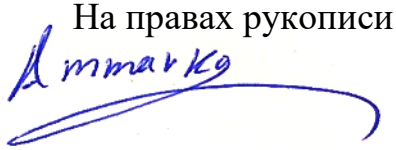
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет
(национальный исследовательский университет)»

На правах рукописи



Кади Аммар Мохаммад Яхья

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ БИОАКТИВНЫХ ДВОЙНЫХ ЭМУЛЬСИЙ ДЛЯ МОЛОЧНЫХ ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ

Специальность 4.3.3. Пищевые системы

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
доктор технических наук, профессор
Потороко Ирина Юрьевна

Челябинск – 2026

Оглавление

Введение 5
1 Аналитический обзор 12
1.1 Современные тренды формирования рынка пищевых систем нового формата 12
1.2 Обеспечение биодоступности и сохраняемости нативных свойств биологически активных веществ в составе пищевых систем 16
1.2.1 Биологически активные вещества для профилактики неинфекционных заболеваний 17
1.2.2 Таргетные системы для доставки и защиты БАВ в пищевых системах 24
1.2.3 Гидрофобный матрикс для инкапсуляции биоактивного соединения в эмульсионную систему 31
1.2.4 Технологические подходы к эффективной фортификации БАВ в пищевые системы 40
Заключение по главе 1 45
2 Организация эксперимента, объекты и методы исследования 47
2.1 Схема проведения экспериментальных исследований 47
2.2 Объекты и методы исследования 49
3 Экспериментальное обоснование сырьевой базы для технологии биоактивных двойных эмульсий 57
3.1 Прогностические исследования свойств биоактивных природных соединений в матрице молочной пищевой системы 58
3.1.1 Результаты оценки биоактивного комплекса фукоидана методом DFT 59
3.1.2 Результаты оценки биоактивного комплекса берберина методом DFT 62

3.1.3 Оценка функциональной значимости БАВ методами докинг-молекулярного моделирования и сетевой фармакологии 65
3.2 Разработка технологии биоактивной двойной эмульсии для фортификации в пищевые системы 70
3.2.1 Состав эмульсионной системы и технологические решения для обеспечения стабильности 71
3.2.2 Оптимизация технологии получения биоактивных двойных эмульсий методом Box–Behnken design 75
3.3 Оценка стабильности свойств биоактивных двойных эмульсий при хранении 84
3.3.1 Стабильность свойств при хранении оптимизированных по составу биоактивных двойных эмульсий (БДЭ-Ф и БДЭ-Б) 84
3.3.2 Оценка in vitro биодоступности биоактивных двойных эмульсий по протоколу INFOGEST 88
Заключение по главе 3 91
4 Исследование качества и сохраняемости молочных пищевых систем, фортифицированных биоактивными двойными эмульсиями 93
4.1 Технологическая совместимость биоактивных двойных эмульсионных систем с матрицей кисломолочных продуктов 94
4.2 Комплексное исследование биоактивных кисломолочных пищевых систем, фортифицированных биоактивными двойными эмульсиями 96
4.2.1 Результаты исследования модельных образцов биоактивных йогуртовых пищевых систем 97
4.2.2 Результаты исследования модельных образцов биоактивных сырных пищевых систем 112
Заключение по главе 4 127
5 Оценка экономической эффективности, результаты производственной апробации и требования нормативной документации 129
5.1 Исходные данные и методика расчета 129
5.2 Расчет себестоимости биоактивных двойных эмульсий 132

5.3 Расчет себестоимости обогащенных кисломолочных продуктов 134
5.4 Оценка экономической эффективности 135
Заключение 138
Список сокращений и условных обозначений 141
Список литературы 142
Приложение А Результаты интеллектуальной деятельности 164
Приложение Б Акты внедрения 166
Приложение В Технологические инструкции 168
Приложение Г Результаты анализа сетевой фармакологии биоактивных веществ 171

Введение

Актуальность темы исследования. В соответствии с государственными приоритетами Российской Федерации стратегически важными являются обеспечение продовольственной безопасности и продовольственной независимости страны, производство безопасных и качественных продуктов питания, в том числе с гарантированным функциональным действием (указ Президента России от 28.02.2024 № 145 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации»). Развитие обозначенных приоритетов в аспекте обеспечения продолжительности активного долголетия населения предполагает углубленное изучение биоактивных веществ (БАВ), применимых для коррекции рационов питания населения в регионах с целью устранения дефицита макро- и микронутриентов и минимизации рисков возникновения неинфекционных заболеваний (НИЗ). Вместе с тем формирование пищевой системы, обогащенной БАВ, с доказанной функциональностью сопряжено с важными ограничениями: крайне низкой биодоступностью ряда соединений в составе пищевой матрицы, снижением свойств биоактивности до 40–70 % при хранении, а также изменением привычных для потребителя органолептических свойств продуктов питания. В связи с этим особую актуальность имеют новые научные решения, направленные на обоснованный подбор биоактивных ингредиентов, их структурную модификацию, а также технологии фортификации для обеспечения биодоступности в желудочно-кишечном тракте человека.

Научный и практический интерес в технологии социально значимых молочных пищевых систем, обладающих добавленной пищевой полезностью для профилактики НИЗ, имеют сульфатированный гетерополисахарид бурых водорослей фукоидан и растительный изохинолиновый алкалоид берберин благодаря доказанным антиоксидантным, иммуномодулирующим, антибактериальным и метаболически значимым свойствам. В качестве пищевой платформы доставки БАВ в составе молочной матрицы рассматриваются технологии биоактивных двойных эмульсий (БДЭ), позволяющие обеспечить высокий эффект распределения в молочной мат-

рице для повышения биодоступности компонентов. Обозначенные подходы определяют актуальность и практическую значимость диссертационной работы.

Степень разработанности темы исследования. Весомый вклад в развитие теории и практики создания молочных продуктов функционального и специализированного назначения внесли российские и зарубежные ученые. Так, значительный прогресс в создании молочных пищевых систем функционального и специализированного назначения достигнут благодаря исследованиям А. Г. Храмцова в области глубокой переработки молочного сырья, Л. А. Забодаловой – биотехнологических процессов в молочном производстве, В. М. Позняковского – технологий пробиотических продуктов, в том числе на молочной основе, О. Н. Красули – оптимизации свойств молочного сырья за счет компенсирующих возможностей кавитационных ультразвуковых технологий, О. В. Феофилактовой – при разработке биоактивных эмульсионных пищевых систем, двойных эмульсий, инкапсулированных БАВ гарантированной биодоступности, а также О. Н. Мусиной, Н. А. Захаровой, Н. С. Родионовой, Е. С. Попова и др. Значимый научный вклад в развитие коллоидной науки, сонохимии, технологий инкапсуляции и целевой доставки в клетки-мишени внесли зарубежные ученые M. Ashokkumar, D. J. McClements, S. M. Jafari, S. H. Sonawane, V. Anjum и др.

Вместе с тем при анализе открытых источников научной информации выявлены следующие аспекты для детального изучения: структурно-аналитическое обоснование выбора БАВ для молочных пищевых систем с использованием методов DFT, молекулярного докинга и ADME-профилирования; применимость двойных эмульсий как эффективной системы, обеспечивающей устойчивую инкапсуляцию БАВ; практические возможности низкочастотной ультразвуковой технологии при получении биоактивной эмульсионной системы для пищевых систем.

Работы выполнялись в рамках проектов, поддержанных грантами РНФ: № 22-76-10049 «Разработка концептуальной методологии применения нетепловых технологий дуального типа в синтезе аутентичных биоактивных пищевых ингредиентов, биодоступных в составе пищевых систем», № 22-26-00079 «Бифункциональные эмульсии Пикеринга на основе модифицированных растительных стабилизирующих частиц для пищевых систем нового поколения».

Целью диссертационной работы является научное обоснование и разработка технологии биоактивных двойных эмульсий для применения в составе молочных пищевых систем.

Для достижения цели исследования необходимо решить следующие **задачи**:

1) на основании обзора отечественной и зарубежной литературы, патентных источников обосновать перспективность использования биоактивных двойных эмульсий в технологии молочных пищевых систем, обладающих добавленной полезностью и профилактическим действием в отношении НИЗ;

2) изучить и определить основные сырьевые компоненты для БДЭ (БАВ и растительные масла), методы их модификации для обеспечения биосовместимости с матрицей молочной пищевой системы;

3) выполнить *in silico* прогнозирование функциональности БАВ, определить их применимость в составе БДЭ для последующей фортификации в молочные матрицы с использованием методов квантовой химии (DFT), молекулярного докинга и ADME-профилирования;

4) разработать технологию получения БДЭ типа $W_1/O/W_2$ на основе эмульсификации низкочастотным ультразвуковым воздействием (НУЗВ), оптимизированной методом BBD;

5) исследовать физико-химические и биоактивные показатели БДЭ при хранении и оценить *in vitro* биодоступность по протоколу INFOGEST;

6) разработать технологии фортификации БДЭ в молочные матрицы йогурта и мягкого сыра, осуществить комплексную оценку качества, оценить сохранение полезности разработанных продуктов;

7) рассчитать экономическую эффективность, провести производственную апробацию и разработать комплект нормативной документации.

Научная новизна. Работа содержит элементы научной новизны в рамках п. 2, 8, 11, 13 и 19 паспорта научной специальности 4.3.3. Пищевые системы.

1. Впервые установлено влияние кавитационных эффектов низкочастотного ультразвукового воздействия на процесс инкапсуляции БАВ в первом W_1/O уровне БДЭ гидрофильного фукоидана и амфифильного берберина и устойчивость их био-

активности после двухстадийного процесса НУЗВ-эмульгирования (п. 13 паспорта 4.3.3).

2. Впервые по результатам *in silico* скрининга при фортификации БАВ в матрице молочной пищевой системы методом теории функционала плотности (DFT) выявлены самопроизвольно формируемые комплексы фукоидана с биологически значимыми белками ALB, BCL2 и STAT3, устойчивые комплексы с участием аминокислотных остатков в области связывания; методами молекулярного докинга и ADME-профилирования обоснован прирост биодоступности берберина в матрице БДЭ (п. 19 паспорта 4.3.3).

3. Впервые на основе BBD-подхода оптимизированы параметры технологий БДЭ и получены рабочие модели для практического применения: для эмульсии с берберином составная функция желательности достигала 0,7786, для эмульсии с фукоиданом – 0,543, что свидетельствует о высокой пригодности разработанных моделей (п. 2, 11 паспорта 4.3.3).

4. Определено *in silico* и экспериментально подтверждено, что, в отличие от прямого внесения БАВ берберина в молочную матрицу, инкапсулирование в БДЭ обеспечивает взаимодействие берберина с к-казеином и не влияет на длительность сычужной ферментации молока в технологии мягких сыров (п. 8 паспорта 4.3.3).

5. Экспериментально установлено и *in vitro* подтверждено, что гетерополисахарид фукоидан, инкапсулированный в БДЭ, проявляет пребиотический эффект в йогуртовом продукте, обеспечивает повышение суммарного содержания фенольных соединений и антиоксидантной активности, что доказывает профилактические эффекты в отношении рисков НИЗ (п. 11 паспорта 4.3.3).

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретическая значимость работы заключается в развитии теории создания биоактивных эмульсионных систем, применимых в качестве фортификата для молочных пищевых систем с добавленной полезностью в целях профилактики НИЗ. Получены новые сведения о структурных взаимодействиях БАВ с компонентами двойной эмульсии, об оптимизации условий двухстадийного ультразвукового

эмульгирования и молекулярных взаимодействий инкапсулированных веществ с компонентами матрицы молочной системы.

Практическая значимость исследования состоит в разработке воспроизводимых рабочих моделей двухстадийной технологии получения БДЭ типа $W_1/O/W_2$, пригодных для применения в молочной промышленности при производстве функциональных йогуртов и мягких сыров. Получены патент РФ № 2812707 «Способ получения пищевого ингредиента на основе эмульсии Пикеринга», патент РФ № 2803980 «Способ получения пищевого ингредиента» (приложение А). Разработаны технологические инструкции: ТИ 3.110.01007-2026 на производство биоактивной БДЭ, функционального йогурта и мягкого сыра, ТИ 3.110.01006-2026 на производство обогащенного йогурта с внесением БДЭ, ТИ3.199.01005-2026 на производство обогащенного мягкого сыра с внесением БДЭ (приложение В).

Результаты диссертационного исследования прошли апробацию в условиях реального производства ООО «Молоко Зауралья» (приложение Б).

Материалы диссертации используются в учебном процессе на кафедре пищевых и биотехнологий ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)» для студентов направлений подготовки 19.03.02 «Продукты питания из растительного сырья» и 19.03.03 «Продукты питания животного происхождения», 19.03.01 «Биотехнология», 19.03.04 «Технология продукции и организация общественного питания», 19.04.01 «Биотехнология. Искусственный интелект в промышленных и экологических биотехнологиях».

Работа является комплексной и включает в себя элементы научного исследования, практического применения, методического использования, результаты которых получены лично автором либо при его непосредственном участии.

