

НАНОТЕХНОЛОГИИ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

А.Н. Мамцев, В.Н. Козлов, А.В. Акулич, Л.Ф. Пономарева

Представлены данные по изучению наноразмерности биологически активных добавок, рекомендованных для йодирования продуктов питания массового спроса. Показано, что комплексы «йод-β-циклодекстрин-инулин» и «о-йодбензойная кислота-β-циклодекстрин» образуют в водных растворах нанодисперсные системы с размерами частиц дисперсной фазы < 350 нм.

Введение

В настоящее время большее внимание уделяется нанотехнологиям – технологиям направленного манипулирования материальными объектами, имеющими околмолекулярные размеры в пределах 1–100 нм (нм – нанометр, $1 \cdot 10^{-9}$ м) [7–9]. Нанотехнологии открывают широкие перспективы в получении материалов с принципиально новыми полезными характеристиками [5]. При этом из-за малого размера частиц, входящих в состав искусственных наноматериалов (ИНМ), у них появляются новые уникальные свойства, которые отсутствуют у веществ, представленных сплошными фазами или макроскопическими дисперсиями. Одно из важных направлений – использование ИНМ в производстве пищевых продуктов. Сегодня в числе применяемых в этой области нанотехнологий: 1) нанонутриенты – пищевые вещества, диспергированные до частиц размером < 100 нм в целях повышения их биодоступности; 2) транспортные наносистемы, призванные повысить усвояемость нутриентов за счет их связывания с наноразмерным носителем; 3) наноинкапсуляты, позволяющие сочетать в составе комплексного продукта химически несовместимые пищевые вещества; 4) наноструктурированные пищевые добавки, придающие продуктам новые, необычные функциональные свойства; 5) наноматериалы, применяемые при производстве упаковочного материала для пищевых продуктов; 6) наносенсоры и нанодатчики, используемые для контроля качества и безопасности пищевых продуктов. Использование нанотехнологий в пищевых производствах по ряду направлений тесно сопрягается с перспективами их применения в медицине и промышленности косметических средств [1, 4–6, 10, 11]. Использование наноструктурированных препаратов позволяет существенным образом повысить селективность действующего начала за счет пролонгации физиологических эффектов [2]. Медицинские препараты на основе наночастиц вытесняют в некоторых областях традиционные лекарственные формы. Основные сферы их применения – онкология и производство вакцин. В других направлениях, в том числе в пищевой индустрии, успехи менее впечатляющие.

Целью настоящего исследования являлась оценка механизмов комплексообразования анионов йода с органическими матрицами и оценка наноразмерности йодбиоорганических комплексов.

Результаты исследований и их обсуждения

В качестве объектов исследования были выбраны следующие виды биологически активных добавок: йодхитозан (ТУ № 9289-001-82045908-10), содержащий хитозан пищевой низкомолекулярный, НМ-В-геллановую камедь, йодид калия и йод кристаллический; йодказеин (ТУ № 9229-001-79899185-07) на основе молочного белка (казеин) и йода; фитойод (ТУ № 9199-001-48859312-06) на основе пектина цитрусового, йодида калия и йода кристаллического; йодсодержащий комплекс на основе бета-циклодекстрина («Cavatax W7», Германия) и инулина пищевого, изготовленного по ТУ № 9187-002-97357430-09, нанодисперсный композит «о-йодбензойная-β-глицерризиновая кислота» [3].

Определение структуры йодбиоорганических соединений проводили методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса с помощью высокопольного цифрового ЯМР-спектрометра частотой от 500,13 МГц (^1H) и 125,47 МГц (^{13}C) фирмы «Bruker BioSpin» с ис-

пользованием 5 мм датчика с Z-градиентом РАВВО при постоянной температуре образца 298 К. Химические сдвиги в спектрах ЯМР ^{13}C , ^1H приведены в м.д. относительно сигнала внутреннего стандарта (ТМС). Спектры ЯМР ^{13}C с подавлением по протонам были зарегистрированы при следующих условиях: спектральное окно – 29,8 кГц, количество точек – 64 К, длительность возбуждающего импульса (30°) – 3,2 мкс, релаксационная задержка – 2 с, количество проходов 512÷2048. Редактирование спектров ЯМР ^{13}C проводилось на основании экспериментов DEPT-90 в DEPT-135 [5].

