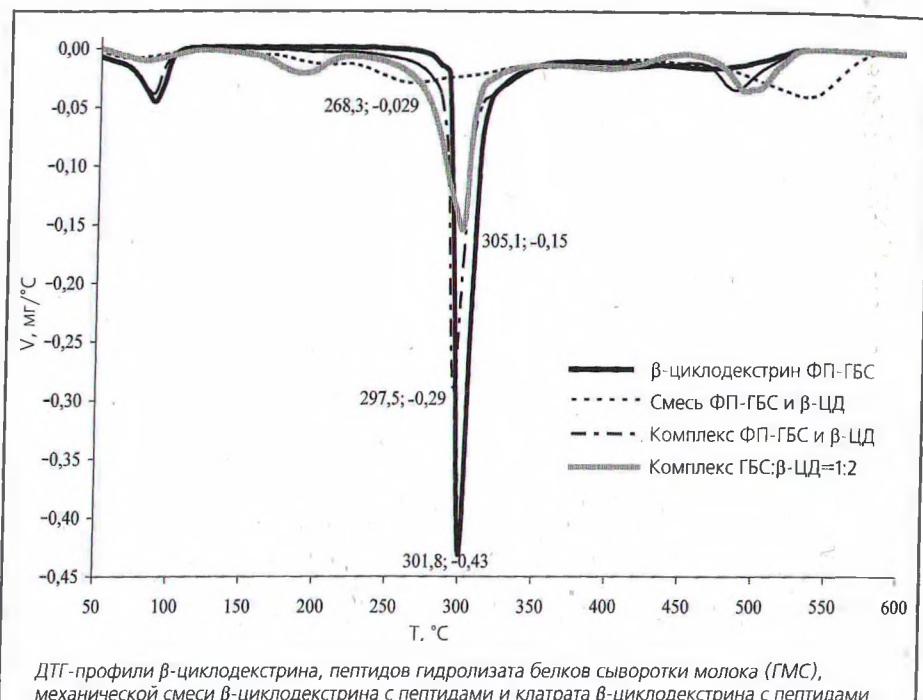
Антиоксидантная активность. Для создания оптимизированных по составу мультикомпонентных композитов ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД и A:β-ЦД исследовались их антиоксидантные свойства.

Для характеристики антирадикальной активности образцов использован метод ORAC. Определение АОА комплексов включения ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД и A:β-ЦД и их мультикомпонентного композита показало их способность связывать свободные кислородосодержащие радикалы. В проведенных экспериментах рассчитана концентрация исследуемых образцов IC₅₀. В табл. 2 представлены результаты сравнительного анализа радикал-восстановливающей активности образцов комплексов включения ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД и A:β-ЦД и их мультикомпонентного композита. Антирадикальная активность убывает в ряду исследованных образцов: мультикомпонентный комплекс, ФП-ГБС:β-ЦД, A:β-ЦД, D₃:β-ЦД.

Антимутагенная активность исследовалась в тесте Эймса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 и *Salmonella typhimurium* TA 100. Благодаря различию генотипов параллельное применение этих штаммов позволяет достаточно полно оценить характер ДНК-повреждающего действия – замена пар оснований (*S. typhimurium* TA 100) или сдвиг рамки считывания (*S. typhimurium* TA 98).

Для оценки antimутагенного действия исследуемых образцов у штаммов *S. typhimurium* TA 98 и *S. typhimurium* TA 100 вызывали индуцированный мутагенез, приводящий к увеличению ревертантов (табл. 3).