Методология исследований. Методологической основой работы послужили труды отечественных и зарубежных ученых, касающиеся получения молочных продуктов функционального и специального назначения на основе биоактивных эмульсионных систем. Для решения поставленных задач применялись общенаучные подходы, при проведении экспериментальных исследований использовались

классические и специальные методы исследований, а также квантово-химические методы молекулярного моделирования.

При написании текста диссертационной работы, разработке и формализации всех положений и выводов ее сущностно-смыслового ядра (актуальность, степень разработанности, объект, предмет и цель исследования, его теоретическая и практическая значимость, научная новизна, положения, выносимые на защиту и др.), сборе и обработке данных не использовались технологии генеративного искусственного интеллекта (ИИ), большие языковые модели или иные инструменты ИИ.

Основные положения, выносимые на защиту:

– результаты определения и оценки компонентов для БДЭ разного состава, методы их модификации для обеспечения биосовместимости с матрицей молочной пищевой системы;

– результаты *in silico* прогнозирования функциональности БАВ и их применимости в составе БДЭ для молочных продуктов с использованием методов квантовой химии (DFT), молекулярного докинга и ADME-профилирования;

– результаты BBD-оптимизированных технологий получения БДЭ типа $W_1/O/W_2$ на основе НУЗВ;

– результаты исследования физико-химических и биоактивных показателей БДЭ при хранении и оценки *in vitro* биодоступности по протоколу INFOGEST;

– научно и экономически обоснованные технологии фортификации БДЭ в молочные матрицы йогурта и мягкого сыра, результаты комплексной оценки качества, добавленной полезности для профилактики НИЗ.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов обеспечивается трехкратной повторностью экспериментов ($n = 3$), применением аттестованных методик, верификацией квантово-химических расчетов (отсутствие мнимых частот), статистической обработкой (ANOVA, тесты Тьюки и Даннетта в GraphPad Prism 8 и Design-Expert® 13.0) и подтверждением основных результатов в ходе производственной апробации ($\Delta \leq 5$ %, $p > 0{,}05$).

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 22 научных работы, из них шесть статей в журналах, входящих в перечень ВАК

Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; 9 публикаций в изданиях, индексируемых в международных базах данных Scopus/WoS (Q1−Q2); два патента РФ.

Структура и объем работы. Диссертация включает введение, аналитический литературный обзор, результаты собственных исследований и их анализ, заключение, список литературы (182 источника, в том числе 132 на английском языке) и четыре приложения. Основной текст изложен на 163 страницах, содержит 33 таблицы и 31 рисунок.

1 Аналитический обзор

1.1 Современные тренды формирования рынка пищевых систем нового формата

Формирование рынка пищевых систем направленного функционального профилактического действия ориентировано на разработку пищевых продуктов, обладающих дополнительными свойствами полезности с точки зрения обеспечения физиологических функций организма человека, и является динамично развивающимся трендом в современной пищевой биотехнологии. В связи с этим проектирование и создание типовой модели природоподобных интеллектуальных биосистем на основе конвергентного подхода и применение новых решений по их интеграции в пищевую матрицу представляется действенным инструментом повышения эффективности пищевых производств и решения национальных целей развития Российской Федерации на период до 2030 г. и на перспективу до 2036 г. в части сохранения и укрепления здоровья населения [6; 18; 49; 68; 69; 100].

Концепция обогащенных пищевых продуктов формировалась в рамках программы FOSHU (Foods for Specified Health Use) в 1980-е гг. и получила международное распространение. В европейских странах она регулируется регламентами Европейского союза № 1924/2006 и № 432/2012, в Российской Федерации – ГОСТ Р 52349-2005 «Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определения».

В соответствии с концепцией персонифицированного питания потребители склонны отдавать предпочтение продуктам сегмента для здорового питания, что формирует соответствующий тренд в рыночном предложении. Исследования в области производства обогащенных пищевых продуктов демонстрируют устойчивую положительную динамику: за 2016–2024 гг. публикационная активность в этой об-

ласти выросла многократно. Россия входит в число государств, где активно развиваются исследования в данной области, но лидирующие позиции занимают Китай, Индия, США, Иран и ряд европейских стран [151]. Научный интерес усиливается глобальным ростом распространенности неинфекционных заболеваний (НИЗ), в числе которых сердечно-сосудистые патологии, сахарный диабет II типа, ожирение разной степени, метаболический синдром. По данным Всемирной организации здравоохранения [24], эти заболевания являются ведущими причинами смертности, обусловливающими около 75 % летальных исходов в мире (рисунок 1).

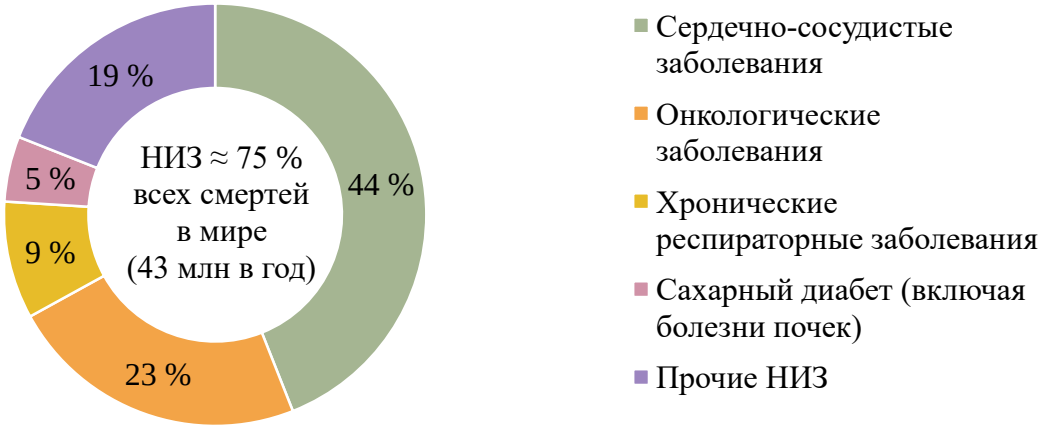


Рисунок 1 – Структура глобальной смертности от неинфекционных заболеваний по данным Всемирной организации здравоохранения [24]

В рамках минимизации рисков возникновения НИЗ и их последствий рассматривается возможность включения в рационы населения продуктов питания профилактические назначения. Таким образом, обеспечивается увеличение сегмента пищевых систем с добавленной полезностью и доказанной метаболической функциональностью. Согласно аналитическим прогнозам, к 2034 г. объем рынка таких продуктов достигнет 638 млрд долл. США при среднегодовом темпе роста 6,9 % в 2025–2034 гг. (рисунок 2). При этом витамины и минералы занимают наибольшую долю рынка по типу ингредиентов; пробиотики, пребиотики, растительные экстракты и пищевые волокна представляют наиболее динамично растущие сегменты.

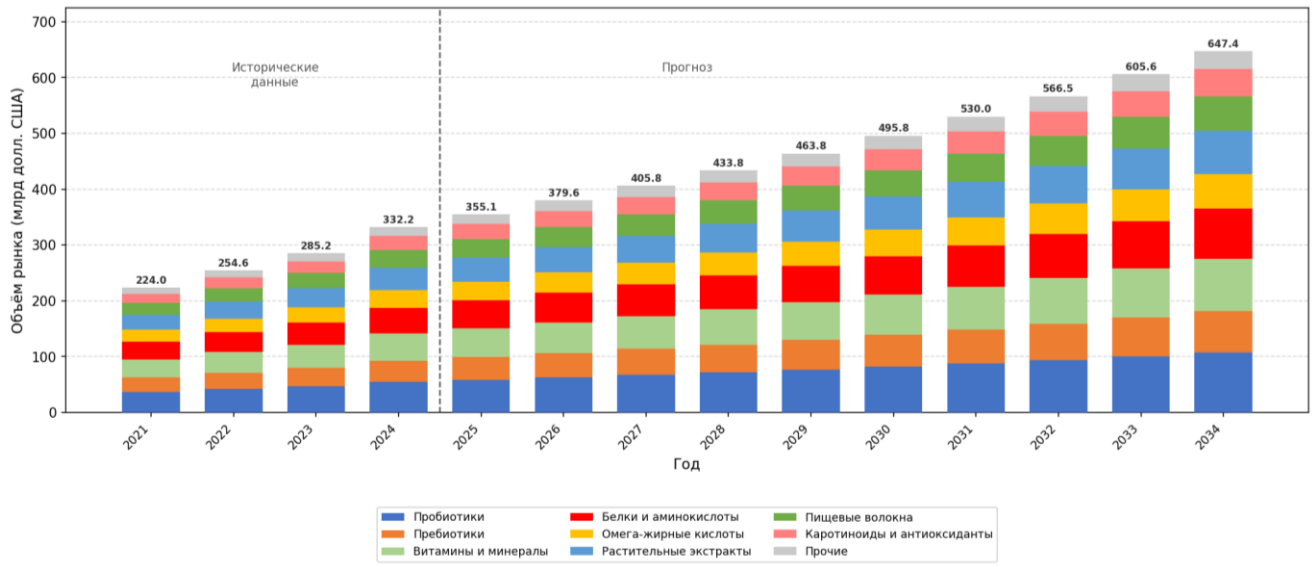


Рисунок 2 – Объем мирового рынка функциональных продуктов питания по типам ингредиентов в 2021–2034 гг. [100]

Ключевую роль в формировании рисков развития НИЗ играют факторы алиментарного дисбаланса – избыток насыщенных жиров и рафинированных углеводов при дефиците пищевых волокон и антиоксидантов. Эти факторы инициируют хронические системные изменения в организме, обусловливающие патогенез инсулинорезистентности, атерогенную дислипидемию и эндотелиальные дисфункции [20; 101; 141].

Вместе с тем следует учитывать факторы возникновения нутриентной недостаточности на фоне приема лекарственных препаратов, которые, как правило, значительно снижают биодоступность отдельных физиологически значимых компонентов рационов, провоцируют хронические патологии и преждевременное старение организма.

Растущая популярность растительных и «чистых» ингредиентов, а также персонализированного питания формируют ключевые возможности для нового поколения функциональных продуктов [100]. На государственном уровне задача алиментарной профилактики НИЗ закреплена в указе Президента России от 28.02.2024 № 145 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации». Среди прочего, в документе обозначены приоритеты, связанные с обеспечением технологического лидерства, продовольственной безопасностью, созданием без-

опасных пищевых продуктов с гарантированным функциональным действием, а также коррекцией рационов питания для устранения дефицита макро- и микронутриентов с учетом региональных особенностей. Интегрированный подход позволит минимизировать риски НИЗ и сформировать базу обогащенных продуктов нового поколения с доказанной физиологической эффективностью для обеспечения активного долголетия населения.

В структуре мирового рынка лидируют спортивное и активное питание (19,3 % рынка в 2024 г.), причем здоровье пищеварительной системы и клиническое питание демонстрируют наибольшие темпы роста (рисунок 3). Функциональные молочные продукты являются доминирующей товарной категорией и широко воспринимается потребителями как природный источник биоактивных нутриентов.

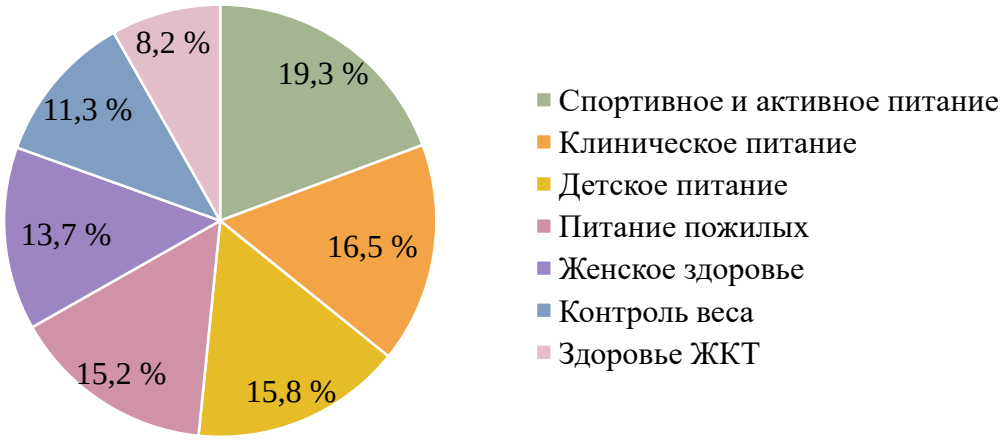


Рисунок 3 – Структура мирового рынка функциональных продуктов питания по областям применения в зависимости от объемов продаж в 2024 г. [100]

Современные представления о профилактике НИЗ исходят из того, что развитие хронической патологии определяется не одним изолированным фактором, а совокупностью длительно действующих нарушений: несбалансированного рациона, дефицита микронутриентов, избыточного потребления энергии, окислительного стресса, хронического низкоинтенсивного воспалительного процесса, дисбиоза кишечника, инсулинорезистентности и метаболической дисрегуляции. В этих условиях БАВ могут выступать как модулирующие элементы патогенетически значимых звеньев, уменьшая клеточные повреждения, поддерживая эндогенную анти-

оксидантную защиту, способствуя нормализации липидного и углеводного обмена, а также влияя на экспрессию генов, связанных с воспалением, детоксикацией и клеточной пролиферацией. Следует учитывать, что многие из указанных эффектов демонстрируются в экспериментальных и клинических исследованиях и чаще носят ассоциативный или потенциальный характер.