Определение размеров частиц проводилось на приборе SALD-7101 (Shimadzu). Рабочий диапазон измерений от 10 нм до 300 мкм. Длина волны полупроводникового лазера 375 нм. Концентрация растворов 0,5 % (массовых). Измерения проводились в воде при постоянном перемешивании по всему объему кварцевой кюветы (7 мл).

Результаты измерений йодбиополимеров представлены в виде распределения частиц по размерам, которое показывает долю частиц с данным диаметром. При смешении образцов с водой образуются надмолекулярные агрегаты (мицеллы). Поэтому приведенные результаты правильнее будет относить именно к таким образованиям, а не к более или менее элементарным частицам порошков.

На рисунке 1 приведены результаты исследования размеров частиц низкомолекулярного хитозана, БАД «йодхитозан», казеина и БАД «йодказеин».

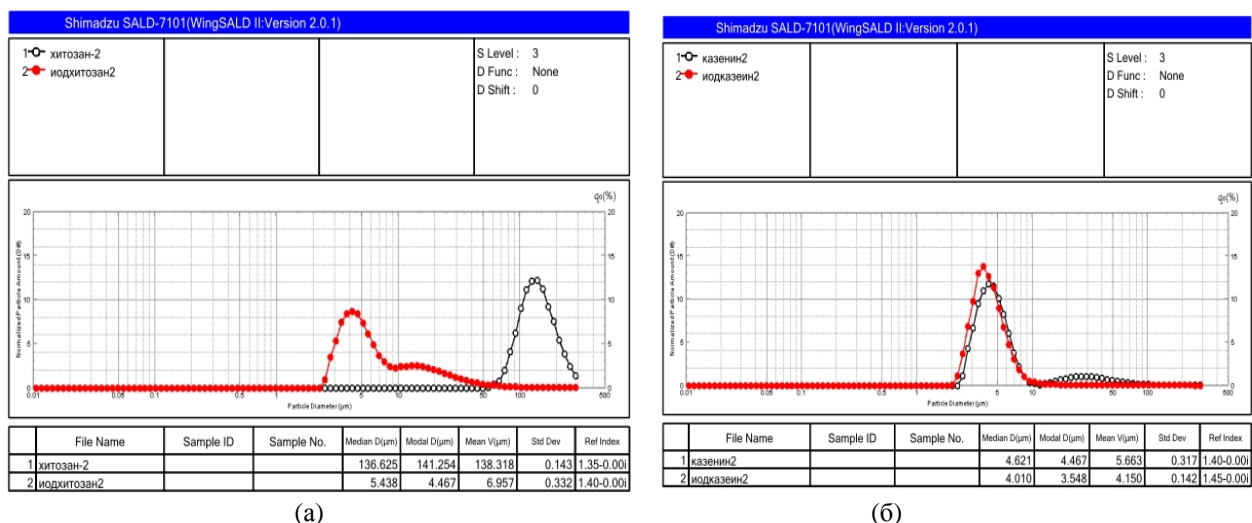


Рисунок 1 – Размеры частиц хитозана и БАД «Йодхитозан» (а); частиц казеина и БАД «Йодказеин» (б)

Установлено, что наиболее крупные частицы имеет хитозан – диаметром порядка 141,2 мкм. Модификация хитозана йодом приводит к существенному снижению размеров частиц образуемой им дисперсии в воде, где диаметр частиц равен 4,5 мкм. При этом в последнем случае распределение имеет бимодальный характер с наличием мелкодисперсного «хвоста» в области 9–30 мкм. Можно предположить, что бимодальность некоторых распределений обусловлена нестационарностью процесса образования надмолекулярных агрегатов и связана с появлением частиц разной природы. Менее существенные изменения имеют место в случае казеина, где модификация с йодом (йодказеин) приводит к снижению размеров с 4,5 мкм до 3,5 мкм. Йод и пектин при смешении с водой образуют очень грубую дисперсию из слипшихся частиц, неоднородно распределенных по объему дисперсной среды, что делает невозможным их анализ данным методом. Комплексное соединение, состоящее из β -циклодекстрина, инулина и калия йодида растворимо в воде; в рабочем диапазоне частиц не обнаружено (или они много меньше 10 нм).

