

Исследование иммобилизации полифенолов овсяных отрубей в комплексные коацерваты сывороточного белка и мальтодекстрина

Д. Р. Зяйнитдинов, А. В. Евтеев^{ORCID}, А. В. Банникова*^{ORCID}



Дата поступления в редакцию: 01.06.2020
Дата принятия в печать: 28.08.2020

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный
аграрный университет им. Н. И. Вавилова»,
410012, Россия, г. Саратов, Театральная площадь, 1

*e-mail: annbannikova@gmail.com



© Д. Р. Зяйнитдинов, А. В. Евтеев, А. В. Банникова, 2020

Аннотация.

Введение. Инкапсулирование является эффективной технологией защиты биологически активных ингредиентов во время обработки и хранения и предотвращает возможное взаимодействие с другими компонентами пищи.

Объекты и методы исследования. Технология биотрансформации овсяных отрубей основывалась на ультразвуковой обработке и ферментативном гидролизе. Для приготовления микрокапсул растворы сывороточного белкового концентрата (СБК) и мальтодекстрина (МД) смешивали в соотношениях 6:4, 4:6 и 5:5. Затем смеси обрабатывали ультразвуком и 10 % (мас./мас.) раствора гуаровой камеди в качестве материала двойной стенки.

Результаты и их обсуждение. Показано, что количество феруловой кислоты основного антиоксиданта зерновых культур при ультразвуковом воздействии составляет 9,2 мг/мл, при ферментативном методе экстракции – 9,0 мг/мл, при химическом – 8,6 мг/мл. Антиоксидантная активность полученных полифенолов (до 921 у.е.а./мл) зависит от концентрации препарата в растворе и метода экстракции. Подтверждено, что полифенолы, полученные с помощью применения ультразвукового воздействия и ферментных препаратов, обладают более выраженной антиоксидантной активностью. Для защиты чувствительных к условиям внешней среды полифенолов была исследована возможность их инкапсуляции в коацерваты СБК и МД в различных соотношениях. Самая высокая эффективность инкапсуляции (95,28 %) была зафиксирована при соотношении СБК:МД = 60:40. Для изучения влияния структурных характеристик капсул на кинетику высвобождения полифенолов был использован протокол ферментативного гидролиза *in vitro*, имитирующий переваривание в желудочно-кишечном тракте. Процент высвобождения полифенолов из капсул варьировался от 70 до 83 % после 2 ч переваривания, что подтверждает эффективность технологии микрокапсулирования.

Выводы. Подтверждена возможность использования полифенолов, полученных биотехнологическим методом из овсяных отрубей, в качестве функциональных ингредиентов. Это позволит использовать их в новых продуктах с бифидогенными свойствами. Доказано, что сывороточный белок может быть использован для инкапсуляции полифенолов в качестве материала стенки микрокапсул.

Ключевые слова. Зерновые продукты, фенольные соединения, инкапсулирование, комплексная коацервация, альбумин, глобулин, декстрины, ферментативный гидролиз, *in vitro*

Финансирование. Исследование финансировалось Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России) по Гранту Президента РФ для поддержки молодых ученых докторов наук (МД-1551.2020.11).

Для цитирования: Зяйнитдинов, Д. Р. Исследование иммобилизации полифенолов овсяных отрубей в комплексные коацерваты сывороточного белка и мальтодекстрина / Д. Р. Зяйнитдинов, А. В. Евтеев, А. В. Банникова // Техника и технология пищевых производств. – 2020. – Т. 50, № 3. – С. 460–469. DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-3-460-469>.

Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Immobilization of Oat Bran Polyphenols in Complex Coacervates of Whey Protein and Malthodextrin

Damir R. Z yaitdinov, Alexandr V. Ewteew^{ORCID}, Anna V. Bannikova*^{ORCID}

Received: June 01, 2020
Accepted: August 28, 2020

Vavilov Saratov State Agrarian University,
1, Teatralnaya square, Saratov, 410012, Russia

*e-mail: annbannikova@gmail.com



© D.R. Z yaitdinov, A.V. Ewteew, A.V. Bannikova, 2020

Abstract.

Introduction. Bioactive compounds are a very popular topic of modern food science, especially when it concerns obtaining polyphenols from cereals. The antiradical, antioxidant, and anti-inflammatory properties of these ingredients allow them to inhibit and prevent coronary, artery, and cardiovascular diseases, as well as several types of cancer. Encapsulation is an effective technology that protects bioactive ingredients during processing and storage. In addition, it also prevents any possible interaction with other food constituents. The research objective was to obtain effective tools of controlled delivery of bioactive compounds. The study featured whey protein as a wall material in combination with maltodextrin to encapsulate the bioactives from oat bran.

Study objects and methods. The processed material was oat bran. The technology of its biotransformation was based on ultrasound processing and enzymatic hydrolysis. The antioxidant properties were determined using a coulometer of Expert – 006-antioxidants type (Econix-Expert LLC, Moscow, Russia). Separation and quantitative determination of extract were followed using a Stayer HPLC device (Akvilon, Russia) and a system column Phenomenex Luna 5u C18(2) (250×4.6 mm). The total phenolic content was measured by a modified Folin-Ciocalteu method. To prepare microcapsules, whey protein concentrate (WPC) and maltodextrin (MD) solutions were mixed at ratios 6:4, 4:6, and 5:5. After that, the mixes were treated by ultrasonication and 10% w/w of guar gum solution as double wall material. The encapsulation efficiency (EE) was determined as a ratio of encapsulated phenolic content to total phenolic content. A digestion protocol that simulates conditions of the human gastric and intestinal tract was adapted to investigate the release kinetics of the extracts.

Results and discussion. Ferulic acid is the main antioxidant in cereals. Its amount during extraction was consistent with published data: 9.2 mg/mL after ultrasound exposure, 9.0 mg/mL after enzymatic extraction, and 8.6 mg/mL after chemical treatment. The antioxidant activity of the obtained polyphenols was quite high and reached 921 cu/mL. It depended on the concentration of the preparation in the solution and the extraction method. The polyphenols obtained by ultrasonic exposure and enzyme preparations proved to have a more pronounced antioxidant activity. The highest EE (95.28%) was recorded at WPC:MD ratio of 60:40. In vitro enzymatic hydrolysis protocol simulating digestion in the gastrointestinal tract was used to study the effect of capsule structural characteristics on the kinetics of polyphenol release. The percentage of o polyphenols released from capsules ranged from 70% to 83% after two hours of digestion, which confirmed the effectiveness of microencapsulation technology.