Таким образом, целесообразность развития производства функциональных продуктов специализированного назначения с целью снижения рисков НИЗ определяет возможности включения в рационы населения продуктов питания, в состав пищевых систем которых входят биологически активные нутриенты с доказанными противовоспалительным, антиоксидантным и метаболически корректирующим действием. Прослеживается переход к конкретным биотехнологическим решениям, что требует детального анализа проблем, связанных с сохранностью и биодоступностью минорных соединений БАВ в составе пищевых матриц, а также разработки эффективных способов их доставки.

1.2 Обеспечение биодоступности и сохраняемости нативных свойств биологически активных веществ в составе пищевых систем

Обеспечение сохранности и биодоступности БАВ в матрице пищевого продукта представляет собой многофакторную задачу, требующую одновременного учета физико-химической совместимости БАВ с компонентами пищевой системы, устойчивости при технологической обработке и в хранении, а также контролируемого высвобождения в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) потенциального потребителя. Прямое внесение минорных БАВ в пищевое сырье, как правило, не обеспечивает решения этих задач вследствие химического взаимодействия этих веществ с компонентами матрицы и потерь биоактивности, что определяет необходимость применения специальных систем доставки.

В отличие от фармацевтических форм, где носитель (таргетная система) может быть оптимизирован исключительно под фармакокинетику, пищевая система как таргет накладывает дополнительные ограничения. Так, носитель БАВ должен быть пищевым по статусу, технологически совместимым с матрицей продукта, устойчивым в течение срока годности и нейтральным по отношению к органолептическим свойствам пищевой системы конечного продукта. Это смещает акцент на разработку биоинженерых решений для системы доставки и определяет логику поиска оптимального решения.

1.2.1 Биологически активные вещества для профилактики неинфекционных заболеваний

В совокупности вышеизложенных данных было обозначено, что увеличивается рыночное предложение функциональных продуктов питания специализированного назначения для профилактики алиментарного дисбаланса, однако отечественный рынок таких продуктов крайне ограничен и весьма далек от насыщения. Продовольственный сегмент преимущественно наполнен пищевыми системами, обогащенными широко известными макро- и микронутриентами. В связи с этим прослеживается, что производители продуктов данного сегмента в большей части решают задачи технологического толка, компенсируя проблемы качества сырья и (или) рекламы для рыночного продвижения, при этом не всегда присутствует информация о нутритивной полезности.

Вместе с тем с целью снижения рисков НИЗ для здоровья населения специализированные пищевые системы должны содержать функциональные пищевые ингредиенты в большей степени растительного происхождения: полифенолы, антиоксиданты и другие нутриенты для обеспечения оптимального пищевого статуса. Для решения обозначенной проблемы необходимы новые отечественные техноло-

гии защиты БАВ в составе пищевой матрицы при сохранении биодоступности нативных свойств и полезности. Биологические эффекты включают активацию эндогенных антиоксидантных систем, модуляцию сигнальных каскадов воспаления, улучшение функции и коррекцию состава кишечной микробиоты. Научные данные доказывают, что у ряда пищевых антиоксидантов прямое погашение свободных радикалов в организме ограничено; значительная часть их полезных эффектов опосредованно действует на регуляцию клеточных сигналинговых путей и оказывает влияние на микробиоту.

С точки зрения профилактической медицины в отношении НИЗ наиболее значимыми группами БАВ являются микронутриенты (витамины и минералы), фитонутриенты (полифенолы, каротиноиды и др.), антиоксиданты, пищевые волокна, омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты, пробиотики и пребиотики, а также некоторые нутрицевтические комплексы. Особое место занимают БАВ растительного происхождения с антиоксидантными и противовоспалительными свойствами: биофлавоноиды, каротиноиды, индольные производные, глюкозинолаты и продукты их метаболизма. Экспериментальные и клинические данные указывают, что отдельные минорные компоненты в составе пищевых систем рационов при длительном потреблении ассоциируются со снижением риска ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, сахарного диабета и некоторых видов онкологических заболеваний, однако установление причинно-следственных связей требует крупных рандомизированных исследований и метаанализов [19; 102; 103; 173].

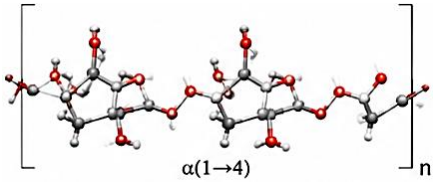
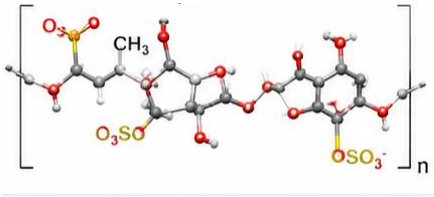
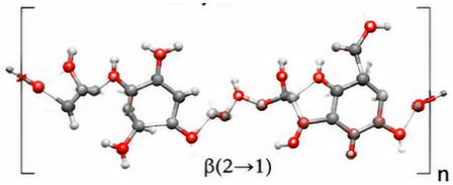
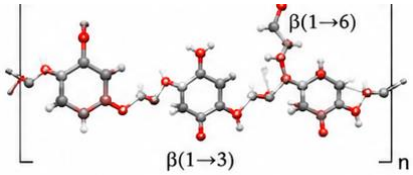
На основании вышеизложенного проведена оценка комплекса свойств растительных БАВ, наиболее значимых для первичной профилактики НИЗ. В таблицах 1 и 2 проанализирована и представлена химическая природа, ключевые эффекты в отношении НИЗ, с акцентом на технологическую значимость и совместимость с пищевой системой молочной матрицы при последующей фортификации.

Таблица 1 – Биологически активные вещества растительного происхождения для первичной профилактики НИЗ

Наименование	Химическая природа	Ключевые эффекты в отношении НИЗ	Технологическая функция	Ограничения для пищевых систем
Резистентный крахмал	α-глюкан в тонком кишечнике	Пребиотик; продуцирование коротко-цепочечных жирных кислот; снижение постпрандиальной гликемии; не гидролизуемый	Загуститель, стабилизатор	Ретроградация, изменение текстуры; чувствительность к нагреву
Фукоидан	Сульфатированный фукозосодержащий полисахарид (FCSP)	Противовоспалительное, антикоагулянтное, иммуномодулирующее, антиоксидантное действие	Стабилизатор	Высокая молекулярная масса (более 300 кДа); взаимодействие с казеином; биодоступность не выше 15 %
Пектин	Анионный гетерополисахарид (α-1,4-D-галактуроновая кислота)	Снижение холестерина ЛПНП; пребиотик; гликемический контроль	Гелеобразователь, стабилизатор кисломолочных напитков	Зависимость геля от pH и степени этерификации
Инулин	Фруктан (β-2,1-фруктоза + концевая глюкоза)	Пребиотик (бифидогенный); продуцирование коротко-цепочечных жирных кислот; усвоение кальция	Заменитель жира или сахара, текстурообразователь	Гидролиз в кислой среде; осмотическая непереносимость в высоких дозах
β-глюкан	Линейный β-1,3/1,4-D-глюкан	Снижение холестерина и постпрандиальной гликемии	Загуститель, стабилизатор, заменитель жира	Высокая вязкость растворов; ограничение дозы по сенсорным свойствам

Сопоставление приведенных данных показывает, что при общей направленности первичного профилактического действия НИЗ биополимеры существенно различаются по совместимости с компонентами молочной матрицы и характеру технологических ограничений. Так, анионные полисахариды склонны к взаимодействию с казеином и чувствительны к ионам кальция и активной кислотности молока (например, катионный хитозан растворим только в кислой среде). Нейтральные фруктаны и β-глюканы более технологичны, однако ограничены по вводимой дозе вследствие высокой вязкости растворов или гидролиза.

Таблица 2 – Характеристика молекулярной структуры и свойств растительных биополимеров

Биополимер	3D-структура мономера	Характеристика свойств
Резистентный крахмал		Объединяет несколько типов (RS1–RS4), различающихся механизмом устойчивости к α-амилазе: от физической недоступности гранул до кристаллической ретроградации амилозы. С позиции доставки БАВ резистентный крахмал интересен не как самостоятельный носитель, а как формирующий матрицу наполнитель, замедляющий диффузию и ферментативную атаку в верхних отделах ЖКТ. Пребиотический эффект (продукция бутирата) делает его компонентом при обогащении, но синергизма с гидрофобными алкалоидами не обеспечивает [17; 87; 111]
Фукоидан		Гидрофильное БАВ. Сульфатированные фукозные звенья фукоидана обеспечивают биоактивность (противовоспалительную, антикоагулянтную, иммуномодулирующую), но одновременно создают главные технологические проблемы. Высокая молекулярная масса (более 300 кДа) и полианионный характер. При совмещении защиты и деполимеризации отличает предлагаемый подход от простого внесения фукоидана в матрицу [52; 68; 70; 93; 105; 112; 130; 175; 179; 182]
Инулин		Выполняет двойную функцию – признанного бифидогенного пребиотика и текстурного заменителя жира, формирующего кремоподобные микрокристаллические сети в водной фазе. Ограничение – кислотный гидролиз фруктановых связей при низком pH йогурта и осмотическая непереносимость высоких доз. Прямой защиты гидрофобных алкалоидов инулин не дает, но улучшает сенсорику и служит синергистом функциональности [98; 157]
β-глюкан		Обладает единственной в перечне официально одобренной Health Claim (снижение холестерина ЛПНП), что делает его привлекательным маркером функциональности продукта. В эмульсионных системах β-глюкан стабилизирует внешнюю фазу и может формировать защитные пленки, но не встраивается в межфазный слой как поверхностно-активное вещество. Источник (овес/ячмень либо дрожжи/грибы) определяет структуру ветвления и, соответственно, биоактивность [98; 157]

Особое положение занимает фукоидан за счет сочетания доказанной таргетной и биоактивной полезности (противовоспалительной, антикоагулянтной, иммуномодулирующей, антиоксидантной), однако он имеет выраженные барьеры в применении, обусловленные высокой молекулярной массой, взаимодействием с казеином и биодоступностью не более 15 %, что определяет его как наиболее показательный объект для отработки технологии инкапсуляции [17; 52; 68; 80; 105; 112; 114; 130; 163]. На этом основании в последующих исследованиях гетерополисахарид фукоидан выбран в качестве представителя класса гидрофильных биополимеров для последующей фортификации в молочные пищевые системы.

Вторую группу БАВ, перспективных для первичной профилактики НИЗ, образуют низкомолекулярные жирорастворимые (амфифильные) алкалоиды растительного происхождения. Их профилактический потенциал реализуется преимущественно на уровне внутриклеточных сигнальных путей – активации AMPK, модуляции NF-κB и Nrf2, воздействия на адренорецепторы и TRPV1, что обусловливает выраженные метаболические, гиполипидемические и термогенные эффекты. В таблицах 3 и 4 представлены характеристика жирорастворимых алкалоидов, значимых для первичной профилактики НИЗ, развернутая характеристика свойств и трехмерное изображение молекул.

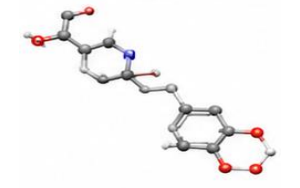
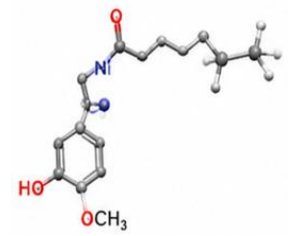
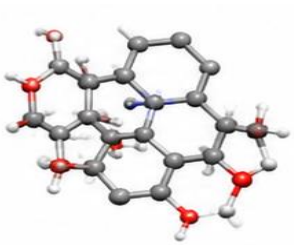
Выбор берберина как представителя жирорастворимых алкалоидов в качестве БАВ для инкапсуляции обусловлен тем, что он характеризуется наиболее полной доказательной базой по гипогликемическому и гиполипидемическому действию. Профилактический потенциал берберина реализуется на уровне внутриклеточных сигнальных путей: активация AMPK, повышение экспрессии ЛПНП-рецепторов, гипогликемическое и гиполипидемическое действие [72; 132; 178; 180; 181].

Амфифильный характер молекулы, обеспечивающий предпочтительную локализацию на межфазной границе, одновременно формирует наиболее выраженный набор технологических барьеров при введении в молочную матрицу [78; 87; 111; 133; 138].