При изучение механизмов взаимодействия анионов йода с комплексом хитозан+геллановая камедь методом ядрено-магнитного резонанса в образце БАД йодхито-

зан зарегистрированы спектры ЯМР ^{13}C и ^1H . В спектре ЯМР ^1H имеются сигналы, принадлежащие геллановой камеди, и сигналы хитозана (рисунок 2).

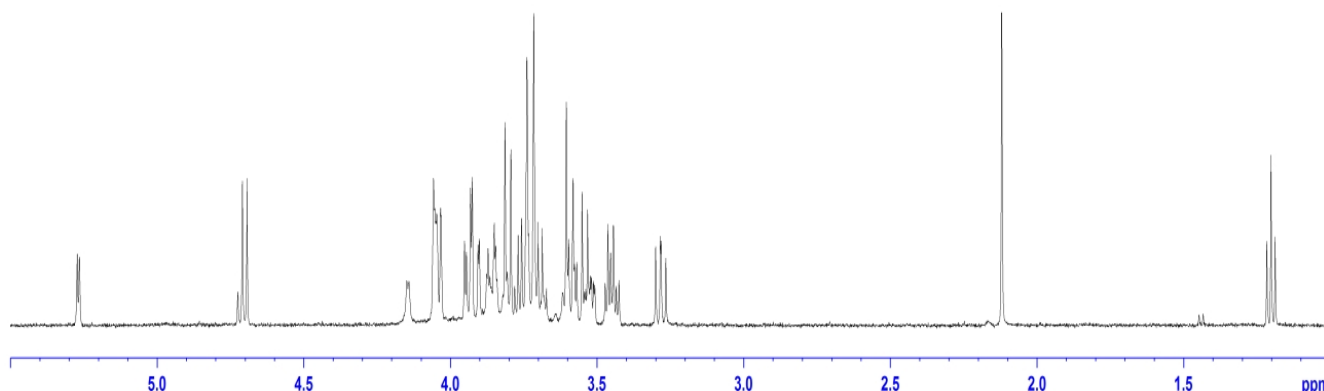


Рисунок 2 – Спектры ЯМР ^1H БАД «Йодхитозан»

Обращает на себя внимание триплетный сигнал в спектре ЯМР ^1H при 1,21 м.д., сильно-польный сдвиг которого указывает на возможное присоединение атома J к молекуле хитозана, предположительно произошло замещение ОН-группы в положении С3, т.к. протон при С2 имеет константу спин-спинового взаимодействия $J=8,8$ Гц, меньшая величина которой указывает на близость гетероатома (в частности йода). Спектр ЯМР ^{13}C «Йодхитозана» в дейтерированной воде (D_2O) содержит сигналы, которые соответствуют сигналам геллановой камеди, и три сигнала углеродных атомов фрагмента хитозана 55,84 м.д., 69,90 м.д., 97,32 м.д., что дает возможность предположить, что с помощью йода (J_2+KJ) происходит соединение камеди с хитозаном и тогда возможно совпадение сигналов углеродных атомов, связанных гликозидной связью. Кроме того, отмечено, что спектры ЯМР ^1H содержат хорошо разрешенные сигналы, что, по-видимому, связано с разрушением мицелл хитозана и конгломерации их в мицеллы меньшего размера. В то же время в спектрах ЯМР ^{13}C наблюдаются широкие сигналы, что с учетом длительного времени регистрации, характерного для данного ядра, указывает на динамический процесс «сборки» мицелл. За это время могут образовываться различные по своему характеру и размеру мицеллы, несколько отличающиеся по положению сигналов (м.д.), что и приводит к уширенным сигналам в спектрах ЯМР ^{13}C .