Conclusion. The research confirmed the possibility of using polyphenols obtained by the biotechnological method from oat bran as functional ingredients. Eventually, they may be used in new functional products with bifidogenic properties. Whey protein can be used to encapsulate polyphenols as the wall material of microcapsules.

Keywords. Cereals, phenolic compounds, encapsulation, complex coacervation, albumin, globulin, dextrans, enzymatic hydrolysis, *in vitro*

Funding. The study was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauka) as part of the Grant of the President of the Russian Federation for young Doctors of Science (No. MD-1551.2020.11).

For citation: Z yaitdinov DR, Ewteew AV, Bannikova AV. Immobilization of Oat Bran Polyphenols in Complex Coacervates of Whey Protein and Malthodextrin. Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(3):460–469. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-3-460-469>.

Введение

Значительная часть вторичных ресурсов зерновых культур сегодня не подвергается дальнейшей переработке. Структура и особенности химического состава позволяют данному сырью служить ценным источником необходимых для различных отраслей промышленности ингредиентов. Ежегодно в нашей стране образуется около пяти миллионов тонн вторичных зерновых ресурсов. Их полная переработка может способствовать возврату в промышленность огромных объемов сырья и повышению эффективности сельскохозяйственного производства. Если при традиционной обработке зерна стоимость конечной продукции возрастает в полтора раза, по сравнению с исходным материалом, то при глубокой переработке – в семь раз.

Фитонутриенты зерновых, включающие фенольные кислоты, флавоноиды, кумарины, полифенолы, фитаты, терпены, каротиноиды, токоферолы и токотриенолы, являются антиоксидантами. Эти соединения способствуют улучшению здоровья человека, благодаря способностям к акцептированию

свободных радикалов, комплексообразованию переходных металлов, подавлению активности атомарного кислорода, высоким восстановительным свойствам, а также защите ферментной системы активаторов биологических систем. Полифенолы связывают молекулы свободного железа, значительно уменьшая его количество, участвующего в окислительных реакциях и влияющего на скорость канцерогенеза [1]. Антиоксидантное действие полифенолов было признано на различных экспериментальных моделях инфаркта, пневмонии и язвы желудка. Защитная роль фенольных соединений против перекисного окисления липидов толстой кишки, связанного с высоким уровнем активного железа, была доказана экспериментальными исследованиями на крысах, мышах и свиньях [5, 6].

Известна способность многих полифенолов действовать в качестве агентов, стимулирующих работу мозга и сердца, предотвращающих или тормозящих образование раковых опухолей, укрепляющих кровеносные сосуды, а также их применение в качестве биологически активных

добавок в лечебном и диетическом питании [4]. Кроме этого, активность полифенолов в кишечнике, направленная на ингибирование расщепления крахмала, может снижать потребляемую калорийность. Это актуально в рамках разработки новых технологий для диабетического и низкокалорийного питания. Однако биодоступность полифенолов в пищевых продуктах не была должным образом исследована [11].

Биодоступность микронутриента характеризуется его химическим составом, временем прохождения пищи через кишечник, вязкостью и эмульсионными характеристиками продукта, формой микронутриента, которая определяет скорость и степень его всасывания, стабильностью в желудке и кишечнике при переваривании и метаболической функциональностью, т. е. легкостью превращения в метаболически активные или коферментные формы, а также взаимодействием между микронутриентом и другими микро- и макрокомпонентами пищевой системы [12–14, 16]. Взаимодействие микро- и макронутриентов может не только оказывать прямое разрушающее или инактивирующее воздействие, но и оказывать косвенное влияние путем снижения степени всасывания микронутриента в кишечнике [10, 11, 15, 17]. Анализ литературных источников показывает, что эффективное решение проблемы повышения усвояемости микронутриентов состоит в использовании технологий инкапсуляции [2, 3, 10–17].

Это исследование направлено на получение микрокапсул сывороточного белка – мальтодекстрина – методом комплексной коацервации с целью их использования в качестве материала стенки для полифенолов из овсяных отрубей. В статье изучена возможность решения проблемы химической стабильности полифенолов в желудочно-кишечном тракте человека. Эта работа направлена на адаптацию комплексной коацервации фенольных экстрактов и изучение их стабильности *in vitro* в тесной взаимосвязи между структурными свойствами полимерного носителя и высвобождением биологически активного соединения.

Объекты и методы исследования

Овсяные отруби сорта «Тюменский голозерный» оценивались по нормативно-технической документации на их качество и безопасность.

В работе использовались ферментные препараты «Sigma Aldrich»: α -амилаза из *Bacillus subtilis* (2000 ед/г), глюкоамилаза из *Aspergillus awamori* (6000 ед/г), протеаза из *Bacillus subtilis* (70 ед/г), фермент, разрушающий клеточную стенку, *Viscozyme L* из *Aspergillus sp.*, лизирующий фермент из *Aspergillus sp.* с рядом активностей (β -глюканаза – 100 ед/г, ксиланаза – 50 ед/г, целлюлаза – 70 ед/г, пектинэстераза – 40 ед/г и ферулоэстераза).

Концентрат сывороточного белка (СБК) поставлялся компанией Interfood Rusmol (Новая Зеландия). Порошок содержал 77 % белка, 6 % углеводов, 7 % жира. Мальтодекстрин (МД) был от Foodchem Ltd. (Китай). Значение DE составляет 15–20, 6 % влажности, pH 5 % раствора составляет 4,0–6,0. Аналитические реагенты: хлорид кальция, хлорид натрия, соляная кислота, одноосновный фосфат калия (BDH Chemicals, Poole, Англия); соли желчных кислот, панкреатин (6000 U) и пепсин (3600 U) (Aventis Farm Ltd., Индия).