Таблица 3 – Жирорастворимые алкалоиды, применимые для первичной профилактики НИЗ [108; 148; 170; 176]

Алкалоид	Природный источник	Химический класс	log*P*	Клинический эффект в отношении НИЗ	Барьер биодоступности	Ограничения для пищевых систем
Берберин	*Berberis*, *Coptis*, *Phellodendron*	Изохинолиновый (четвертичный)	2,5	Гипогликемическое, гиполипидемическое, противовоспалительное действие (активация AMPK, повышение экспрессии ЛПНП-рецепторов)	Эффлюкс, связанный с *P*-гликопротеином; метаболизм CYP3A4, растворимость; биодоступность менее 5 %	Горечь, окрашивание матрицы, взаимодействие с к-казеином
Пиперин	*Piper nigrum*, *Piper longum*	Амид пиперидина	3,0	Термогенез, усиление биодоступности других нутриентов (ингибитор CYP3A4/P-gp), противовоспалительное действие	Низкая водорастворимость; быстрый метаболизм	Жгучесть, применение только в микродозах
Капсаицин	*Capsicum* spp.	Ванилиламид	3,8	Термогенез и липолиз (агонист TRPV1), контроль аппетита, гипотензивное действие	Крайне низкая водорастворимость; раздражающее действие	Раздражающее действие; обязательна инкапсуляция
Эводиамин	*Evodia rutaecarpa*	Индольный хинолоновый алкалоид	3,7	Антиожирение, термогенез, противовоспалительное действие (агонист TRPV1)	Очень низкая растворимость и биодоступность	Ограниченная доказательная база, статус экспериментального нутрицевтика

Таблица 4 – Характеристика молекулярной структуры и свойств жирорастворимых алкалоидов

Алкалоид	Химическая структура 3D	Развернутая характеристика свойств
Берберин		Центральное амфифильное БАВ. Четвертичный изохинолиновый катион с log*P* ≈ 2,5 сочетает сродство к водной и липидной фазам. Профилактический потенциал берберина реализуется на уровне внутриклеточных сигнальных путей: активация AMPK, повышение экспрессии ЛПНП-рецепторов, гипогликемическое и гиполипидемическое действие. Барьеры применения носят тройной характер –опосредованный *P*-гликопротеином эффлюкс, пресистемный метаболизм CYP3A4 и низкая растворимость, вследствие чего пероральная биодоступность не превышает 5 % [78; 108; 123; 133; 138; 148; 170; 176]
Пиперин		Представляет особый интерес не только в связи с собственной активностью, но и в качестве биоусилителя: будучи ингибитором CYP3A4 и *P*-гликопротеина, пиперин повышает биодоступность ко-вводимых нутриентов, что теоретически синергично с берберином, метаболизируемым теми же путями. Амид пиперидина с log*P* ≈ 3,0 плохо растворим в воде и быстро метаболизируется, что также требует защищенной доставки [78; 133; 138]
Капсаицин		Липофильный ванилиламид (log*P* ≈ 3,8), агонист рецептора TRPV1, запускающий термогенез и липолиз, с дополнительным гипотензивным и аноректическим действием. Практическое применение ограничивают крайне низкая водорастворимость и раздражающее (пунгентное) действие, что делает микрокапсуляцию фактически обязательной для пищевого использования. Это иллюстрирует общий принцип: гидрофобные алкалоиды логично размещать в фазе O, а гидрофильные БАВ – в W_1 [148; 176]
Эводиамин		Индольный хинолоновый алкалоид, также являющийся агонистом TRPV1 с липолитическим и термогенным действием, структурно и функционально близкий к капсаицину по механизму. Практическое применение эводиамина сдерживается очень низкой растворимостью и биодоступностью, а также ограниченной доказательной базой, что относит его к экспериментальным нутрицевтикам. В качестве модельного гидрофобного соединения он полезен для отработки емкости масляной фазы и профиля высвобождения. Включен в сравнение как представитель термогенных алкалоидов с выраженным барьером доставки [148; 176]

Таким образом, фукоидан и берберин являются взаимодополняющими БАВ по механизму профилактического действия, но противоположными по физико-химическим свойствам. Выбор именно этих объектов в качестве модельных для разработки фортификатов обоснован не только их доказанной таргетной направленностью, но и биоактивностью в отношении патогенетических звеньев НИЗ. Существенное различие в полярности и молекулярной природе означает, что система целевой доставки должна обладать универсальностью: быть способной разместить компонент любого типа (как гидрофильного, так и амфифильного), обеспечить защиту от деградации и контролируемое высвобождение в заданном участке ЖКТ [52; 55; 61; 63; 93; 108; 130; 148; 175; 176].

В связи с вышеизложенным существует реальная потребность в гибкой таргетной платформе, пригодной для раздельной либо совместной инкапсуляции веществ в одной пищевой системе, что требует дополнительного рассмотрения.

1.2.2 Таргетные системы для доставки и защиты БАВ в пищевых системах

В данном разделе представлены анализ и обоснование выбора наиболее функциональной системы доставки, способной защитить как гидрофильные, так и амфифильные компоненты и обеспечить их контролируемое высвобождение в заданном участке ЖКТ.

Ключевой проблемой в аспекте технологий получения и обеспечения функциональной эффективности пищевых систем остается низкая биодоступность минорных БАВ при пероральном введении: потери в кислой среде желудка, ферментативное расщепление, конкурентное связывание с компонентами пищевой матрицы и пресистемным метаболизмом (эффект первого прохождения). Совокупное снижение эффективности усваиваемого БАВ составляет от 5 % до 30 % от исходной дозы. В связи с этим таргетная доставка БАВ в пищевых технологиях представляет собой направленный транспорт нутриентов к клеткам-мишеням с одновременной

защитой от химической деградации при контролируемом высвобождении в заданном участке ЖКТ. Исследования последних лет указывают, что инкапсуляция в структурированные системы доставки позволяет минимизировать каждую из указанных потерь, обеспечивая сохраняемость нативных свойств БАВ на протяжении технологического цикла и срока годности пищевой системы [87; 111].

В рамках данного исследования в качестве ключевой таргетной платформы изучены эмульсионные системы доставки БАВ. Современная классификация систем доставки БАВ охватывает пять архитектурных классов: эмульсионные системы (O/W, W/O, $W_1/O/W_2$), твердые и наноструктурированные липидные наночастицы (ТЛН, НЛН), везикулярные системы (липосомы, нисомы), биополимерные матрицы (гидрогели, микросферы) и белковые комплексы (казеиновые мицеллы, агрегаты сывороточных белков). Следует учитывать, что выбор конкретного класса определяется физико-химическими свойствами инкапсулируемого БАВ, требуемым профилем высвобождения и технологическими ограничениями пищевого производства, при этом для молочных пищевых систем определяющее значение приобретают пищевой статус компонентов носителя, устойчивость в кислой среде и нейтральность в отношении органолептических характеристик продукта. Сравнительная характеристика с учетом заявленных параметров таргетных систем доставки БАВ представлена в таблице 5.

Сравнительный анализ данных показывает, что ни один из архитектурных классов не обеспечивает одновременно высокой загрузки БАВ различной полярности, технологической совместимости с молочной матрицей и приемлемой себестоимости. Липидные наночастицы и липосомы характеризуются наиболее высокой эффективностью инкапсуляции, однако первые практически не удерживают гидрофильные соединения, а вторые ограничены стоимостью фосфолипидов и нестабильностью при тепловой обработке. Биополимерные матрицы обеспечивают выраженное pH-триггерное высвобождение, но при отсутствии дополнительного покрытия характеризуются высокой пористостью и потерями содержимого.

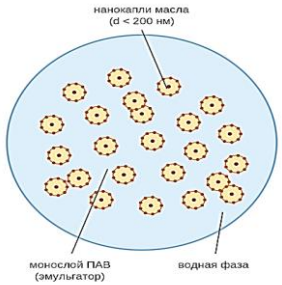
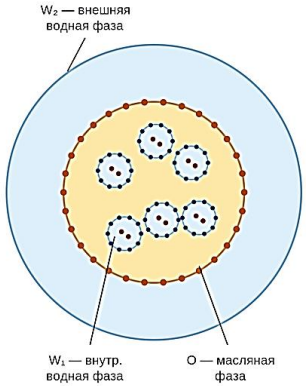
В связи с этим наибольший интерес для фортификации в молочные пищевые системы представляют системы эмульсионного типа, характеристика которых с учетом архитектуры и механизма удержания БАВ приведена в таблице 6.

Таблица 5 – Таргетные системы эффективной доставки БАВ в составе пищевых систем [92; 112; 121; 147]

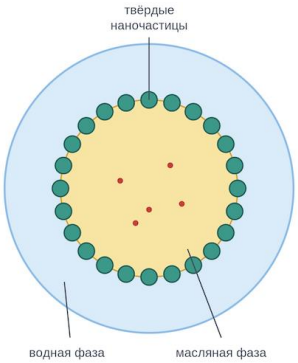
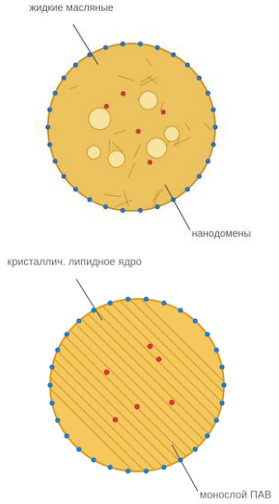
Тип эмульсионной системы	Размер частиц	Эффективность инкапсуляции *EE*, % [87; 111; 116]	Загружаемые БАВ	Преимущества	Ограничения
Прямая/обратная (O/W; W/O)	200–5 000 нм	40–70	Липофильные: каротиноиды, витамины A, D, E	Технологичность, масштабируемость, GRAS-статус* компонентов	Физическая нестабильность, утечка при хранении
Двойная эмульсия $W_1/O/W_2$	1–50 мкм	60–85	Гидрофильные + липофильные: берберин, фукоидан, витамины B, C	Поэтапное высвобождение, снижение осмотических потерь	Термодинамическая нестабильность, сложность технологии
Эмульсия Пикеринга	0,5–50 мкм	75–95	Липофильные и амфифильные: куркумин, β-каротин, полифенолы, витамины	Устойчивость к коалесценции без ПАВ, «чистая» этикетка, защита от окисления, контролируемый липолиз	Крупный размер капель, зависимость от смачиваемости частиц, ограниченная загрузка гидрофильных БАВ
ТЛН/НЛН (твердые липиды/ смесь твердых и жидких)	50–1 000 нм	80–95	Высоколипофильные: астаксантин, коэнзим Q10, ресвератрол, витамин K	Высокая эффективность инкапсуляции, физическая стабильность, масштабируемость	Низкая нагрузка гидрофильных БАВ, полиморфизм при хранении
Липосомы	80–500 нм	60–90	Амфифильные и гидрофильные: куркумин, витамин C, полифенолы	Биосовместимость, мукоадгезивность, направленная доставка	Высокая стоимость, нестабильность при нагреве и хранении
Хитозановые наночастицы	100–800 нм	70–90	Гидрофильные заряженные: фолиевая кислота, антиоксиданты, пептиды	Мукоадгезивность, антимикробная активность, раскрытие плотных межклеточных контактов	pH-зависимая растворимость, набухание в нейтральной среде

Примечание – * GRAS – generally recognized as safe, «общепризнано безопасным».

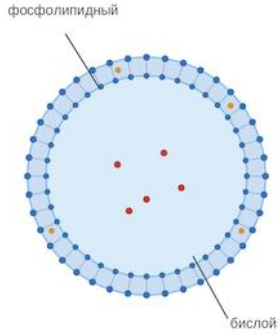
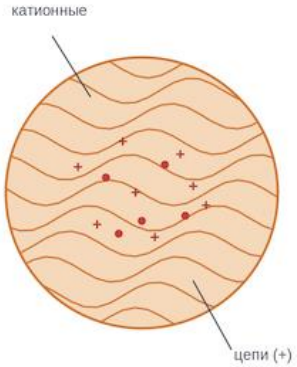
Таблица 6 – Характеристика систем эмульсионного типа для целевой доставки и защиты биологически активных веществ

Таргетная система доставки БАВ	Архитектура эмульсии	Развернутая характеристика свойств
Прямая эмульсия типа «масло в воде» (O/W)		Простая эмульсия «масло в воде» (O/W) представляет собой наиболее технологически доступную и промышленно масштабируемую форму системы доставки липофильных БАВ. Эмульсия формируется путем механического диспергирования липидной фазы в непрерывной водной дисперсной фазе в присутствии гидрофильного эмульгатора (Tween 80 с *HLB* = 15,0; лецитин с *HLB* = 7–9; сывороточные белки). Биодоступность каротиноидов и жирорастворимых витаминов в эмульсиях O/W повышается в 1,5–2,5 раза относительно кристаллической формы за счет предварительного диспергирования и облегченного доступа желчных кислот к межфазной поверхности [142]. Размер капель варьируется от 200 до 5 000 нм в зависимости от давления гомогенизации и концентрации эмульгатора. Главными ограничениями являются термодинамическая нестабильность (коалесценция, оствальдовское созревание) и диффузионные потери БАВ в водную фазу при хранении
Двойная эмульсия $W_1/O/W_2$		Двойная эмульсия $W_1/O/W_2$ – многофазная коллоидная архитектура, в которой мелкие капли внутренней водной фазы W_1 удерживаются масляной мембраной, диспергированной во внешней водной фазе W_2. Данная структура позволяет одновременно инкапсулировать гидрофильные БАВ (фукоидан, витамины группы B) во внутренней фазе и липофильные компоненты (каротиноиды, токоферолы) в дисперсной фазе, открывая возможность синергетического применения соединений с различной полярностью [63]. Стабильность системы определяется балансом трех факторов: концентрацией и типом липофильного эмульгатора (PGPR, Span 80) у поверхности W_1/O, составом гидрофильного эмульгатора (Tween 80, лецитин) у поверхности O/W_2 и осмотическим равновесием между фазами W_1 и W_2 ($\Delta П \leq 50$ мОсм/кг для минимизации осмотического переноса воды) [67]. Эффективность инкапсуляции гидрофильных БАВ составляет 60–85 % и снижается при хранении вследствие диффузии через масляную фазу и обратной коалесценции внутренних капель