Образец БАД йодказеин плохо растворим в дейтерированной воде. Для полученного раствора удалось зарегистрировать спектр ЯМР ^1H (рисунок 3), что связано с высокой чувствительностью протонных спектров. Однако в связи с тем, что образец йодказеина представляет собой модифицированный сложный белок, полученные сигналы могут использоваться только для целей сравнительного анализа и не поддаются однозначной интерпретации. В связи с недостаточной растворимостью спектры на малочувствительном ядре ^{13}C зарегистрировать не удалось. Для проведения сравнительного анализа спектральных параметров йодказеина и казеина образец йодказеина был растворен в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMSO-d_6). Были зарегистрированы спектры ЯМР ^1H и ^{13}C . Из сравнения спектров ЯМР ^1H и ^{13}C казеина и йодказеина, зарегистрированных в одном и том же растворителе (DMSO-d_6), можно видеть, что изменений, свидетельствующих о ковалентном связывании йода с белком казеина, не происходит. Однако необходимо отметить, что йодказеин в DMSO-d_6 растворяется лучше, чем сам казеин, что, возможно, указывает на наличие гидрофобных взаимодействий йода (J_2+KJ) и казеина. В спектрах ЯМР ^1H БАД фитойод наблюдается большее количество малоинтенсивных уширенных сигналов в области 0,5–2,0 м.д., сильнопольное положение которых указывает на возможное присоединение атома J к пектину. Однако в спектрах ЯМР ^{13}C существенных различий в положении, интенсивности или ширины линий сигналов фитойода не наблюдается.

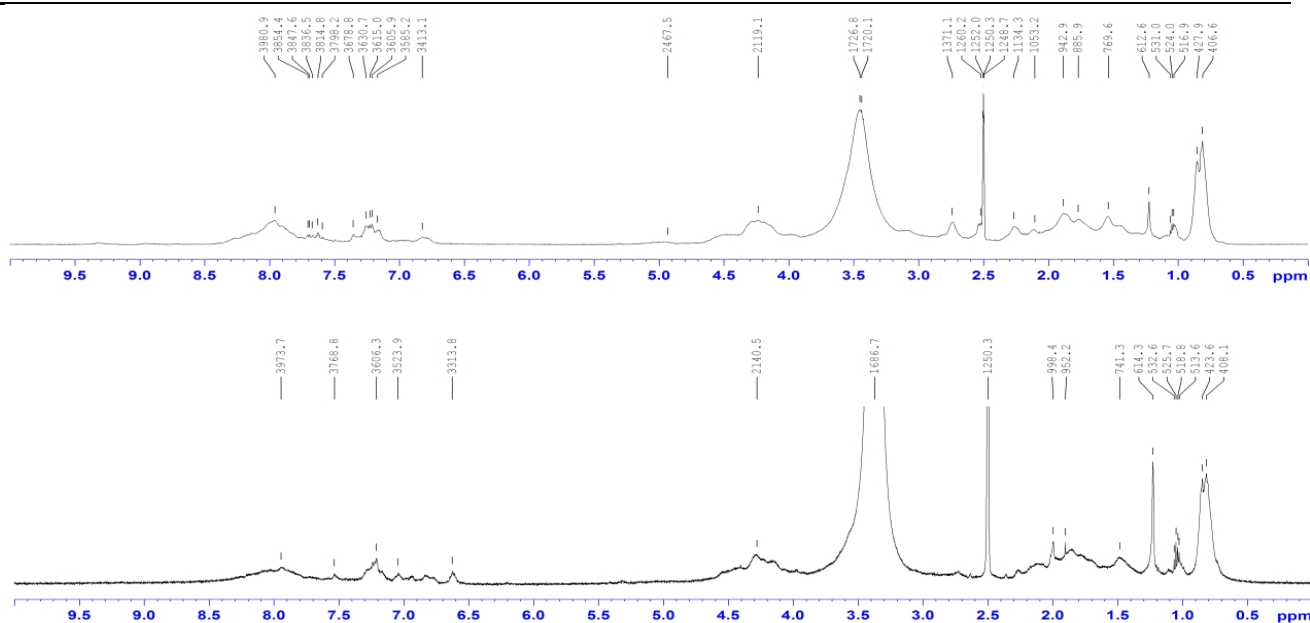


Рисунок 3 – Спектры ЯМР ^1H казеина (снизу) и йодказеина (сверху) в D_2O

С целью выяснения влияния компонентов смеси на параметры спектров ЯМР ^{13}C и ^1H образца циклодекстрин+инулин+КJ были зарегистрированы спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , входящих в образец компонентов в индивидуальном виде в аналогичных растворителя (D_2O -дейтерированная вода) (рисунок 4). В спектре ЯМР ^{13}C и ^1H надежно просматриваются сигналы исходных соединений инулина и циклодекстрина.