Получение концентратов ксилоолигосахаридов (КОС) и полифенолов осуществляли согласно протоколу, описанному ранее [19, 20]. Экстракция включала основные этапы, повторяющиеся трижды: гомогенизацию измельченных отрубей, обработку ферментными препаратами «Амиллолюкс А» – α -амилазой, «Глюколюкс А» – глюкоамилазой, «Целлолюкс А», «Амиллолюкс А», «Глюкаварин Г18Х или ультразвуковое воздействие (УЗВ, 35 кГц, 30 мин, при 50 °С), термостатирование (55 °С в течение 3,5 ч) и центрифугирование (4000 об/мин в течение 20 мин). Концентрат биологически активных веществ (БАВ) был получен путем объединения и концентрирования супернатантов второй и третьей стадий экстракции при температуре 60 ± 5 °С в разряженной среде до конечной влажности 30 ± 2 %.

Для получения концентрата полифенолов и КОС проводили спиртовую экстракцию полученного концентрата БАВ, концентрирование до конечной влажности 30 ± 1 % и лиофильную сушку до конечной влажности 8 ± 1 %. Внешний вид концентратов полифенолов и КОС: мелко кристаллический порошок светло-желтого либо светло-коричневого цвета с ванильно-зерновым запахом [20].

Для определения суммы фенольных соединений анализируемого образца неизвестного состава измеренное светопоглощение пересчитывали в единицы концентрации по градуировочному графику, полученному для стандартного полифенола, например, кверцетина. Полученный результат является усредненным аналитическим откликом всех фенольных соединений, содержащихся в объекте анализа. Общее содержание полифенолов определяли с помощью реактива Фолина-Чокальтеу. В колбе на 25 мл смешивали исследуемый раствор, 0,3 мл реактива, 3 мл 20 % мас. Na_2CO_3 , доводили объем до метки. Светопоглощение растворов измеряли через 20 мин при 720 нм. Спектры поглощения в УФ и видимой областях измеряли при помощи спектрофотометра СФ-26 [19].

Антиоксидантную активность определяли на кулонометре «Эксперт – 006-антиоксиданты», разработанного и серийно выпускаемого НПК ООО «Эконикс-Эксперт» (г. Москва), № 23192-02 в Госреестре СИ РФ. Принцип работы анализатора основан на использовании закона Фарадея,

согласно которому масса анализируемого вещества определяется количеством электричества, израсходованного на проведение реакции. Анализатор регистрирует время электролиза и рассчитывает количество определяемого вещества n , содержащегося во введенной в кулонометрическую ячейку пробе. Величина n прямо пропорционально количеству электричества Q , проходящего через электролит [17, 19]:

$$n = \frac{M * Q}{z * F} = \frac{M * \int I dt}{z * F}$$

где M – молекулярная масса определяемого вещества; I – сила тока, А; t – время электролиза, с; z – количество электронов, переходящих в ходе электродной реакции; F – константа Фарадея ($96485,3415 \pm 0,0039$), Кл/моль.

Качественный и количественный состав фенольных веществ, входящих в концентраты полифенолов из овсяных отрубей, проводили методом ВЭЖХ на хроматографе «Стаер» (Россия, НПО «Аквилон») с использованием обращенно-фазовой колонки Phenomenex Luna 5u C18(2) (250×4.6мм) [17, 19].

Идентификацию веществ в исследуемых экстрактах проводили путем сравнения времени удерживания и спектральных характеристик исследуемых веществ с аналогичными характеристиками стандартов. Спектральные характеристики веществ и степень их сходства со стандартами определяли при 225, 255, 286 и 350 нм. Для точной идентификации или определения принадлежности исследуемых веществ к определенным группам полифенолов использовали следующие внешние стандарты: хлорогеновая, феруловая, галловая, кофейная, 4-гидроксibenзойная и п-кумаровая кислоты.

Приготовление микрокапсул. 10 % СБК растворяли в дистиллированной воде при осторожном магнитном перемешивании при 60–80 °С в течение 30 мин до полного растворения. 10 % МД растворяли в дистиллированной воде при слабом магнитном перемешивании при 50–60 °С в течение 1 ч. СБК и МД смешивали в соотношениях 10:0, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8 и при слабом магнитном перемешивании в течение 1 ч. 10 % экстракта КОС и полифенолов добавляли к раствору СБК и МД в соотношении 1:10 и перемешивали с использованием магнитной мешалки (Wisestir MSH-20 D, Корея) в течение 15 мин. Затем смеси обрабатывали ультразвуком при мощности 160 Вт, частоте 20 кГц и импульсе 50 % (Sonic Vibra cell USA). Для обеспечения дополнительной защиты полученных микрокапсул было внесено 0,5 % водного раствора гуаровой камеди (10 %) при постоянном перемешивании. Микрокапсулы были лиофильно высушены до получения однородной порошкообразной массы светло-желтого цвета. Их хранили при температуре +4–6 °С.

Ферментативный гидролиз in vitro. На стадии модельного «желудка» к 25 г капсул добавляли

500 мл подогретого (37 °С) имитированного желудочного сока (2 % раствор NaCl в деионизированной воде, pH 2 (1 М HCl) и 3600 U/мл пепсина). Образцы инкубировали на водяной бане (37 °С) при постоянном встряхивании в течение заданного промежутка времени. По истечении 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 и 120 мин образцы отбирались и промывались деионизированной водой.

На стадии модельного «кишечника» к 20 ± 2 г капсулам, предварительно прошедших стадию модельного «желудка» в течение 2 ч, добавляли 400 мл нагретой (37 °С) имитированной кишечной жидкости (0,68 % одноосновного фосфата калия; 0,1 % солей желчных кислот; 0,4 % панкреатин). Значение pH доводили до 7,5 с помощью 0,5 М NaOH (~ 40 мл). Образцы инкубировали при 37 °С при постоянном встряхивании в течение заданного интервала времени (до 20 мин) [2].

Для определения *содержания фенольных соединений на поверхности капсул* 100 мг микрокапсул диспергировали в 1 мл смеси этанола и метанола (1:1) в течение 1 мин и определяли количественно сумму фенольных соединений [14].