Статистически значимое снижение индуцированного мутагенеза было отмечено для мультикомпонентного композита. Выявленные различия в количестве ревертантов в контроле и опыте были статистически достоверны для концентрации ФП-ГБС:β-ЦД 0,5 мг/чашку. Проведенное



ДТГ-профили β-циклоцетрина, пептидов гидролизата белков сыворотки молока (ГМС), механической смеси β-циклоцетрина с пептидами и клатрата β-циклоцетрина с пептидами

Таблица 2
Характеристика антиоксидантных свойств комплексов включения
β-циклоцетрина с гидролизатом белков сыворотки молока, витаминами А, D₃
и их мультикомпонентного композита

Наименование образца	IC ₅₀ , мкг (сухого вещества) / мл
Комплекс включения витамина D ₃ в β-циклоцетрин (D ₃ :β-ЦД)	65,7±1,5
Комплекс включения витамина А в β-циклоцетрин (A:β-ЦД)	80,0±2,2
Комплекс включения пептидов гидролизата белков сыворотки молока в β-циклоцетрин (ФП-ГБС:β-ЦД)	105,7±4,6
Мультикомпонентный композит β-циклоцетрина с гидролизатом белков сыворотки молока и витаминами А, D ₃	140,0±2,2

Таблица 3
Антимутиагенные свойства в тесте Эймса нанокомплексов β-ЦД с витамином D₃
(D₃:β-ЦД), β-ЦД с витамином А (A:β-ЦД), β-ЦД с фильтратом гидролизата
сывороточных белков молока (ФП-ГБС:β-ЦД) и мультикомпонентного композита
(МКК) ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД, A:β-ЦД в соотношении 90:5:5

Концентрация комплекса, мг/чашка	D ₃ :β-ЦД		A:β-ЦД		ФП-ГБС:β-ЦД		МКК	
	Xср.±δ	Снижение мутагенеза, %	Xср.±δ	Снижение мутагенеза, %	Xср.±δ	Снижение мутагенеза, %	Xср.±δ	Снижение мутагенеза, %
<i>Salmonella typhimurium</i> TA 98								
0,5	441±20	0	463±19	0	369±31	18	369±15	20
Спонтанный уровень мутагенеза	49±15	–	44,9±6	–	49±15	–	49±15	–
Индукционный мутагенез, азид натрия 10 мкг/чашка	450±27	–	450±27	–	450±27	–	450±27	–
<i>Salmonella typhimurium</i> TA 100								
0,5	694±38	0	732±22	0	576±15	12	556±13	15
Спонтанный уровень мутагенеза	93±10	–	93±10	–	93±10	–	93±10	–
Индукционный мутагенез, 2-нитро-флуорен 10 мкг/чашка	654±50	–	754±50	–	654±50	–	654±50	–



Параметры токсичности комплексов включения гидролизата сывороточных белков (ФП-ГБС:β-ЦД), витаминов А (А:β-ЦД) и D₃ (D₃:β-ЦД) и мультикомпонентного композита по результатам оценки на *T. pyriformis*

Образец	Токсикологические эксперименты	Величина токсичности LD ₅₀ , мг/мл	Класс токсичности
D ₃ :β-ЦД	острый	61,44±0,66	5
	подострый	18,8±1,02	—
A:β-ЦД	острый	286,39±15,91	5
	подострый	207,09±11,45	—
ФП-ГБС:β-ЦД	острый	277,25±1,3	5
	подострый	173,23±9,94	—
Мультикомпонентный композит	острый	244,7±7,18	5
	подострый	113,23±2,25	—

исследование показало, что ФП-ГБС : β-ЦД и мультикомпонентная композиция проявляют антимутагенное действие, предотвращая мутации замены пар оснований у штамма *S. typhimurium* TA 100 и сдвиг рамки считываия у *S. typhimurium* TA 98. Полученные результаты представлены в табл. 3.

Токсиколого-гигиенические исследования комплексов включения ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД и A:β-ЦД и их мультикомпонентного композита осуществлялись на *T. pyriformis* на основе принципов и методов гигиенического регламентирования, принятых в общей токсикологии [16]. Исследования осуществлялись согласно нормативно-методической документации, утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь [16, 17]. Принцип методов исследований на *T. pyriformis* заключается в анализе характера роста популяции в среде культивирования, содержащей исследуемые комплексы включения. Эффект токсического действия оценивался по альтернативному состоянию «жизнь – смерть». По результатам токсиколого-гигиенической оценки, представленной в табл. 4, в остром (4 ч) и подостром (24 ч) экспериментах на *Tetrahymena pyriformis* ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД и A:β-ЦД и их мультикомпонентного композита по средней смертельной дозе относится к 5-му классу опасности (неопасные вещества).