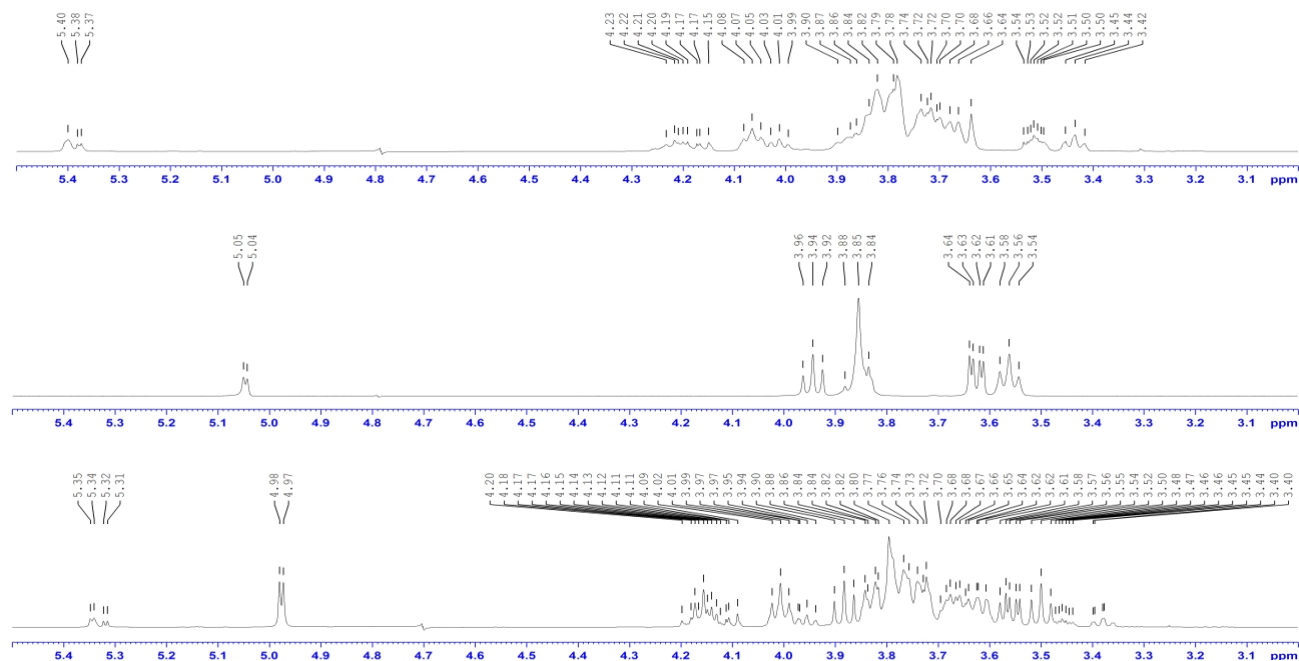


Рисунок 4 – Спектры ЯМР ^1H инулина, циклодекстрина и «циклодекстрин+инулин+КJ» (сверху-вниз)

Для оценки влияния $\text{KJ}+\text{J}_2$ на параметры спектров ЯМР ^{13}C и ^1H инулина для образца инулин+КJ+ J_2 были зарегистрированы спектры ЯМР ^1H и ^{13}C . В спектрах ЯМР ^{13}C и ^1H кроме уширений линий не наблюдается существенных изменений спектральных характеристик. Исследование системы «о-йодбензойная кислота- β -глицирризиновая кислота» спектрофотометрическим методом изомолярных серий показало наличие изобестических точек, что свидетельствует об образовании в системе нового соединения. Состав соединения, определен-