Эффективность инкапсуляции (ЕЕ) представляет собой отношение содержания инкапсулированных фенольных соединений к общему их количеству (TPC). Содержание инкапсулированного фенола определяется путем взятия разности суммы фенольных соединений (TPC) и содержания фенолов на поверхности капсул (SPC). Эффективность инкапсуляции микрокапсул рассчитывали по уравнению [2, 12]:

$$EE = \left(\frac{TPC - SPC}{TPC} \right) \times 100$$

Изображения микрокапсул были получены на просвечивающем электронном микроскопе Zeiss Libra 120.

Результаты и их обсуждение

Качественная характеристика полифенолов из отрубей овса. Большая часть фенольных соединений находится в связанном виде (85 % в зерне кукурузы, 76 % – пшеницы, 75 % – овса, 62 % – риса). Феруловая кислота является основной фенольной кислотой полифенольного состава в зерне овса, на порядки превышая кумаровую, хлорогеновую, галловую и протокатеховую кислоты [4, 9]. Феруловая кислота – это диетический антиоксидант, который может тормозить развитие онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний, диабета и болезни Альцгеймера [18]. Литературные данные показывают, что антиоксидантная активность зерновых зависит от профиля антоцианов, фенольных и других соединений. Кроме того, антиоксидантный потенциал зерновых обусловлен их биодоступностью и всасыванием в желудочно-кишечном тракте [9].

Как показано на рисунке 1, количество феруловой кислоты при экстракции согласуется

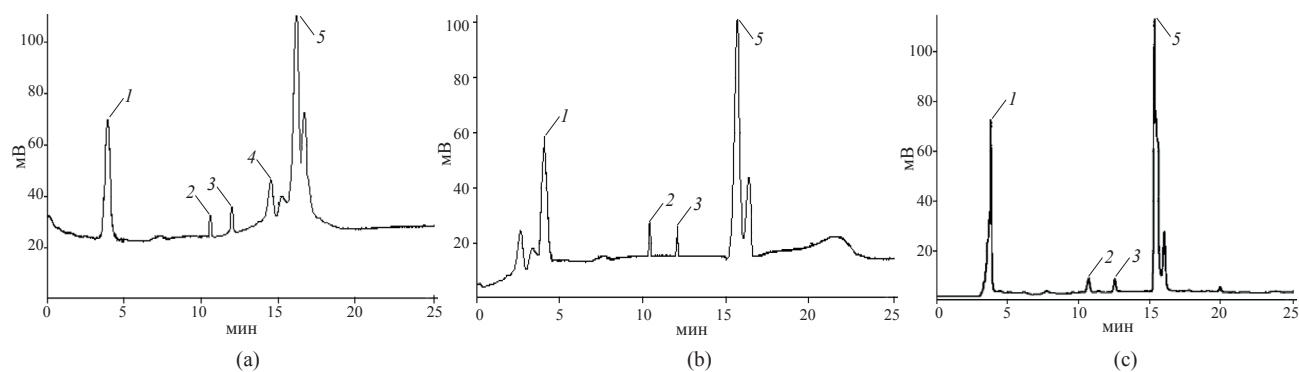


Рисунок 1. Хроматограмма концентрата полифенолов, полученных: (а) с применением УЗВ; (б) химическим; (с) ферментативным методами экстракции: 1 – галловая, 2 – 4-гидроксибензойная, 3 – хлорогеновая, 4 – п-кумаровая, 5 – феруловая кислоты

Figure 1. Chromatogram of the polyphenol concentrate obtained: (a) after ultrasound treatment; (b) after chemical treatment; (c) by enzymatic extraction methods: 1 – gallic acid, 2 – 4-hydroxybenzoic acid, 3 – chlorogenic acid, 4 – p-coumaric acid, 5 – ferulic acid

с литературными данными (9,2 мг/мл при УЗВ воздействии, 9,0 мг/мл при ферментативном методе экстракции, 8,6 мг/мл – при химическом). Однако видно, что выход феруловой кислоты несколько выше при экстракции с помощью УЗВ и ферментных препаратов. Это связано с тем, что при ферментативной обработке под действием УЗВ и ферментов с активностью ксилоназы, целлюлазы и пектинэстеразы происходят процессы гидролитического расщепления полисахаридов, арабиноксилолигосахаридов и частично целлюлозы с выделением связанных полифенолов [4].

Антиоксидантная активность полученных экстрактов достаточно высока и зависит от концентрации полифенолов [19, 20]. Она варьируется в диапазоне от 159 у.е.а./мл при концентрации 5 мг/мл и 1130 у.е.а./мл при 30 мг/мл, что согласуется с данными из литературы. Однако обработка ферментами способствует получению продукта более с высокой антиоксидантной активностью. Антиоксидантная активность концентрата полифенолов с концентрацией 20 мг/мл при экстракции с помощью УЗВ составляет 865 у.е.а./мл, ферментных препаратов 921,1 у.е.а./мл, а при химическом методе – 752,7 у.е.а./мл.

Стабильность и эффективность полифенолов зависит от света, pH, температуры обработки и хранения. Инкапсулирование является одним из известных методов, которое используется для повышения стабильности и срока годности фенольных соединений. Инкапсулирование защищает необходимый компонент от неблагоприятных факторов окружающей среды [2, 3, 10–17]. В этой связи на следующем этапе исследования будет рассмотрен процесс инкапсуляции полифенолов из отрубей овса с использованием комплексов белок-мальтодекстрин.

Изучение инкапсулирования полифенолов из отрубей овса в комплексы белок-мальтодекстрин.