Продолжение таблицы 6

Таргетная система доставки БАВ	Архитектура эмульсии	Развернутая характеристика свойств
Эмульсии Пикеринга		Эмульсии Пикеринга представляют собой эмульсионные системы, стабилизированные не молекулами поверхностно-активных веществ, а твердыми коллоидными частицами, необратимо адсорбирующимися на границе раздела «масло – вода». Энергия десорбции такой частицы достигает 10^3–10^5 kT, что обусловливает практически необратимое закрепление частиц на межфазной поверхности и исключительную устойчивость капель к коалесценции и оствальдовскому созреванию [111; 116]. Тип образующейся эмульсии (O/W или W/O) определяется краевым углом смачивания θ частиц: при $\theta < 90°$ частицы преимущественно гидрофильны и стабилизируют прямые эмульсии O/W, при $\theta > 90°$ – обратные эмульсии W/O. В качестве пищевых стабилизаторов Пикеринга применяют наночастицы крахмала, нанокристаллы целлюлозы, частицы хитина, белковые частицы (зеин, соевый и гороховый белок), а также кристаллы флавоноидов, что обеспечивает «чистую» этикетку и отсутствие синтетических ПАВ. Эффективность инкапсуляции липофильных и амфифильных соединений достигает 75–95 %. Основными ограничениями являются относительно крупный размер капель (0,5–50 мкм), зависимость стабильности от смачиваемости и концентрации частиц, а также ограниченная загрузочная способность в отношении гидрофильных БАВ [111; 116]
Твердые липидные наночастицы (ТЛН), наноструктурированные липидные носители (НЛН)		Твердые липидные наночастицы формируются из биосовместимых липидов (пальмитиновая и стеариновая кислоты, триглицериды, воски), находящихся в кристаллическом состоянии при температуре тела. Принцип удержания БАВ основан на физическом включении молекул в дефекты кристаллической решетки: при охлаждении расплавленного липидного ядра БАВ оказывается захваченным в формирующейся матрице [111]. НЛН второго поколения содержат контролируемую смесь твердого и жидкого липидов, что создает нарушенную (аморфную) кристаллическую структуру с увеличенным свободным объемом и повышает эффективность инкапсуляции с 70–80 % (ТЛН) до 85–95 % (НЛН), одновременно снижая экспульсию вещества при хранении. Высвобождение БАВ в условиях ЖКТ происходит за счет эрозии матрицы панкреатической липазой, диффузии через разрушенный слой и растворения в мицеллярном пуле желчных кислот, что обеспечивает биодоступность липофильных БАВ на уровне 60–85 %. Основные ограничения связаны с полиморфными переходами кристаллической решетки при хранении и низкой нагрузочной способностью в отношении полярных молекул

Продолжение таблицы 6

Таргетная система доставки БАВ	Архитектура эмульсии	Развернутая характеристика свойств
Липосомы		Липосомы – это везикулярные системы, сформированные из одного или нескольких концентрических фосфолипидных бислоев, ограничивающих водное ядро, являются наиболее биомиметичной из пищевых систем доставки. Двойной фосфолипидный слой толщиной 3–5 нм обеспечивает одновременное удержание гидрофильных БАВ в водном ядре и амфифильных молекул в гидрофобной зоне бислоя; это принципиально отличает липосомы от мицелл и эмульсий. Ключевыми характеристиками пищевых липосом являются средний размер (80–500 нм), коэффициент полидисперсности (*PDI* < 0,25) и ζ-потенциал (|ζ| > 30 мВ для электростатической стабилизации) [116]. Технологии получения включают пленочное гидратирование с последующей экструзией через мембранные фильтры, микрофлюидную гидродинамическую фокусировку и ультразвуковое диспергирование. Главными ограничениями для пищевого применения являются высокая стоимость пищевых фосфолипидов, нестабильность при тепловой обработке (пастеризация, стерилизация) и возможность окисления ненасыщенных фосфолипидов при хранении
Хитозановые наночастицы		Хитозановые наночастицы получают методом ионного гелеобразования с триполифосфатом натрия, нанопреципитации или полиэлектролитной комплексации с анионными биополимерами (альгинат, декстрансульфат, гиалуронат). Положительный поверхностный заряд частиц (ζ = +20…+40 мВ при pH 6) обусловлен протонированием аминогрупп ($-NH_3^+$) и обеспечивает мукоадгезивность за счет электростатического взаимодействия с отрицательно заряженным муцином слизистой, увеличивая время контакта системы с эпителием кишечника в 2–4 раза [122]. Хитозан также обратимо раскрывает плотные межклеточные контакты через взаимодействие с белком, что повышает парацеллюлярную абсорбцию гидрофильных БАВ на 30–200 % [138]. Растворимость хитозана pH-зависима: полимер растворим при pH < 6,0 (желудок, проксимальная часть тонкого кишечника) и агрегирует при pH > 6,5, что определяет pH-триггерное высвобождение с акцентом на тонкокишечную абсорбцию. Ограничения связаны с вариабельностью степени деацетилирования (75–95 %) и молекулярной массы (50–2 000 кДа) между партиями коммерческого хитозана, что затрудняет стандартизацию

Сопоставление систем эмульсионного типа свидетельствует, что двойная эмульсия $W_1/O/W_2$ является единственной архитектурой, обеспечивающей пространственное разделение фаз с различной полярностью в пределах одной коллоидной структуры. Наличие двух межфазных барьеров (W_1/O и O/W_2) формирует диффузионное сопротивление, замедляющее миграцию БАВ в непрерывную фазу при хранении, а также определяет двухэтапный профиль высвобождения в условиях ЖКТ: с первым пиком в желудочной фазе под действием пепсина и кислой среды и вторым – в кишечной фазе под действием панкреатина [51; 85; 124].

Результаты сравнительной оценки эффективности инкапсуляции и кратности прироста биодоступности для основных типов систем доставки БАВ представлены на рисунке 4. Указанное свойство принципиально в аспекте первичной профилактики НИЗ, поскольку обеспечивает пролонгированную экспозицию БАВ в тонком кишечнике, и соответственно, повышение вероятности их абсорбции [63; 67; 95; 96; 145].

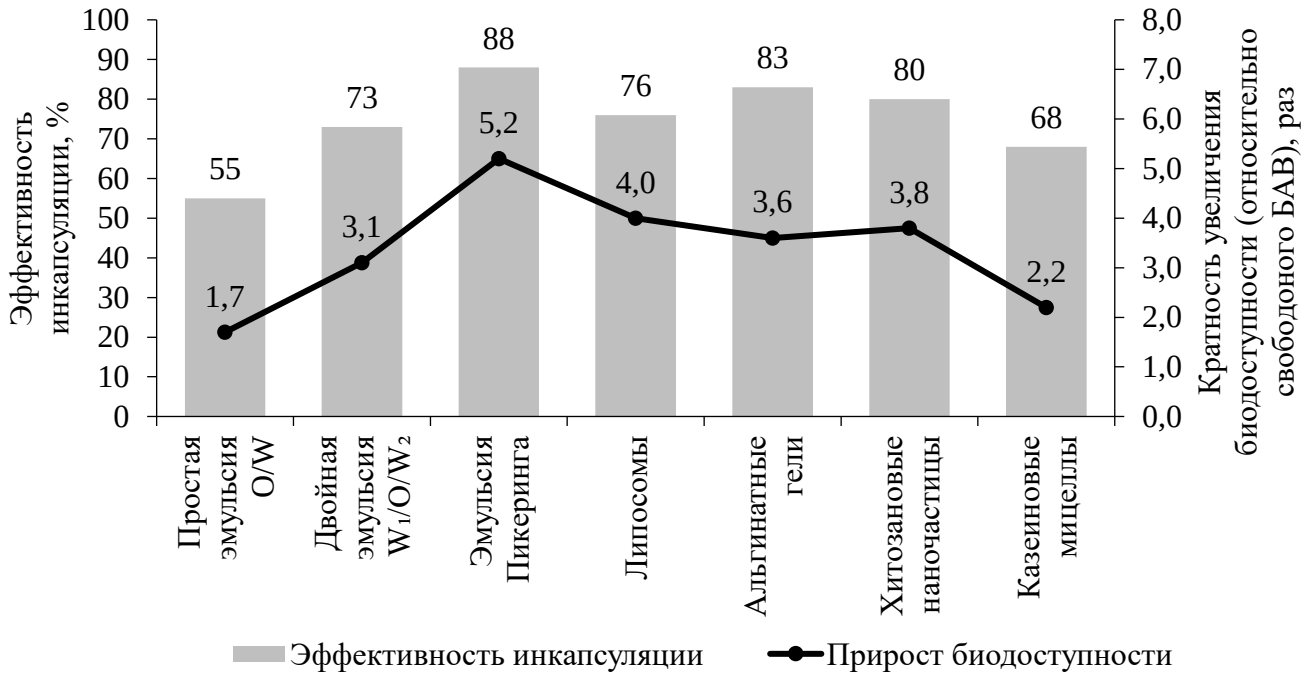


Рисунок 4 – Сравнение эффективности инкапсуляции и кратности прироста биодоступности для основных типов систем доставки БАВ [87; 111; 116]

Обобщая представленные данные, можно заключить, что для решения задачи эффективной фортификации БАВ (гидрофильного фукоидана и амфифильного берберина) в матрицу жидких пищевых систем (молочных продуктов) наиболее рациональной архитектурой является биоактивная двойная эмульсия типа $W_1/O/W_2$. Преимущество выбора обеспечивается следующими возможностями: размещение БАВ в фазе, соответствующей их полярности, сохраняемость нативных свойств за счет двойного межфазного барьера, контролируемое высвобождение в целевых отделах ЖКТ и совместимость с белково-жировой матрицей молочных продуктов при отсутствии выраженного влияния на органолептические характеристики. Вместе с тем эксплуатационные показатели двойной эмульсии – размер дисперсной фазы, эффективность инкапсуляции и стабильность при хранении – определяются не только составом системы, но и способом ее получения, что обусловливает необходимость анализа технологических подходов к формированию пищевых систем доставки БАВ [11; 12; 41; 63; 61; 97; 113; 145].

1.2.3 Гидрофобный матрикс для инкапсуляции биоактивного соединения в эмульсионную систему

Липидная фаза эмульсионной таргетной системы для доставки БАВ формирует гидрофобный матрикс для инкапсуляции активного соединения. Липидная фаза (О) в архитектуре $W_1/O/W_2$ не является инертным наполнителем: она формирует промежуточную мембрану, разделяющую внутреннюю и внешнюю водные фазы, и в силу этого определяет комплекс эксплуатационных характеристик системы. Согласно литературным данным, функциональная роль липидной фазы реализуется в пяти направлениях: формирование диффузионного сопротивления, лимитирующего миграцию гидрофильного БАВ из фазы W_1 во внешнюю фазу W_2; обеспечение окислительной устойчивости системы в течение срока годности пи-

щевой системы; сольватация амфифильных и липофильных компонентов, определяющая их фазовое распределение; сенсорная нейтральность по отношению к молочной матрице; нутритивный вклад в добавленную полезность продукта за счет незаменимых жирных кислот и сопутствующих минорных компонентов. Обозначенная совокупность требований определяет целесообразность сравнительной оценки растительных масел в аспекте их применимости в качестве липидной фазы для технологии БДЭ [82; 125; 129; 145; 177].

Первым и определяющим критерием при выборе липидной фазы выступает жирнокислотный состав, обусловливающий технологические и физиологические характеристики системы, вследствие чего задача выбора сводится к нахождению компромисса между нутритивной значимостью и технологической устойчивостью [82; 162; 177].

Важно учитывать, что скорость автоокисления триглицеридов находится в экспоненциальной зависимости от числа двойных связей в ацильных цепях: относительные скорости окисления олеиновой, линолевой и α-линоленовой кислот соотносятся приблизительно как 1:12:25, вследствие чего увеличение доли полиненасыщенных жирных кислот с тремя и более двойными связями кратно повышает вероятность инициирования свободнорадикальных процессов.

Второй важный критерий – длина ацильных цепей триглицеридов, определяющая биодоступность инкапсулированных липофильных компонентов. Доказано, что при липолизе длинноцепочечные триглицериды формируют смешанные мицеллы с увеличенным гидрофобным доменом, обладающие более высокой солюбилизирующей способностью в отношении неполярных соединений. Среднецепочечные триглицериды образуют мицеллы меньшего размера, что снижает биодоступность липофильных БАВ. Обозначенная закономерность должна учитываться при проектировании систем доставки БАВ [142; 158].