Заключение. Для создания мультикомпонентных композиций функциональных продуктов питания были получены ферментативные гидролизаты белков сыворотки молока, обладающие гипоаллергенными свойствами. Полученные пептиды с молекулярной массой 150–6000 Да обладали горьким вкусом. Для его снижения пептиды были включены в β-ЦД с использованием метода соосаждения. По результатам гравиметрического анализа в 100 г полученного комплекса содержится 33,0 г пептидов. Образование полученных комплексов ФП-ГБС:β-ЦД было подтверждено термогравиметрическими методами. Встраивание пептидов в гидрофобную область β-ЦД привело к существенному снижению горечи до умеренно горького вкуса и повышению их термостабильности.

Образование жирорастворимыми витаминами комплексов включения D₃:β-ЦД и

A:β-ЦД привело к изменению их физико-химических свойств. Они из жидкого состояния переведены в порошкообразную форму. Эти клатраты обладали повышенной термостабильностью и растворимостью в воде.

Были изучены антиоксидантные свойства, антимутагенная активность и дана токсиколого-гигиеническая оценка комплексов ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД, A:β-ЦД и их мультикомпонентной композиции. В состав мультикомпонентной композиции входили ФП-ГБС:β-ЦД – 90 г, D₃:β-ЦД – 5 г и A:β-ЦД – 5 г. В полученной порошкообразной форме содержалось 30 г ФП-ГБС, 1,06 мг витамина D₃ (42500 МЕ) и 86,0 мг витамина А (250000 МЕ).

Сравнительный анализ антиоксидантной активности образцов комплексов включения ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД и A:β-ЦД и их мультикомпонентного композита показал, что она убывает в ряду: мультикомпонентный композит <ФП-ГБС:β-ЦД <A:β-ЦД <D₃:β-ЦД.

С использованием модели индуцированного мутагенеза в тесте Эймса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 и *Salmonella typhimurium* TA 100 исследована антимутагенная активность ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД и A:β-ЦД и их мультикомпонентного композита. Экспериментально доказано, что ФП-ГБС:β-ЦД и мультикомпонентная композиция проявляют антимутагенное действие, предотвращая мутации замены пар оснований у штамма *S. typhimurium* TA 100 и сдвиг рамки считываия у *S. typhimurium* TA 98.

Проведенная токсиколого-гигиеническая оценка в остром и подостром экспериментах на *Tetrahymena pyriformis* нанокомплексов ФП-ГБС:β-ЦД, D₃:β-ЦД и A:β-ЦД и их мультикомпонентного композита показала, что по средней смертельной дозе и коэффициенту кумуляции они относятся к 5-му классу опасности (неопасные вещества).

Таким образом, проведенные исследования показали возможность создания нанокомплексов β-ЦД с жирорастворимыми витаминами D₃, А, пептидами гидролизатов сыворотки молока и их мультикомпонентного композита, которые обладают антиоксидантными, антимутагенными свойствами и относятся к 5-му классу неопасных веществ. Полученные порошкообразные формы жирорастворимых витаминов и