Сывороточные белки (альбумины и глобулины) содержат оптимальный набор жизненно необходимых аминокислот и с точки зрения физиологии питания приближаются к аминокислотной шкале «идеального белка». В нем соотношение аминокислот соответствует потребностям организма, а по содержанию незаменимых аминокислот и аминокислот с разветвленной цепью (валина, лейцина и изолейцина) «идеальный белок» превосходит все остальные белки животного и растительного происхождения. Сывороточные белки стимулируют иммунную систему, повышая уровень инсулиноподобного фактора роста, и понижают содержание холестерина сильнее, чем казеин и соевый белок. Кроме того, сывороточные белки имеют низкий гликемический показатель. Это позволяет оптимизировать выделение инсулина, регулируя уровень глюкозы в крови и тем самым предотвращая возникновение диабета второго типа. Использование сывороточных белков в пищевых технологиях является физиологически обоснованным и приоритетным направлением [12]. В новых технологических решениях белок молочной сыворотки получил широкий интерес в этом отношении благодаря своим функциональным свойствам. Предпочтения использования белка молочной сыворотки включают способность контролировать скорость высвобождения малых молекул с изменением pH через карбоксильные и аммониевые группы в полипептидных цепях, которые регулируют свои протоны до кислой или нейтральной среды [7, 8].

Передовые технологии для успешного использования биологически активных веществ в пищевой промышленности направлены на применение многофункциональной технологии инкапсуляции. Реальным преимуществом инкапсуляции является способность поддерживать высвобожденные включенных ингредиентов и доставлять их для

конкретной цели в течение определенного времени и в определенных условиях. В биомедицинском и фармацевтическом секторе многие синтетические полимеры были успешно использованы в качестве систем доставки, которые не применимы в пищевой промышленности [8].

Ассоциативные взаимодействия между противоположно заряженными макромолекулами белков и полисахаридов в определенных условиях сопровождаются самопроизвольным расслоением системы на две жидкие фазы: фазу с высокой плотностью, обогащенную обоими биополимерами (коацерват), и ее супернатант. Основной движущей силой этого процесса, называемой комплексной коацервацией, являются электростатические взаимодействия. Важным аспектом применения комплексной коацервации является инкапсулирование пищевых ингредиентов. Образующаяся в водной смеси биополимеров коацерватная фаза способна обволакивать диспергированные в той же системе микрочастицы биологически активного вещества тонкой пленкой, образуя капсулы при высушивании [7, 8].

Анализ литературных источников показывает, что существует большое количество примеров инкапсуляции полифенолов с использованием сывороточного белка, способствующей поддержанию антиоксидантной активности экстрактов и возможности их включения в функциональные продукты питания [3, 14, 16]. Использовались различные комбинации материалов стенок капсул (мальтодекстрин/арабийская камедь, мальтодекстрин/желатин, мальтодекстрин/хитозан и

мальтодекстрин/ β -циклодекстрин/арабская камедь) для микрокапсулирования фенольных соединений. Выявлено, что микрокапсулы, полученные с помощью мальтодекстрина и хитозана, показали высокий уровень удержания фенолов (выше 94 %) по сравнению с другими микрокапсулами (между 80 % и 90 %). Кроме того, микрокапсулы с гладкой внешней поверхностью продемонстрировали лучшую защиту фенольных соединений [16]. Микрокапсулы улучшают стабильность фенольных соединений, представляя потенциал для коммерческого применения в нутрицевтических и пищевых продуктах. В настоящей работе исследовался потенциал комплексной коацервации сывороточного белка и мальтодекстрина в рамках защиты и контролируемого высвобождения полифенолов из отрубей овса.

В целях выявления комплексообразования между СБК и МД была использована просвечивающая электронная микроскопия. Кроме этого, данный метод позволит идентифицировать пригодно ли соотношение СБК и МД в качестве материала стенки капсул для инкапсулирования полифенолов и КОС (рис. 2).

Изображения частиц капсул показывают, что капсулы имеют правильную и ровную форму. Было выявлено, что материал стенок микрокапсул при соотношении СБК и МД 60:40 демонстрировал наименьший диаметр частиц (от 321 до 338 нм). Результаты показали, что использование СБК и МД в качестве материала стенки микрокапсул возможно для микрокапсулирования полифенолов и КОС. Это согласуется с результатами, полученными ранее [1, 19, 20].

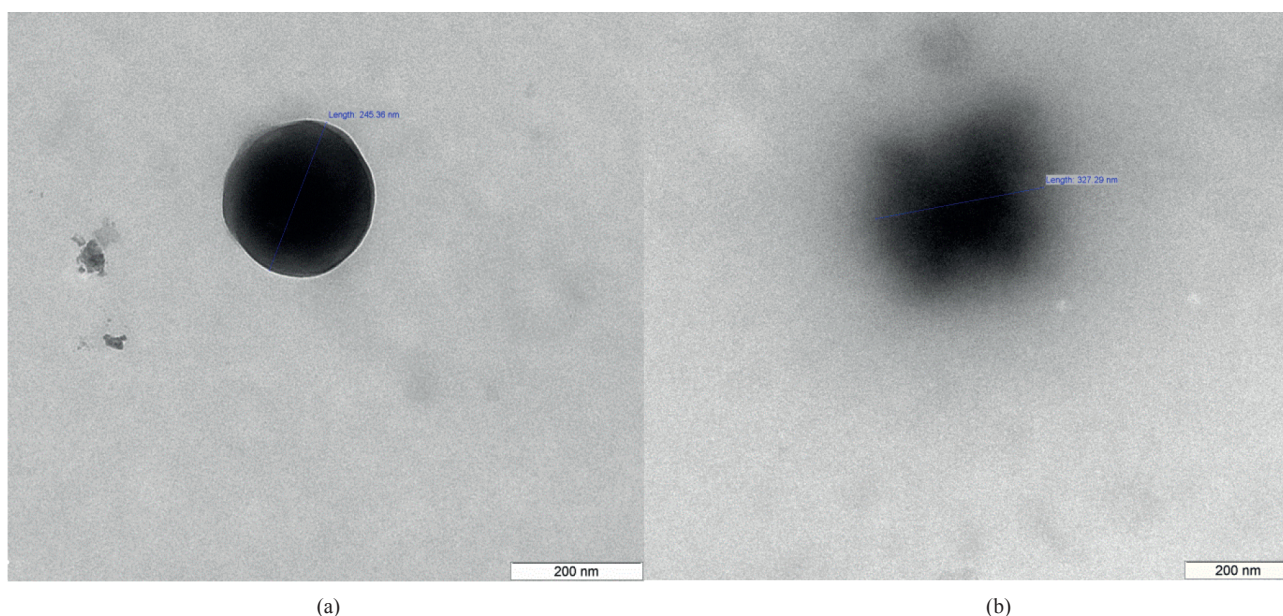


Рисунок 2. Микрофотографии просвечивающего электронного микроскопа лиофилизированных микрокапсул при соотношении СБК:МД (а) 60:40; (б) 40:60