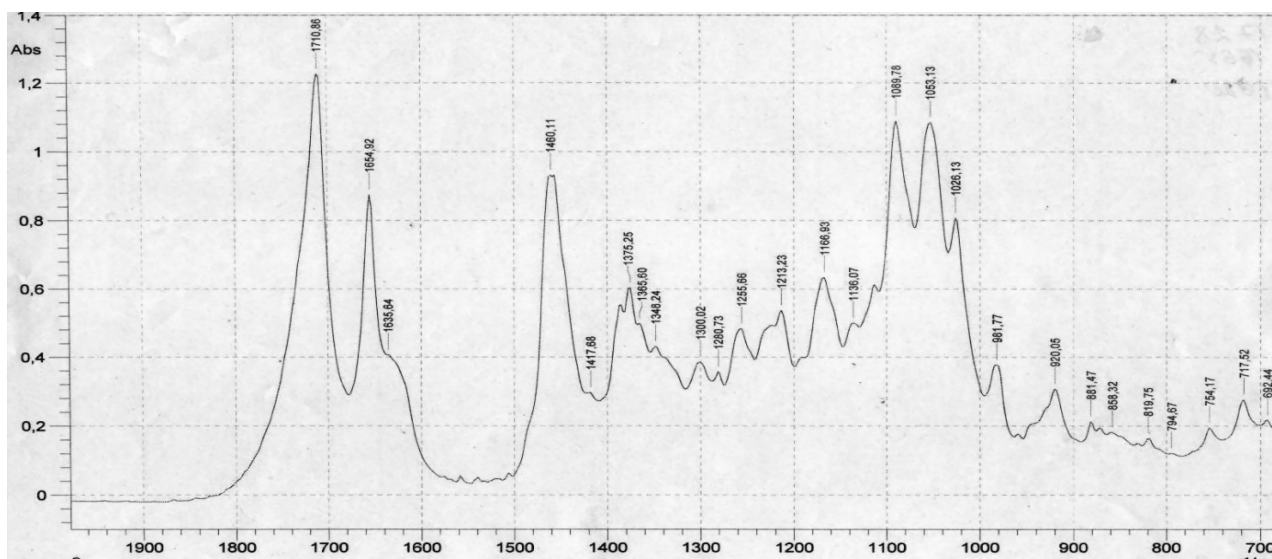


Рисунок 7 – ИК-спектр глицирризиновой кислоты) в области 1800-400 см⁻¹ (IR Prestige 21 Shimadzu, вазелиновое масло)

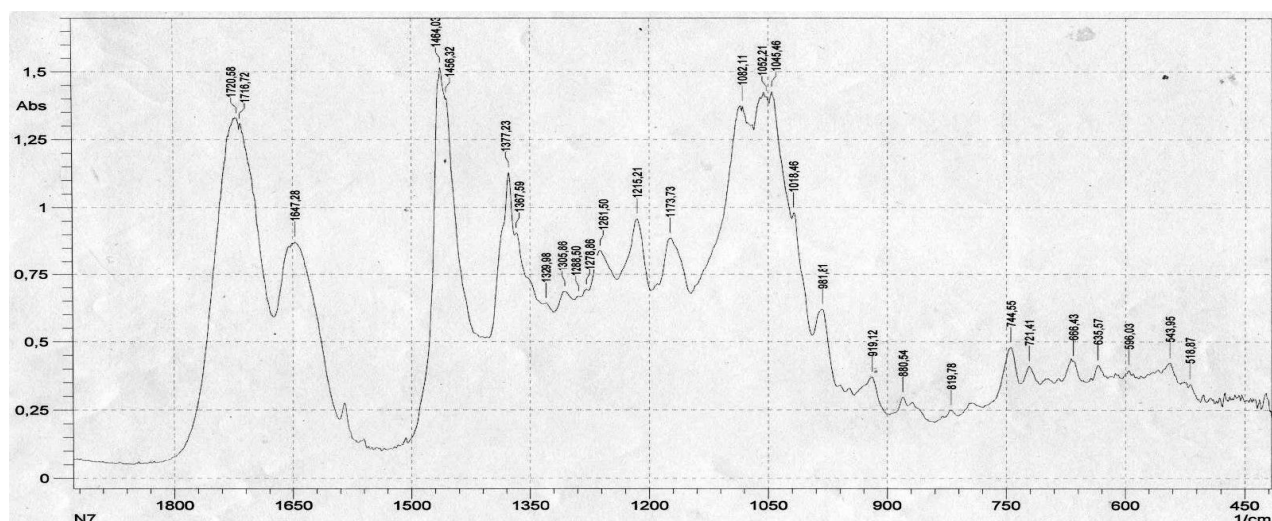


Рисунок 8 – ИК-спектр клатрата о-йодбензойной кислоты и глицирризиновой кислоты в области 1800-400 см⁻¹ (IR Prestige 21 Shimadzu, вазелиновое масло)