пептидов легко дозируются и могут быть использованы при разработке различных функциональных продуктов питания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тутельян, В.А. Микронутриенты в питании здорового и больного человека / В.А. Тутельян [и др.]. – М.: Колос, 2002. – 424 с.
2. Тутельян, В.А. Пищевые ингредиенты в создании современных продуктов питания / В.А. Тутельян [и др.]. – М.: Дели плюс, 2013. – 520 с.
3. Тутельян, В.А. Научные основы разработки принципов питания здорового и больного ребенка / В.А. Тутельян, И.Я. Конь // Вопросы детской диетологии. – 2005. – Т. 3. – № 3. – С. 5–8.
4. Shikhar, G. Solubility studies of the β-cyclodextrins inclusion complexes: a review / G. Shikhar [et al.] // International research journal of pharmacy. – 2012. – Vol. 3. – No. 10. – P. 178–181.
5. Singh, M. Biotechnological applications of cyclodextrins / M. Singh, R. Sharma, U.C. Banerjee // Biotechnology Advances. – 2002. – Vol. 20. – No. 5. – P. 341–359.
6. Das, S.K. Cyclodextrins – the molecular container / S. K. Das [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2013. – Vol. 4. – Issue 2. – P. 1694–1720.
7. Loftsson, T. Cyclodextrins as functional excipients: methods to enhance complexation efficiency / T. Loftsson, M.E. Brewster // Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2012. – Vol. 101. – Issue 9. – P. 3019–3032.
8. Боровик, Т.Э. Роль смесей гидролизатов белка в профилактике и диетотерапии пищевой аллергии у детей раннего возраста / Т.Э. Боровик [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – Т. 9. – № 1. – С. 150–156.
9. Halavach, T.M. Biologically active properties of hydrolysed and fermented milk proteins / T.M. Halavach, N.V. Dudchik, E.I. Tarun, V.G. Zhygankov [et al.] // The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2020. – Vol. 9. – No. 4. – P. 714–720. DOI: <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.9.4.714-720>.
10. Halavach, T.M. Antimutagenic and antibacterial activity of β-cyclodextrin clathrates with extensive hydrolysates of colostrum and whey / T.M. Halavach, E.S. Savchuk, A.S. Bobovich, N.V. Dudchik [et al.] // Biointerface Research in Applied Chemistry. – 2021. – Vol. 11. – No. 2. – P. 8626–8638. DOI: <https://doi.org/10.33263/BRIAC112.86268638>.
11. Varan, G. Amphiphilic cyclodextrin nanoparticles / G. Varan, C. Varana, N. Erdo, A.A. Hincal, E. Bilensoy // International Journal of Pharmaceutics. – 2017. – No. 16733. – P. 1–13.
12. Головач, Т.Н. Характеристика биологически активных гидролизатов белков молочной сыворотки и молозива / Т.Н. Головач, Е.И. Тарун, Н.В. Дудчик, Р.В. Романович [и др.] // Известия Национальной академии наук Беларусь. Серия биологических наук. – 2018. – Т. 63. – № 4. – С. 409–418.
13. Головач, Т.Н. Антиоксидантный потенциал коровьего молозива, ферментирован-



ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

ногого ацидофильной палочкой / Т.Н. Головач, Р.Р. Витальевич, В.П. Курченко, Е.И. Тарун // Пищевая промышленность. – 2019. – № 4. – С. 30–31.

14. Тарун, Е.И. Сравнение антиоксидантных активностей галловой, кофейной и хлорогеновой кислот / Е.И. Тарун, В.П. Курченко // Труды БГУ. – 2014. – Т. 9. – Ч. 1. – С. 186–191.

15. Дудчик, Н.В. Количественная оценка antimutagenной активности растительной композиции в краткосрочном teste // Здоровье и окружающая среда. – 2014. – Выпуск 24. – Т. 1. – С. 218–221.

16. Богдан, А.С. Методические рекомендации по доклиническому испытанию биологически активных пищевых добавок и фитопрепаратов: методические рекомендации; утв. 13.11.2000. № 179–0010 / А. С. Богдан [и др.]. – Минск: Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 2000. – 35 с.

17. Виноградов, Д.О. Биотестирование на культурах инфузорий в диагностической профилактике пищевых отравлений животных (обзор) // Ветеринарная патология. – 2006. – № 1. – С. 90–95.

18. Головач, Т.Н. Антиоксидантная активность, antimutagenные и антигенные свойства ферментативных гидролизатов коровьего молозива / Т.Н. Головач, Е.И. Тарун, Н.В. Дудчик, Р.В. Романович [и др.] // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. – 2018. – № 1. – С. 50–59.