Figure 2. Transmission electron micrographs of lyophilized microcapsules at a WPC:MD ratio of (a) 60:40; (b) 40:60

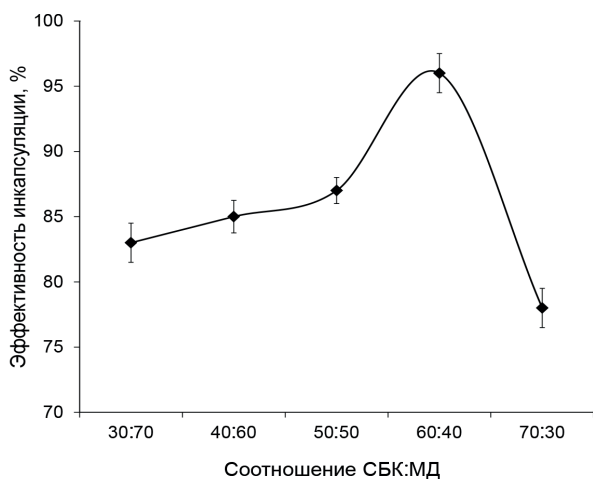


Рисунок 3. Эффективность инкапсуляции при различных соотношениях СБК и МД

Figure 3. Efficiency of encapsulation at various WPC:MD ratios

Эффективность инкапсуляции микрокапсул СБК и МД представлена на рисунке 3. Результаты данного исследования не выявили значительных изменений в данном показателе у всех образцов. Однако самый высокий показатель ЭИ, равный 95,3 %, был зафиксирован при соотношении СБК:МД в 60:40. L. Mihalcea с соавторами и F. M. Ursache с соавторами изучали стабилизацию каротиноидов микроинкапсулированием с использованием изолята сывороточного белка в качестве материала стенки [10, 16]. Эффективность инкапсуляции в обеих работах варьировалась от 41 % до 56 %, что значительно ниже полученных результатов.

Как видно на рисунке 4, процент высвобождения из микрокапсул полифенолов составлял от 70 до 83 % после 2 ч процесса ферментативного гидролиза *in vitro*. В ходе инкапсулирования меньшее количество полифенолов остается на поверхности. Наблюдалась значительная ($P > 0,05$) разница между содержанием поверхностных полифенолов в смеси, имеющей СБК в качестве основного материала стенок. Это означает, что присутствие МД улучшило эффективность СБК как носителя полифенольных компонентов.

Показано, что высвобождение полифенолов из капсул было наименее выраженным в первые 2 ч ферментативного гидролиза (т. е. фаза «искусственного желудка»), что связано с многослойностью их получения и усилением способности противостоять кислой среде. Однако образцы, содержащие СБК:МД в соотношении 60:40, были наименее стабильными, сохраняя минимальное количество биологически активных веществ в матрице. Это связано с выраженным эффектом денатурации белковой молекулы. Данные также показывают, что максимальное высвобождение было достигнуто в условиях, имитирующих кишечник, т. е. после 120 мин экспериментов, подчеркивая

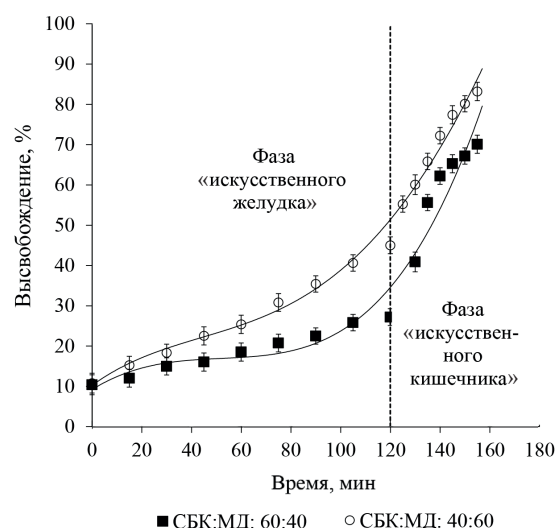


Рисунок 4. Процент полифенолов, высвобождаемых из микрокапсул СБК:МД при различных соотношениях в ходе процесса ферментативного гидролиза *in vitro*

Figure 4. Percentage of polyphenols released from WPC:MD microcapsules at different ratios during the *in vitro* enzymatic hydrolysis process

структурную стабильность всех капсул на желудочной стадии.

Выводы

В ходе работы проведено исследование иммобилизации концентрата полифенолов в коацерваты сывороточного белкового концентрата и мальтодекстрина. Изучены свойства полифенолов, полученные биотехнологическим методом из отрубей овса. Выявлено, что феруловая кислота является основной фенольной кислотой полифенольного состава полученного экстракта, выход которой выше при экстракции с помощью УЗВ и ферментных препаратов. Показано, что сывороточный белок, считающийся отходом производства сыра, может быть использован для инкапсуляции полифенолов в качестве материала стенки. Впервые было выявлено, что комбинация СБК и МД в соотношении 60:40 показала лучшие значения эффективности инкапсуляции. Кроме этого, капсулы, стенки которых имели данную комбинацию, показали наибольшее высвобождение полифенолов в режиме имитируемого желудочно-кишечного тракта человека после 120 мин. Была подтверждена возможность биотехнологии овсяных отрубей для получения функциональных ингредиентов, что позволит использовать их в новых продуктах с бифидогенными свойствами. В будущем будут учтены вопросы о взаимосвязях между структурными компонентами матриц, дано теоретическое обоснование инкапсуляции и изучено влияние на организм лабораторных животных.