Дополнительными критериями выступают реологические характеристики масляной фазы, определяющие устойчивость внутренних капель к коалесценции, а также совместимость масла с липофильным эмульгатором. Установлено влияние полиглицерин-полирицинолеат, на стабилизацию границы в эмульсии W_1/O, что

обеспечивает наиболее эффективное формирование межфазной пленки в средах на основе растительных масел с преобладанием ненасыщенных длинноцепочечных триглицеридов. Повышение вязкости масляной фазы при этом дополнительно замедляет диффузионный перенос воды и растворенных веществ между фазами [79; 86; 125; 145]. Сравнительная характеристика растительных масел и жиров, рассматриваемых в качестве липидной фазы (таблица 7).

Анализ данных таблицы 7 показывает, что масла с максимальной физиологической ценностью – льняное и рыбный жир, характеризующиеся высоким содержанием ω-3 жирных кислот, – одновременно обладают наименьшей окислительной устойчивостью (йодное число на уровне 150–204 г I_2/100 г). Указанное свойство закономерно приводит к росту значения перекисного числа и формированию выраженных посторонних сенсорных характеристик, что неприемлемо молочной пищевой системы и требует введения дополнительных антиоксидантных комплексов либо вторичной инкапсуляции, что усложняет технологию и повышает себестоимость продукта [87; 158; 162].

Прочие рассматриваемые масла превосходят льняное и рыбий жир по окислительной устойчивости, однако каждое из них имеет собственные ограничения, не позволяющие считать его оптимальным для технологии БДЭ. Так, оливковое масло характеризуется высокой окислительной устойчивостью, обусловленной преобладанием мононенасыщенной олеиновой кислоты и наличием полифенольных антиоксидантов, однако его выраженный аромат и характерная горчинка формируют сенсорную доминанту в молочной матрице, а низкое содержание незаменимой линолевой кислоты снижает нутритивную значимость масляной фазы. Соевое масло по жирнокислотному составу близко к подсолнечному, однако наличие α-линоленовой кислоты (4,5–11 %) снижает его устойчивость при хранении, а специфический привкус ограничивает применение для поставленной в работе цели [82; 158; 162; 177].

Таким образом, подсолнечное масло обеспечивает наиболее рациональный баланс рассмотренных критериев и остается приоритетом при выборе, что подтверждает практика его использования в рамках проектных исследований.

Таблица 7 – Характеристика растительных масел и жиров в аспекте применимости в качестве масляной фазы для биоактивной двойной эмульсии

Наименование растительного масла или жира	Жирнокислотный состав	Содержание*, % к сумме жирных кислот	Показатели качества		Сенсорная нейтральность	Применимость в качестве липидной фазы БДЭ
			Йодное число, г I_2/100 г	Окислительная устойчивость		
Подсолнечное масло	C18:2 линолевая (октадекадиеновая)	48,3–77,0	118–141	Умеренная	Высокая (обезличенный вкус и запах для дезодорированных масел)	Оптимальная: длинноцепочечные триглицериды, высокое содержание незаменимой линолевой кислоты, природные токоферолы, жидкое состояние при 4 °C
	C18:1 олеиновая (октадеценовая)	14,0–39,4				
	C16:0 пальмитиновая (гексадекановая)	5,0–7,6				
	C18:0 стеариновая (октадекановая)	2,7–6,5				
Льняное масло	C18:3 α-линоленовая (октадекатриеновая) (ω-3)	45–60	170–204	Крайне низкая: склонно к прогорканию	Низкая: выраженный специфический привкус	Ограниченная: наличие трех двойных связей ускоряет автоокисление и способствует увеличению пероксидного числа в течение срока годности
	C18:2 линолевая (октадекадиеновая)	12–18				
	C18:1 олеиновая (октадеценовая)	15–20				
Оливковое масло	C18:1 олеиновая (октадеценовая)	55–83	75–94	Высокая	Низкая: выраженный аромат и горчинка	Ограниченная: сенсорная доминанта в молочной матрице, низкое содержание незаменимых полиненасыщенных жирных кислот и высокая себестоимость
	C18:2 линолевая (октадекадиеновая)	3,5–21				
	C16:0 пальмитиновая (гексадекановая)	7,5–20				

Продолжение таблицы 7

Наименование растительного масла или жира	Жирнокислотный состав	Содержание*, % к сумме жирных кислот	Показатели качества		Сенсорная нейтральность	Применимость в качестве липидной фазы БДЭ
			Йодное число, г I_2/100 г	Окислительная устойчивость		
Рыбный жир	C20:5 эйкозапентаеновая	5–18	150–200	Крайне низкая	Очень низкая: выраженный рыбный запах	Неприемлемая без вторичной инкапсуляции: наличие пяти-шести двойных связей обусловливает быстрое окисление и формирование постороннего запаха
	C22:6 докозагексаеновая	6–14				
	Насыщенные жирные кислоты	20–30				
Соевое рафинированное масло	C18:2 линолевая (октадекадиеновая)	48–59	120–143	Умеренно низкая	Средняя: возможен бобовый привкус	Условная: по жирнокислотному составу близко к подсолнечному маслу, однако уступает ему по сенсорной нейтральности и устойчивости при хранении
	C18:1 олеиновая (октадеценовая)	17–30				
	C18:3 α-линоленовая (октадекатриеновая)	4,5–11				
Примечание – * Диапазоны значений приведены по литературным данным и требованиям нормативной документации на масложировую продукцию [79; 82; 91; 142; 158; 162; 167; 177].						

Содержание линолевой кислоты (C18:2, ω-6) на уровне 48–74 % определяет физиологическую ценность масляной фазы как источника незаменимой жирной кислоты, участвующей в синтезе эйкозаноидов и поддержании барьерной функции клеточных мембран, при этом отсутствие в составе кислот с тремя двойными связями ограничивает йодное число диапазоном 118– 141 г I_2/100 г и обеспечивает приемлемую окислительную устойчивость. Природное содержание токоферолов, преимущественно α-формы, формирует эндогенную антиоксидантную защиту липидной фазы, дополняющую барьерное действие эмульсионной структуры. Принадлежность к длинноцепочечным триглицеридам обеспечивает высокую солюбилизирующую способность смешанных мицелл при липолизе и, соответственно, биодоступность липофильных и амфифильных БАВ. Глубокая очистка масла обеспечивает обезличенность вкуса и запаха, что является критическим условием для молочной матрицы, а жидкое состояние при 4 °C гарантирует сохранение дисперсной структуры на протяжении холодильного хранения [82; 142; 158; 177].

Кроме того, доминирующая в подсолнечном масле линолевая кислота участвует в формировании межфазных структур эмульсионной системы, обеспечивая критерий совместимости масла с БАВ. За счет способности к образованию нековалентных ассоциатов с полярными группами полисахаридов и амфифильных соединений на границе раздела фаз повышается механическая прочность межфазной пленки и снижается скорость коалесценции внутренних капель. Кроме того, для амфифильных алкалоидов (в частности, берберина) взаимодействие с ненасыщенными жирными кислотами определяет их преимущественное распределение в масляную фазу и пространственное разобщение с белками пищевой матрицы, что рассматривается как самостоятельный фактор повышения сохранности БАВ в составе пищевой системы [67; 86; 145; 172].

Следовательно, выбор масляной фазы в технологии БДЭ определяется не критерием максимальной физиологической ценности отдельного вида масла, а совокупностью технологической устойчивости, сенсорной совместимости с молочной матрицей, длины ацильных цепей триглицеридов и способности жирнокис-

лотного состава участвовать в формировании межфазных структур [63; 82; 142; 145; 177].

Подбор основных компонентов для среды и фазы (W/O либо O/W) первого уровня и дополнительных компонентов осуществлялся в зависимости от типа эмульсии. Простые эмульсии типа «масло в воде» (O/W) наиболее распространены в пищевой промышленности и широко применяются для доставки жирорастворимых ингредиентов (витаминов D, E, K, каротиноидов). Вместе с тем имеют место ограничения: дисперсная жировая фаза недоступна для инкапсуляции высокомолекулярных гидрофильных БАВ, таких как сульфатированные полисахариды, – они остаются в непрерывной водной фазе без какой-либо защиты. Эмульсии Пикеринга стабилизируются природными твердыми частицами, крахмальными гранулами, нанокристаллами целлюлозы, белковыми агрегатами, частицами модифицированных полисахаридов, которые обеспечивают высокую механическую прочность межфазного слоя и долгосрочную коллоидную стабильность. Однако их недостатками являются ограниченная возможность инкапсуляции гидрофильных полисахаридов в масляную фазу и отсутствие пространственного разделения двух БАВ различной полярности в единой системе [34; 37; 38; 39; 40; 71].

Системы по типу двойной эмульсии $W_1/O/W_2$ имеют трехкомпонентную архитектуру и реализуют принцип двойного межфазного барьера: инкапсулированное вещество отделено от внешней среды последовательно двумя интерфейсами – W_1/O и O/W_2, каждый из которых замедляет диффузию и предотвращает деградацию.

Поскольку БДЭ типа $W_1/O/W_2$ термодинамически нестабильны, в технологическом аспекте важно определить состав эмульгирующих агентов (таблица 8). Важен правильный подбор эмульгирующих агентов для двух гетерогенных интерфейсов: гидрофобного – для W_1/O-интерфейса ($HLB < 6$) и гидрофильного – для O/W_2-интерфейса ($HLB > 10$).

Таблица 8 – Эмульгирующие агенты, применяемые в технологиях двойных эмульсий типа $W_1/O/W_2$ [64; 79; 82; 86; 95; 97; 104; 145; 153; 167; 174]

Эмульгатор	Класс	*HLB*	Интерфейс	Концентрация, %	Эффективность инкапсуляции, %	Особенности свойств	Источники
PGPR (E476)	Синтетический (полиглицерин-полирицинолеат)	1–4	W_1/O	0,5–4,0	80–95	Высокоэффективный W/O-стабилизатор; устойчивость до 80 °C; разрешен к применению в РФ; используется в шоколаде	[79; 167]
Span 80 (E494)	Синтетический (эфир сорбитана и олеиновой кислоты)	4,3	W_1/O	1,0–3,0	70–88	Классический W/O-эмульгатор; синергичен с Tween 80 (2:1–4:1); разрешен в ЕС и РФ	[95; 145]
Моно- и диглицериды жирных кислот (МДГ) (E471)	Природный или синтетический (гидролизат жиров + глицерин)	3–7	W_1/O или O/W_2	0,5–2,0	65–85	Универсальный; формирует кристаллический интерфейс; широко применяется в молочной промышленности	[82; 177]
Tween 80 (E435)	Синтетический (этоксилированный сорбитан-олеат)	15,0	O/W_2	0,5–2,0	85–95	Наиболее изученный O/W-стабилизатор в двойных эмульсиях; стерический барьер; разрешен в РФ	[97; 145]
Tween 40 (E434)	Синтетический (этоксилированный сорбитан пальмитат)	15,6	O/W_2	0,5–2,0	80–92	Близкий аналог Tween 80; применяется для ванильных и шоколадных эмульсий; разрешен в РФ	[82; 104]
Tween 20 (E432)	Синтетический (этоксилированный сорбитан лаурат)	16,7	O/W_2	0,5–2,0	75–90	Наибольший *HLB* из полисорбатов; легкие водные эмульсии, напитки, мороженое; разрешен в РФ	[82; 104]

Продолжение таблицы 8

Эмульгатор	Класс	*HLB*	Интерфейс	Концентрация, %	Эффективность инкапсуляции, %	Особенности свойств	Источники
L-лизин	Аминокислота (незаменимая); амфифильный характер	–	$O/W_2 + W_1/O$ (состабилизатор)	0,5–2,0	70–88	Натуральный стабилизатор; электростатический барьер; синергизм с полисорбатами; обогащает продукт	[82; 177]
Казеинат натрия	Молочный белок (αs1, αs2, β, к-казеины)	≈8–9	O/W_2	0,5–2,0	78–92	Природный белковый барьер; вязкоупругий адсорбционный слой 10–15 нм; pH-зависимость (агрегация pH < 4,6)	[64; 153]
Изолят сывороточного белка (WPI)	Молочный белок (β-лактоглобулин, α-лактальбумин)	≈6–8	O/W_2	1,0–3,0	80–93	Глобулярный белок; денатурация >70 °C усиливает барьер (SH-группы); совместим с молочными матрицами	[64; 86]
Лецитин подсолнечный (E322)	Природный фосфолипид (фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол)	7–9	W_1/O или O/W_2	0,5–2,0	70–88	Натуральный; ламеллярные жидкокристаллические фазы; синергизм с PGPR; разрешен в РФ без ограничений	[82; 174]

Наиболее изученной и эффективной комбинацией эмульгаторов для пищевых двойных эмульсий является пара PGPR (W_1/O) + Tween 80 или белок (O/W_2) [64; 79; 82]. PGPR в концентрации 1,5–4,0 % формирует прочный адсорбционный монослой на первичном W/O-интерфейсе с эффективностью инкапсуляции 80–95 %. Tween 80 в концентрации 1,0–2,0 % стабилизирует внешний O/W_2-интерфейс через стерическое отталкивание полиэлектролитных цепей. Молочные белки (WPI, казеинат) могут применяться самостоятельно или в сочетании с полисорбатами, обеспечивая дополнительную вязкоупругую стабилизацию [104; 145; 152; 153; 167].