REFERENCES

1. Tutel'yan VA. Mikronutrienty v pitaniu zdorovogo i bol'nogo cheloveka [Micronutrients in the diet of a healthy and sick person]. Moscow: Kolos, 2002. 424 p. (In Russ.)
2. Tutel'yan VA. Pischevye ingrediente v sozdaniii sovremennykh produktov pitaniya [Food ingredients in modern food creation]. Moscow: DeLi plus, 2013. 520 p. (In Russ.)
3. Tutel'yan VA, Kon' I Ya. Nauchnye osnovy razrabotki principov pitaniya zdorovogo i bol'nogo rebenka [Scientific foundations of the development the principles of nutrition of healthy and sick children]. Voprosy detskoy dietologii [Pediatric nutritional issues]. 2005. Vol. 3. No. 3. P. 5–8 (In Russ.).
4. Shikhar G. Solubility studies of the

β -cyclodextrins inclusion complexes: a review. International research journal of pharmacy. 2012. Vol. 3. No. 10. P. 178–181.

5. Singh M, Sharma R, Banerjee UC. Biotechnological applications of cyclodextrins. Biotechnology Advances. 2002. Vol. 20 (5). P. 341–359.

6. Das SK. Cyclodextrins – the molecular container. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2013. Vol. 4. Issue 2. P. 1694–1720.

7. Loftsson T, Brewster ME. Cyclodextrins as functional excipients: methods to enhance complexation efficiency. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2012. Vol. 101. Issue 9. P. 3019–3032.

8. Borovik TE, Makarova SG, Darchiya SN, Gamaleyeva AV. Rol' smesej gidrolizatov belka v profilaktike i dietoterapii pishchevoj allergii u detej rannego [The role of compounds based on hydrolyzed protein in prophylaxis and diet treatment of alimentary allergy in infants]. Voprosy sovremennoj pediatrii [Questions of modern pediatrics]. 2010. Vol. 9. No. 1. P. 150–156 (In Russ.).

9. Halavach TM, Dudchik NV, Tarun EI, Zhygankov VG, Kurchenko VP, Khartitonov VD et al. Biologically active properties of hydrolysed and fermented milk proteins. The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2020. Vol. 9. No. 4. P. 714–720. DOI: <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.9.4.714-720>.

10. Halavach TM, Savchuk ES, Bobovich AS, Dudchik NV, Zhygankov VG, Tarun EI, Yantsevich AV, Kurchenko VP, Khartitonov VD, Asafov VA. Antimutagenic and antibacterial activity of β -cyclodextrin clathrates with extensive hydrolysates of colostrum and whey. Biointerface Research in Applied Chemistry. 2021. Vol. 11. No. 2. P. 8626–8638. DOI: <https://doi.org/10.33263/BRIAC112.86268638>.

11. Varan G, Varana C, Erdö N, Hincal AA, Bilensoy E. Amphiphilic cyclodextrin nanoparticles. International Journal of Pharmaceutics. 2017. No. 16733. P. 1–13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.010>

12. Halavach TM, Tarun EI, Dudchik NV, Romanovich RV, Bubra IA, Kurchenko VP. Harakteristika biologicheskikh aktivnykh gidrolizatov belkov molochnoj svyorotki i moloza [Description of biologically active

protein hydrolysates of whey and colostrum]. Izvestiya Nacional'noj akademii nauk Belarusi. Seriya biologicheskikh nauk [Bulletin of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological Science Series.]. 2018. Vol. 63. No. 4. P. 409–418 (In Russ.).

13. Golovach TN, Romanovich RV, Kurchenko VP, Tarun EI. Antioxidsantnyj potentsial korov'ego moloziva, fermentirovannogo atsidofil'noj palochkoj [Antioxidant potential of bovine colostrum fermented with acidophilus bacillus]. Pischchevaya promyshlennost' [Food industry]. 2019. No. 4. P. 30–31 (In Russ.).