Критерии авторства

Д. Р. Зяйнитдинов – получение экспери-

ментальных данных, обработка данных, написание и подготовка рукописи. А. В. Евтеев – получение экспериментальных данных, методология, программное обеспечение, валидация. А. В. Банникова – руководство, написание, рецензирование и редактирование.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

D.R. Zaynitdinov was responsible for obtaining and processing the experimental data and prepared the manuscript. A.V. Evteev performed the experiments, developed the methodology, provided software, and conducted the final validation. A.V. Bannikova supervised the project, as well as reviewed and edited the final text.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Список литературы

1. Arabshahi-D, S. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability / S. Arabshahi-D, D. Vishalakshi Devi, A. Urooj // Food Chemistry. – 2007. – Vol. 100, № 3. – P. 1100–1105. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.014>.
2. Protein-loaded sodium alginate and carboxymethyl cellulose beads for controlled release under simulated gastrointestinal conditions / A. Bannikova, L. Rasumova, A. Evteev [et al.] // International Journal of Food Science and Technology. – 2017. – Vol. 52, № 10. – P. 2171–2179. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13496>.
3. Microencapsulation of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) and powder characterization / S. J. Calva-Estrada, M. R. Mendoza, O. García [et al.] // Powder Technology. – 2018. – Vol. 323. – P. 416–423. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.10.035>.
4. Fardet, A. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: What is beyond fibre? / A. Fardet // Nutrition Research Reviews. – 2010. – Vol. 23, № 1. – P. 65–134. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954422410000041>.
5. Variation of polyphenols, anthocyanins and antioxidant power in the strawberry grape (*Vitis labrusca*) after simulated gastro-intestinal transit and evaluation of *in vitro* antimicrobial activity / T. Granese, F. Cardinale, A. Cozzolino [et al.] // Food and Nutrition Sciences. – 2014. – Vol. 5. – P. 60–65. DOI: <https://doi.org/10.4236/fns.2014.51008>.
6. Heinritz, S. N. Use of pigs as a potential model for research into dietary modulation of the human gut microbiota / S. N. Heinritz, R. Mosenthin, E. Weiss // Nutrition Research Reviews. – 2013. – Vol. 26, № 2. – P. 191–209. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954422413000152>.
7. Huang, X. Hydrocolloids in emulsions: Particle size distribution and interfacial activity / X. Huang, Y. Kakuda, W. Cui // Food Hydrocolloids. – 2001. – Vol. 15, № 4–6. – P. 533–542. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00091-1](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00091-1).
8. Kasapis, S. Phase separation in biopolymer gels: A low- to high-solid exploration of structural morphology and functionality / S. Kasapis // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2008. – Vol. 48, № 4. – P. 341–359. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408390701347769>.
9. Masisi, K. Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on *in vitro* and *in vivo* studies / K. Masisi, T. Beta, M. H. Moghadasian // Food Chemistry. – 2016. – Vol. 196. – P. 90–97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.021>.
10. Encapsulation of carotenoids from sea buckthorn extracted by CO₂ supercritical fluids method within whey proteins isolates matrices / L. Mihalea, M. Turturică, I. O. Ghinea [et al.] // Innovative Food Science and Emerging Technologies. – 2017. – Vol. 42. – P. 120–129. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.06.008>.
11. Millqvist-Fureby, A. Approaches to encapsulation of active food ingredients in spray-drying / A. Millqvist-Fureby // ACS Symposium Series. – 2009. – Vol. 1007. – P. 233–245. DOI: <https://doi.org/10.1021/bk-2009-1007.ch015>.
12. Diffusion of nicotinic acid in spray-dried capsules of whey protein isolate / N. Panyoyai, A. Bannikova, D. M. Small [et al.] // Food Hydrocolloids. – 2016. – Vol. 52. – P. 811–819. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.022>.
13. Paramita, V. D. Release mechanism of omega-3 fatty acid in κ-carrageenan/polydextrose undergoing glass transition / V. D. Paramita, A. Bannikova, S. Kasapis // Carbohydrate Polymers. – 2015. – Vol. 126. – P. 141–149. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.027>.
14. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) / C. Saéñz, S. Tapia, J. Chávez [et al.] // Food Chemistry. – 2009. – Vol. 114, № 2. – P. 616–622. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.095>.
15. Microencapsulation of essential oils within alginate: formulation and *in vitro* evaluation of antifungal activity / E. A. Soliman, A. Y. El-Moghazy, M. S. Mohy El-Din [et al.] // Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences. – 2013. – Vol. 3, № 1. – P. 48–55. DOI: <https://doi.org/10.4236/jeas.2013.31006>.
16. Valorizations of carotenoids from sea buckthorn extract by microencapsulation and formulation of value-added food products / F. M. Ursache, D. G. Andronoiu, I. O. Ghinea [et al.] // Journal of Food Engineering. – 2018. – Vol. 219. – P. 16–24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.09.015>.

17. Effect of different encapsulating agent combinations on physicochemical properties and stability of microcapsules loaded with phenolics of plum (*Prunus salicina* lindl.) / L. Yinbin, L. Wu, M. Weng [et al.] // Powder Technology. – 2018. – Vol. 340. – P. 459–464. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.09.049>.
18. Zhao, Z. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review / Z. Zhao, M. H. Moghadasian // Food Chemistry. – 2008. – Vol. 109, № 4. – P. 691–702. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.039>.
19. Оценка возможности получения концентратов полифенолов из вторичных продуктов переработки зерна / А. В. Битюкова, А. А. Амелькина, А. В. Евтеев [и др.] // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. – 2019. – Т. 56, № 3. – С. 61–68.
20. Разработка биотехнологии получения фитовеществ из вторичных продуктов переработки зерна / А. В. Битюкова, А. А. Амелькина, А. В. Евтеев [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2019. – Т. 49, № 1. – С. 5–13. DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-1-5-13>.