По результатам лазерного наноструктурного анализа установлено, что частицы «о-йодбензойной-β-глицирризиновой кислоты» в водных растворах образует дисперсии, где диаметр частиц составляет 50-350 нм. На основании данных ЯМР-спектроскопии выявлено, что при взаимодействии йодида калия и йода со всеми перечисленными органическими молекулами не наблюдается существенных изменений в спектрах, что свидетельствует об отсутствии ковалентно связанного йода. Однако уширение сигналов в углеродных и протонных спектрах могут быть вызваны слабыми нековалентными взаимодействиями между йодом (в молекулярной или ионной формах) с молекулой органического соединения.

Известно, что дисперсные системы, обладающие большой поверхностью и большой поверхностной энергией, являются принципиально неустойчивыми системами. Они стремятся к самопроизвольному уменьшению межфазной поверхности, т.е. снижению дисперсности путем агрегации (укрупнение) частиц дисперсной среды. Нанодисперсные системы с размером частиц в пределах 10⁻⁷-10⁻⁵ см (от 1,0 до 100 нм) относятся к агрегативно устойчивым. Йодказеин, йодхитозан и фитойод в водных растворах образуют микрогетерогенные дисперсные системы. Введение стабилизаторов, адсорбирующихся на частицах дисперсной сре-

ды, как известно, обеспечивает агрегативную устойчивость дисперсных систем. В отличие от вышерассмотренных йодбиоорганических соединений комплекс «йод-β-циклодекстрин-инулин» полностью растворяется в воде, формирует частицы размерами меньше 10 нм и образует коллоидную систему, где в качестве стабилизатора дисперсной фазы выступает «β-циклодекстрин».

Заключение

Таким образом, по результатам исследований определена возможность формирования смешанных наночастиц на основе двух типов природных полисахаридов - β-циклодекстрина и инулина. Наноструктурные комплексы «йод-β-циклодекстрин-инулин» и «о-йодбензойная кислота-β-глицирризиновая кислота» можно рассматривать как потенциальные носители для доставки анионов йода в клетки органа-мишени.

Литература

- 1 Верников В.М. Нанотехнологии в пищевых производствах: перспективы и проблемы / В.М. Верников, Е.А. Арианова, И.В. Гмошинский и др. // Вопросы питания. – 2009. – Т 78, № 2. – С. 4–17.
- 2 Ильина А.В. Получение, исследование и перспектива использования наночастиц на основе хитозана и галактоманнана / А.В. Ильина, Н.М. Местечкина, Д.В. Курек и др. // Российские нанотехнологии. – 2011. – Т 6, № 1–2. – С. 143–148.
- 3 Максютлов Р.Р. Разработка технологии производства йодобогатенных кумысных напитков с инулином: автореф. дис. ...канд. техн. наук: 05.18.15 / Максютлов Руслан Ринатович. – М., 2014. – 23 с.
- 4 Doddrell D.M., Pegg D.T., Bendall M.R. // J. Magn. Reson. – 1982. – Vol. – 48, No. 15. – P. 3223.
- 5 Chen L.Y., Remondetto G.E., Subirade M. // Trends in Food Sc. Technol. – 2006. – Vol. 17, N 5. – P. 272–283.
- 6 Maynard A.D., Aitken R.J., Butz T. et al. // Nature. – 2006. – Vol. 444, N 7117. – P. 267–269.
- 7 Opinion on the appropriateness of the risk assessment methodology in accordance with the technical guidance documents for new and existing substances for assessing the risks of nanomaterials. – Brussels: SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), 2007. – 68 p.
- 8 The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies. – Brussels: SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), 2006. – 68 p.
- 9 The appropriateness of the risk assessment methodology in accordance with the technical guidance documents for new and existing substances for assessing the risks of nanomaterials. – Brussels: SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), 2007. – 68 p.
- 10 Wang B., Feng W.Y., Wang T.C. et al. // Toxicol. Lett. – 2006. – Vol. 161, № 2. – P. 115–123.
- 11 Weiss J., Takhistov P., Mc Clemens J. // J. Food Sci. – 2006. – Vol. 71, № 9. – P. 107–116.

Поступила в редакцию 07.07.2016