14. Tarun EI, Kurchenko VP. Srovnenie antioksidantnyh aktivnostej gallovoj, kofejnoj i hlorogenovoj kislot [Comparison of antioxidant activity gallic, caffecic and chlorogenic acids]. Trudy BGU [Proceedings of BSU]. 2014. Vol. 9. Part 1. P. 186–191 (In Russ.).

15. Dudchik NV. Kolichestvennaya otsenka antimutagennoj aktivnosti rastitel'noj kompozitsii v kratkosrochnom teste [Quantitative evaluation of antimutagenic activity of plant composition in short-term tests]. Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda [Health and environment]. 2014. Release 24. Vol. 1. P. 218–221 (In Russ.).

16. Bogdan AS. Methodical recommendations for preclinical testing of biologically active food additives and phytopreparations [Metodicheskie rekommendatsii po doklinicheskemu ispytaniyu biologicheskikh aktivnykh pishhevykh dobavok i fitopreparatov]. Minsk: Ministry of Health of the Republic of Belarus, 2000. 35 p. (In Russ.)

17. Vinokhodov DO. Biotestirovanie na kul'turakh infuzorij v diagnosticheskoy profilaktike pishhevykh otrovlenij zhivotnykh (obzor) [Biotesting on cultures of ciliates in the diagnostic prevention of food poisoning in animals (review)]. Veterinarnaya patologiya [Veterinary pathology]. 2006. No. 1. P. 90–95 (In Russ.).

18. Halavach TM, Tarun EI, Dudchik NV, Romanovich RV, Bubra IA, Kurchenko VP. Antioxidant activity, antimutagenic and antigenic properties of enzymatic hydrolysates of bovine colostrum [Antioksidantnaya aktivnost', antimutagennye i antigennye svoystva fermentativnykh gidrolizatov korov'ego moloziva]. Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya [Journal of the Belarusian State University. Biology]. 2018. No. 1. P. 50–59 (In Russ.).

Авторы

Курченко Владимир Петрович, канд. биол. наук
Белорусский государственный университет, 220030 Беларусь,
г. Минск, пр-т Независимости, д. 4; Kurchenko@tut.by

Симоненко Елена Сергеевна

НИИ детского питания – филиал ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи, 143500, Московская обл., г. Истра,
ул. Московская, д. 4, info@niidp.ru

Головач Татьяна Николаевна, канд. биол. наук,
Майорова Ксения Игоревна

Белорусский государственный университет, 220030, Беларусь,
г. Минск, пр-т Независимости, д. 4, halavachtn@gmail.com,
Maiorova_ksenya@gmail.com

Цыганков Василий Георгиевич, канд. мед. наук
Республикансое унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», 220012, Беларусь, г. Минск, Академическая ул., д. 8,
vgz@tut.by

Симоненко Сергей Владимирович, д-р техн. наук
НИИ детского питания – филиал ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи, 143500, Московская обл., г. Истра,
ул. Московская, д. 48, info@niidp.ru.

Authors

Vladimir P. Kurchenko, Candidate of Biological Sciences
Belarusian State University, 4, Independence avenue, Minsk, Belarus,
220030, Kurchenko@tut.by

Elena S. Simonenko
Research Institute of Baby Food – Branch of the Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 4, Moskovskaya str., Istra,
Moscow region, 143500, info@niidp.ru

Tatiana N. Golovach, Candidate of Biological Sciences,
Ksenia I. Mayorova
Belarusian State University, 4, Independence avenue, Minsk, Belarus,
220030, halavachtn@gmail.com, Maiorova_ksenya@gmail.com

Vasily G. Tsygankov, Candidate of Medical Sciences
Republican Unitary Enterprise «Scientific and Practical Center of Hygiene», 8, Akademicheskaya str., Minsk, Belarus, 220012, vgz@tut.by

Sergey V. Symonenko, Doctor of Technical Sciences
Research Institute of Baby Food – Branch of the Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 48, Moskovskaya str., Istra,
Moscow region, 143500, info@niidp.ru.