References

1. Arabshahi-D S, Vishalakshi Devi D, Urooj A. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. Food Chemistry. 2007;100(3):1100–1105. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.014>.
2. Bannikova A, Rasumova L, Evteev A, Evdokimov I, Kasapis S. Protein-loaded sodium alginate and carboxymethyl cellulose beads for controlled release under simulated gastrointestinal conditions. International Journal of Food Science and Technology. 2017;52(10):2171–2179. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13496>.
3. Calva-Estrada SJ, Mendoza MR, García O, Jiménez-Fernández VM, Jiménez M. Microencapsulation of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) and powder characterization. Powder Technology. 2018;323:416–423. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.10.035>.
4. Fardet A. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: What is beyond fibre? Nutrition Research Reviews. 2010;23(1):65–134. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954422410000041>.
5. Granese T, Cardinale F, Cozzolino A, Pepe S, Ombra MN, Nazzaro F, et al. Variation of polyphenols, anthocyanins and antioxidant power in the strawberry grape (*Vitis labrusca*) after simulated gastro-intestinal transit and evaluation of *in vitro* antimicrobial activity. Food and Nutrition Sciences. 2014;5:60–65. DOI: <https://doi.org/10.4236/fns.2014.51008>.
6. Heinritz SN, Mosenthin R, Weiss E. Use of pigs as a potential model for research into dietary modulation of the human gut microbiota. Nutrition Research Reviews. 2013;26(2):191–209. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954422413000152>.
7. Huang X, Kakuda Y, Cui W. Hydrocolloids in emulsions: Particle size distribution and interfacial activity. Food Hydrocolloids. 2001;15(4–6):533–542. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00091-1](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00091-1).
8. Kasapis S. Phase separation in biopolymer gels: A low- to high-solid exploration of structural morphology and functionality. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2008;48(4):341–359. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408390701347769>.
9. Masisi K, Beta T, Moghadasian MH. Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on *in vitro* and *in vivo* studies. Food Chemistry. 2016;196:90–97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.021>.
10. Mihalcea L, Turturică M, Ghinea IO, Barbu V, Ioniță E, Cotârleț M, et al. Encapsulation of carotenoids from sea buckthorn extracted by CO₂ supercritical fluids method within whey proteins isolates matrices. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2017;42:120–129. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.06.008>.
11. Millqvist-Fureby A. Approaches to encapsulation of active food ingredients in spray-drying. ACS Symposium Series. 2009;1007:233–245. DOI: <https://doi.org/10.1021/bk-2009-1007.ch015>.
12. Panyoyai N, Bannikova A, Small DM, Shanks RA, Kasapis S. Diffusion of nicotinic acid in spray-dried capsules of whey protein isolate. Food Hydrocolloids. 2016;52:811–819. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.022>.
13. Paramita VD, Bannikova A, Kasapis S. Release mechanism of omega-3 fatty acid in κ-carrageenan/polydextrose undergoing glass transition. Carbohydrate Polymers. 2015;126:141–149. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.027>.
14. Saénz C, Tapia S, Chávez J, Robert P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). Food Chemistry. 2009;114(2):616–622. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.095>.
15. Soliman EA, El-Moghazy AY, Mohy El-Din MS, Massoud MA. Microencapsulation of essential oils within alginate: formulation and *in vitro* evaluation of antifungal activity. Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences. 2013;3(1):48–55. DOI: <https://doi.org/10.4236/jeas.2013.31006>.
16. Ursache FM, Andronoiu DG, Ghinea IO, Barbu V, Ioniță E, Cotârleț M, et al. Valorizations of carotenoids from sea buckthorn extract by microencapsulation and formulation of value-added food products. Journal of Food Engineering. 2018;219:16–24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.09.015>.
17. Yinbin L, Wu L, Weng M, Tang B, Lai P, Chen J. Effect of different encapsulating agent combinations on physicochemical properties and stability of microcapsules loaded with phenolics of plum (*Prunus salicina* lindl.). Powder Technology. 2018;340:459–464. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.09.049>.
18. Zhao Z, Moghadasian MH. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. Food Chemistry. 2008;109(4):691–702. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.039>.

19. Bityukova AV, Amelkina AA, Evteev AV, Bannikova AV. Evaluation of opportunity to obtain polyphenol concentrates from secondary products of grain processing. *Technology and merchandising of the innovative foodstuff*. 2019;56(3):61–68. (In Russ.).


20. Bityukova AV, Amelkina AA, Evteev AV, Bannikova AV. New Biotechnology for the Production of Phytocompounds from Secondary Products of Grain Processing. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(1):5–13. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-1-5-13>.

Сведения об авторах

Зяйнитдинов Дамир Равильевич

ассистент, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова» 410012, Россия, г. Саратов, Театральная площадь, 1, тел.: +7 (902) 046-49-96

Евтеев Александр Викторович

ведущий специалист учебно-научно-испытательной лаборатории по определению качества пищевой и сельскохозяйственной продукции, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова» 410012, Россия, г. Саратов, Театральная площадь, 1, тел.: +7 (987) 838-19-65, e-mail: ewteew@gmail.com
 <https://orcid.org/0000-0002-6155-3851>

Банникова Анна Владимировна


д-р техн. наук, профессор кафедры технологии продуктов питания, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова» 410012, Россия, г. Саратов, Театральная площадь, 1, тел.: +7 (937) 245-12-20, e-mail: annbannikova@gmail.com
 <https://orcid.org/0000-0002-8299-7208>

Information about the authors


Damir R. Zyaitdinov

Assistant, Vavilov Saratov State Agrarian University, 1, Teatrnaya square, Saratov, 410012, Russia, phone: +7 (902) 046-49-96

Alexandr V. Ewteew

Leading Specialist of the Educational, Scientific and Testing Laboratory for the Determination of Quality of Foods and Agricultural Products, Vavilov Saratov State Agrarian University, 1, Teatrnaya square, Saratov, 410012, Russia, phone: +7 (987) 838-19-65, e-mail: ewteew@gmail.com
 <https://orcid.org/0000-0002-6155-3851>

Anna V. Bannikova

Dr.Sci.(Eng.), Professor of the Department of Food Technology, Vavilov Saratov State Agrarian University, 1, Teatrnaya square, Saratov, 410012, Russia, phone: +7 (937) 245-12-20, e-mail: annbannikova@gmail.com
 <https://orcid.org/0000-0002-8299-7208>