1.2.4 Технологические подходы к эффективной фортификации БАВ в пищевые системы

Эффективность фортификации БАВ в матрицы пищевых систем определяется не только архитектурой носителя, но и технологическим методом его конструирования, задающим размер дисперсной фазы, эффективность инкапсуляции, стабильность при хранении и, как следствие, биодоступность БАВ. В аспекте промышленного приложения к конкретной пищевой системе определяющее значение приобретают масштабируемость процесса и параметры ведения технологических процессов, поскольку они лимитируют применимость метода для термолабильных биологически активных веществ.

Характеристика технологических подходов используемых для формирования систем доставки БАВ в пищевые матрицы представлена в таблице 9.

Гомогенизация высокого давления представляет собой промышленный стандарт получения пищевых эмульсий: дисперсия проходит через клапан с зазором 5−50 мкм, где совокупное действие сдвиговых напряжений, кавитации и турбулентности обеспечивает дробление капель, причем размер дисперсной фазы подчиняется зависимости $d_{32} \sim P^{-n}$ (n = 0,3–0,6), где d_{32} – среднеповерхностный диаметр капель, P – давление [139].

Таблица 9 – Технологические методы эффективного инкапсулирования БАВ в эмульсионные системы [14; 15; 36; 63; 76; 87; 111; 110; 115; 116; 120; 125; 128]

Метод*	Действующий фактор	Размер частиц	Эффективность инкапсуляции, %	Оптимальный состав БАВ для инкапсуляции
Гомогенизация (50–200 МПа)	Диспергирование под действием высокого сдвигового напряжения, турбулентности и кавитации, при этом увеличение давления и числа проходов обычно уменьшает средний размер капель	100–500 нм	65–90	Термостабильные, липофильные и гидрофильные: каротиноиды, полифенолы, двойные эмульсии
Ультразвуковая эмульсификация	Акустическая кавитация; локально высокое давление и температура в зоне схлопывания каверн	150–800 нм	60–88	Термолабильные: полифенолы, ПНЖК, антоцианы, ароматические соединения
Мембранные технологии	Высокое давление дисперсной фазы через пористую мембрану (SPG**, Al_2O_3) с контролируемым размером пор	1–20 мкм	70–92	Все типы БАВ; особо ценно для термолабильных и чувствительных к давлению
Распылительная сушка	Атомизация суспензии с испарением растворителя в потоке горячего воздуха ($T_{вх}$ = 150–220 °C)	1–100 мкм	50–85	Термостабильные, водорастворимые: витамины группы B, пробиотики в защитных матрицах
Комплексная коацервация	Электростатическое взаимодействие противоположно заряженных биополимеров (характер зависит от соотношения pH и pI)	1–800 мкм	75–95	Ароматизаторы, эфирные масла, полифенолы, жиры, пробиотические культуры

Примечания

* Параметры методов приведены по литературным источникам: гомогенизация высокого давления – [63; 125; 128]; ультразвуковая эмульсификация – [14; 15; 36; 77; 120; 128]; мембранные технологии – [115]; распылительная сушка – [76; 110]; комплексная коацервация – [87].

** SPG (Shirasu porous glass) – пористое стекло из вулканического пепла Shirasu.

Для двойных эмульсий $W_1/O/W_2$ применяют двухстадийный протокол: первичную эмульсию формируют при 500–1500 бар, вторичную – при 100–300 бар при производительности установок 10 000–40 000 л/ч. Вместе с тем интенсивное механическое и термическое воздействие на второй стадии сопряжено с риском разрушения внутренней фазы W_1 и потерь инкапсулированного вещества, что ограничивает применимость метода в отношении термолабильных БАВ [35; 62; 63; 125; 128].

Для рассматриваемой совокупности технологических методов основными критериями выбора для эмульсионной таргетной системы выступали возможности регулирования физико-химических и биоактивных свойств БАВ.

Сравнительный анализ рассмотренных в таблице 9 методов инкапсуляции показывает, что для получения жидкой биоактивной эмульсионной системы, предназначенной для непосредственного введения в молочную матрицу без предварительного концентрирования или высушивания, наиболее обоснован выбор низкочастотной ультразвуковой эмульсификации. Распылительная сушка, несмотря на высокую производительность и приемлемую эффективность инкапсуляции (50−85 %), исключается из рассмотрения принципиально: метод дает сухой порошкообразный продукт и не применим для получения жидких эмульсионных систем, вводимых непосредственно в молочную матрицу [76; 110]. Мембранные технологии обеспечивают наиболее узкое распределение капель по размерам ($CV < 10$ %) при мягком воздействии низкого трансмембранного давления, однако их производительность (10–100 л/(м²·ч)) резко снижается при работе с вязкими, богатыми белком системами, что ограничивает применение метода именно в молочных технологиях [115]. Комплексная коацервация, обеспечивающая наиболее полную сохранность БАВ (до 92 %) и pH-триггерный профиль высвобождения за счет послойной адсорбции полиэлектролитов, требует точного подбора pH вблизи изоэлектрической точки катионного биополимера и многостадийного процесса формирования и сшивки оболочки, что усложняет технологическую реализацию [87; 116; 122]. Гомогенизация высокого давления (50–200 МПа) достигает сопоставимой с ультразвуком эффективности инкапсуляции (65–90 %), однако интенсивное сдвиговое воз-

действие и турбулентность создают риск механической деструкции высокомолекулярных и сдвиг-чувствительных полисахаридов [63; 125; 128].

В отличие от перечисленных методов, низкочастотная ультразвуковая эмульсификация сочетает несколько принципиальных преимуществ одновременно: отсутствие выраженного нагрева системы при импульсном режиме обработки (цикл 0,5 с, скважность 50 %), что критически важно для сохранения нативных свойств термолабильных БАВ; достижение целевого размера капель (d_{32} = 150–400 нм) за короткое время обработки (2–5 мин); возможность проведения процесса в инертной атмосфере для защиты оксидолабильных соединений; и сниженную, по сравнению с другими методами, потребность в эмульгаторах. Единственным ограничением метода является умеренная производительность (10–500 л/ч) и сложность прямого линейного масштабирования, что, однако, не является критичным при производстве концентрата биоактивной эмульсии для последующей фортификации молочной матрицы [131; 150; 92; 99; 108; 121; 154; 165].

Концепция двойных эмульсий, сформулированная в 1925 г. и детально разработанная в трудах N. Garti с соавторами [96], предполагает диспергирование глобул масляной фазы, содержащих капли внутренней водной фазы W_1, во внешней водной фазе W_2. Формируемый двойной межфазный барьер (W_1/O и O/W_2) замедляет диффузию и защищает инкапсулированное вещество от деградации, а контролируемое высвобождение реализуется по двухэтапному кинетическому профилю: первый пик – в желудочной фазе (pH 1,2–2,0, действие пепсина), второй – в кишечной фазе (pH 6,8–7,4, действие панкреатина). Масляная оболочка пролонгирует экспозицию БАВ в тонком кишечнике, повышая вероятность абсорбции, вследствие чего система в наибольшей степени отвечает требованиям к доставке БАВ в молочных пищевых системах профилактического назначения [67; 95; 96; 97; 113; 134; 135; 145].

Таким образом, выбор технологической платформы для доставки БАВ определяется совокупностью их свойств, требуемого размера дисперсной фазы, профиля высвобождения и ограничений пищевой матрицы. Для технологий получения двойных эмульсий $W_1/O/W_2$ традиционно применяют двухстадийную гомогениза-

цию высокого давления, обеспечивая эффективность инкапсуляции на уровне 65–82 % и воспроизводимость процесса. Однако в отношении термолабильного фукоидана и оксидолабильной масляной фазы данный подход сопряжен с риском деструкции внутренней фазы.

Несмотря на высокую эффективность низкочастотной ультразвуковой кавитации, полученная двойная эмульсия по своей природе является термодинамически нестабильной системой. Для предотвращения процессов коалесценции, обратного осмотического переноса и миграции БАВ между фазами необходима надежная стабилизация межфазных поверхностей. Это требование выдвигает на первый план корректный подбор эмульгирующих агентов, от совместимости и концентрации которых напрямую зависит не только структура $W_1/O/W_2$, но и эффективность инкапсуляции активных веществ [86; 95; 125; 145]. Кроме того, реализуемый двойной межфазный барьер инкапсуляции БАВ в двойные эмульсии обеспечивает двухэтапный профиль высвобождения (рисунок 5), что определяет высокую функциональную значимость биоактивной системы в составе пищевой матрицы первичной профилактики НИЗ [63; 60; 67].

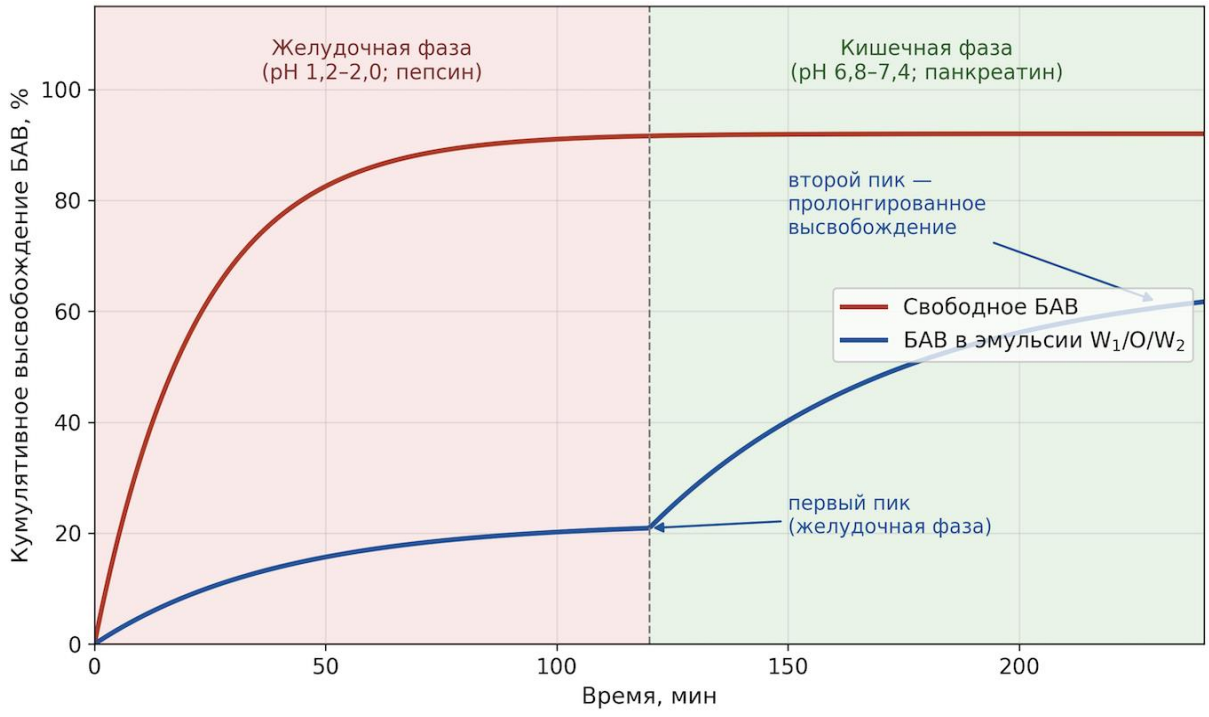


Рисунок 5 – Двухфазный профиль высвобождения (желудочная и кишечная фазы в сравнении со свободным БАВ)

Проведенный анализ показывает, что распространенные высокоэнергетические методы сопряжены с риском дестабилизации внутренней фазы и избыточным термическим воздействием на инкапсулируемые компоненты. Альтернативой, обеспечивающей достижение субмикронных размеров дисперсной фазы в щадящем температурном режиме, выступает ультразвуковая эмульсификация, что определяет целесообразность детального рассмотрения физических основ низкочастотного ультразвукового воздействия и механизма акустической кавитации как научной базы выбранного технологического решения [58; 59; 63; 120; 125; 128; 168].

Заключение по главе 1

Анализ доступных источников научной и технической информации показал, что на сегодняшний день имеется научно-технологический задел для формирования рынка пищевых систем функциональной направленности, что является ключевым трендом современной пищевой биотехнологии. Поиск решений и формирование доказательной базы для решения стратегической задачи минимизации рисков возникновения НИЗ и обеспечения активного долголетия населения имеет глобальный уровень и является весьма актуальным направлением исследований, требующих научных и технологических разработок.

Создание новых решений для получения интеллектуальных биосистем, способов их интеграции в пищевую матрицу станет действенным инструментом повышения их эффективности в регулировании метаболических процессов. Вместе с тем выявлены сегменты, требующие детального изучения при выборе БАВ для фортификации в пищевые системы; возможности двойных эмульсий типа $W_1/O/W_2$ в качестве эффективной таргетной системы доставки; возможности низкочастотной ультразвуковой эмульсификации для получения биоактивной двойной эмульсии с целью последующего приложения в технологии кисломолочных продуктов.

В рамках достижения цели данного научного исследования необходимо осуществить *in silico* прогнозирование функциональности БАВ и их биодоступности в составе молочных продуктов; разработать и оптимизировать технологию получения БДЭ типа $W_1/O/W_2$ на основе низкочастотного ультразвукового воздействия; разработать технологии фортификации БДЭ в молочные матрицы йогурта и мягкого сыра, осуществить комплексную оценку качества, оценить сохранение добавленной полезности разработанных продуктов.

В качестве рабочей гипотезы определено получение биоактивной двойной эмульсии как базовой технологической платформы доставки БАВ, обеспечивающей защиту биоактивных веществ, их удержание в пищевой системе с возможностью контролируемого высвобождения.

2 Организация эксперимента, объекты и методы исследования

2.1 Схема проведения экспериментальных исследований

Основной объем исследований выполнен в период с 2022 по 2026 г. на базе научно-исследовательских лабораторий ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (НИУ)»: НОЦ «Нанотехнологии»; международной НИЛ «Синтез и анализ пищевых ингредиентов», НИЛ «Природоподобные конвергентные технологии и экоматериалы»,

На основе выдвинутой рабочей гипотезы и поставленных задач методом конвергенции современных методов установлена последовательность этапов исследований (рисунок 6) [146; 147].

Первый этап посвящен анализу российской и зарубежной научно-технической и патентной литературы по теме диссертации. Исследованы современные тренды рынка пищевых систем направленного действия для профилактики неинфекционных заболеваний, включая технологии фортификации продуктов и таргетной доставки БАВ. Особое внимание уделено применению низкочастотного ультразвука (НУЗВ) в производстве биоактивных двойных эмульсий, а также механизмам стабилизации и высвобождения инкапсулированных БАВ.

На втором этапе определены сырьевая база для получения пищевой эмульсии и методы фортификации, обеспечивающие качество и стабильность системы. Обоснование выбора сырьевой базы включало подбор и исследование БАВ, а также выбор дополнительных составляющих эмульсионной системы с последующей разработкой методологии получения и оптимизации двойной эмульсии с применением НУЗВ-технологии двухстадийного эмульгирования и BBD-оптимизации параметров.

Рисунок 6 – Схема проведения экспериментальных исследований

На третьем этапе проведена комплексная оценка качества биоактивной двойной эмульсии, фортифицированной БАВ (фукоиданом и берберином).

В работе применены современные методы моделирования и прогнозирования свойств: квантово-химические расчеты DFT, молекулярный докинг, ADME-профилирование; оценка биоактивности *in vitro*; оценка биодоступности по протоколу INFOGEST.

На четвертом этапе выполнен подбор и фортификация пищевых систем (кисломолочных продуктов) биоактивными двойными эмульсиями с последующей оценкой качества и сохраняемости. Разработаны технологии фортификации кисломолочных пищевых систем (йогурт и мягкий сыр) двойными эмульсиями с инкапсулированным фукоиданом или берберином, проведена комплексная оценка качества конечного продукта и его функциональных свойств [127; 136; 155; 166; 169].

На пятом этапе выполнен расчет экономической эффективности, разработана нормативная документация и осуществлена производственная апробация полученных результатов исследования [140; 142].

2.2 Объекты и методы исследования

Объектами исследования на разных этапах экспериментальных работ являлись:

– биологически активные вещества;

– сырьевые компоненты для получения эмульсий и кисломолочных пищевых систем;

– опытные образцы БДЭ, содержащие разные виды БАВ;

– модельные образцы кисломолочных пищевых систем.

При формировании выборки БАВ учитывались их доказанные антиоксидантные, иммуномодулирующие, антибактериальные и метаболически значимые свойства. С учетом обозначенных критериев объектами БАВ для получения БДЭ выбраны:

– фукоидан – сульфатированный гетерополисахарид бурых водорослей (производитель Health Way, Китай);

– берберин – растительный изохинолиновый алкалоид (производитель ООО «АФ ФАРМ», Россия).

Основные характеристики отобранных БАВ для инкапсуляции представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Описание характеристик отобранных БАВ для инкапсуляции в биоактивные двойные эмульсии

Параметр	Фукоидан	Берберин
Производитель, поставщик	Health Way, Китай	ООО «АФ ФАРМ», Россия
Химическая природа	Сульфатированный гетерополисахарид бурых водорослей (*Fucus vesiculosus*)	Изохинолиновый алкалоид растительного происхождения
Молекулярная формула, молекулярная масса	Полисахарид; *Mw* > 300 кДа (исходная)	$C_{20}H_{18}NO_4^+$; 336,37 г/моль
Основное качественное требование	Не менее 45 % фукоидана; DS ≈ (0,45 ± 0,05)	Чистота не менее 98 % (ВЭЖХ)
Характер растворимости	Гидрофильный; хорошо растворим в воде	Амфифильный; умеренно растворим в воде и этаноле
Нормативный документ	Сертификат производителя, CAS 9072-19-9	Сертификат производителя, CAS 2086-83-1
Роль в системе $W_1/O/W_2$	Инкапсулируется в водную фазу W_1	Локализуется на интерфейсе W_1/O (амфифильный)

Подбор основных компонентов липидной фракции был дополнительно исследован при получении двойной эмульсии на основе подсолнечного и льняного масел, которые использовались в качестве триглицеридной цепи при инкапсуляции молекул БАВ. В ходе ранее проведенных комплексных исследований было установлено, что данные БАВ коррелируют с функциональной группой липидного состава, что обеспечивает совместимость с используемым в качестве липидной фракции подсолнечным маслом и его жирнокислотной фракцией. В дальнейших исследованиях в качестве липидной фракции использовали подсолнечное масло, которое с учетом рыночной доступности в основном применяется в технологиях пищевых систем.

Таким образом, в технологии двойных эмульсий применяли основное и вспомогательное сырье: масло подсолнечное нерафинированное (ФГБНУ «Челябинский научно-исследовательский институт сельского хозяйства»), вода дистиллированная (по ГОСТ 6709-2019), эмульгатор пищевой PGPR (Е476) (производитель АО «Русхимсеть», Россия), Tween 80 (производитель ЕС, Бельгия).

В технологиях кисломолочных пищевых систем использовали: молоко коровье пастеризованное нормализованное (по ГОСТ 31450-2013); закваска DVS мезофильная *Lactococcus lactis* (Chr. Hansen RA 2, Франция); фермент сычужный (ренин-пепсин) (Россия); закваска DVS термофильная *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* (Италия); хлорид кальция (Servicebio, Китай); соль поваренная пищевая (Россия) [1; 2; 3; 25; 137; 159].

Кодовые обозначения опытных образцов представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Кодовые обозначения опытных образцов

Код образца	Полное наименование	Тип эмульгатора	Примечание
Биологически активные вещества (БАВ)			
Ф	Фукоидан	–	–
Б	Берберин	–	–
Эмульсионные системы (БДЭ)			
БДЭ-Ф	Эмульсия фукоидана, PGPR	PGPR (Е476)	BBD-оптимум
БДЭ-Б	Эмульсия берберина, PGPR	PGPR (Е476)	BBD-оптимум
ДЭ контроль	Бланк эмульсии (без БАВ)	PGPR	Контроль DE
Фортифицированный йогурт			
К1	Контроль (йогурт без БДЭ)	–	Контроль
БДЭФ3	Йогурт + БДЭ-Ф, 3 % об.	PGPR	–
БДЭФ5	Йогурт + БДЭ-Ф, 5 % об.	PGPR	Лучший образец
БДЭБ3	Йогурт + БДЭ-Б, 3 % об.	PGPR	–
БДЭБ5	Йогурт + БДЭ-Б, 5 % об.	PGPR	Лучший берберин
Фортифицированный мягкий сыр			
К2	Контроль (сыр без БДЭ)	–	Контроль
БДЭФ	Сыр + БДЭ-Ф, 5 % об.	PGPR	Лучший образец
БДЭБ	Сыр + БДЭ-Б, 5 % об.	PGPR	–
БДЭ	Сыр + бланк БДЭ	PGPR	Контроль матрицы

Методы исследования. В работе использованы стандартные общепринятые и специальные методы анализа для определения химического состава, физико-химических, микробиологических показателей качества и свойств исследуемых объектов [26; 28; 46]. Номенклатура показателей качества представлена в таблице 12.

Таблица 12 – Номенклатура показателей качества для оценки объектов исследований

Группа показателей	Наименование показателей и коды	Нормативная документация на методы
Органолептический метод	1.1. Внешний вид. 1.2. Вкус и запах. 1.3. Цвет. 1.4. Консистенция	ГОСТ ISO 13299-2015
Физико-химические методы	2.1. Размер частиц, нм	ISO 22412:2017
	2.2. Вязкость, сП	ГРСИ РФ 26689-08
	2.3. Стабильность эмульсии (гравитационная), %	ГОСТ 31762-2012
	2.4. Активная кислотность, ед. pH	ГОСТ 3624-92
	2.5. Титруемая кислотность, °Т	
	2.6. Массовая доля влаги, %	ГОСТ 3626-73
	2.7. Массовая доля белка, %	ГОСТ 34454-2018
	2.8. Перекисное число, мэкв/кг	ГОСТ 26593-85
	2.9. Синерезис, %	Внутренняя МВИ
	2.10. Содержание экзополисахаридов (ЭПС), мг/л	Патент РФ № 2437092
	2.11. ИК-спектроскопический анализ (FTIR)	Руководство по эксплуатации и калибровки
	2.12. Методы микроскопии	Внутренняя МВИ
Методы оценки биоактивности	3.1. Суммарное содержание фенольных соединений (*TPC*), мкг ГАЭ/мл	[164]
	3.2. Эффективность инкапсуляции (*EE*), %	[110]
	3.3. Общая антиоксидантная активность (АОА), %	[74]
Оценка *in vitro* биодоступности по протоколу INFOGEST	4.1. *TPC* по стадиям пищеварения (*RR*), %	[75; 143]

Продолжение таблицы 12

Группа показателей	Наименование показателей и коды	Нормативная документация на методы
Микробиологические методы	5.1. Молочнокислые бактерии, log КОЕ/г	ГОСТ 33951-2016
	5.2. КМАФАнМ, log КОЕ/г	ГОСТ 10444.15-94
	5.3. Патогенные микроорганизмы, log КОЕ/г	ТР ТС 033/2013
	5.4. Плесени и дрожжи, log КОЕ/г	ГОСТ 10444.12-2013
	5.5. Определение токсичности	ГОСТ 31674-2012
Методы *in silico*	7.1. Квантово-химические расчеты (DFT) (электронная структура, дескрипторы и т. д.)	[66; 126; 149]
	7.2. Молекулярный докинг	[144]
	7.3. ADME-профилирование	[65; 81]
Планирование эксперимента и статистическая обработка данных	8.1. BBD-планирование эксперимента и RSM-оптимизация	[73]
	8.2. Статистическая обработка	Руководство по статистике производителя

Распределение определяемых показателей по объектам исследования приведено в таблице 13.

Таблица 13 – Распределение показателей исследования в отношении объектов

Объекты исследования	Индекс определяемых показателей
Биологически активные вещества	2.1, 3.1, 3.3, 7.1, 7.2, 8.2
Сырьевые компоненты для получения эмульсий и кисломолочных пищевых систем	1.1–1.4, 2.5, 2.8, 2.12, 3.1, 3.3, 5.1
Опытные образцы БДЭ, содержащие разные виды БАВ	2.1, 2.3, 2.8, 2.12, 3.1, 3.2, 3.3, 4.1, 5.5, 7.1, 7.3, 8.1, 8.2
Модельные образцы кисломолочных пищевых систем	1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.9, 2.10, 2.11, 3.1, 3.2, 3.3, 4.1, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 7.1, 7.3, 8.1, 8.2

Органолептические показатели оценивали по ГОСТ ISO 13299-2015, ГОСТ 31981-2013, ГОСТ 32263-2013 [8; 9; 84].

Размер частиц (*PS*, нм) и индекс полидисперсности (*PDI*) определяли методом динамического рассеяния света (DLS) с использованием анализатора размера частиц серии Microtrac S3500 (Microtrac MRB). Принцип работы прибора: измерение интенсивности флуктуаций рассеянного лазерного излучения (длина волны 780 нм) в зависимости от времени, из которых вычисляется коэффициент диффузии и с применением уравнения Стокса – Эйнштейна гидродинамический диаметр частиц.

Вязкость определяли с использованием анализатора вязкости AND SV-10 в соответствии с требованиями нормативной документации.

Стабильность эмульсии (гравитационную) оценивали по объему неразрушенной эмульсии после отстаивания, результат выражали в процентах от исходного объема пробы.

Титруемую кислотность определяли при помощи титриметрического метода. Активную кислотность исследовали при помощи ручного pH-метра Testo 206 pH2 Set.

Массовую долю влаги оценивали методом высушивания навески при постоянной температуре.

Массовую долю белка определяли методом Кьельдаля.

Перекисное число оценивали по реакции перекисей с йодистым калием с последующим титрованием выделившегося йода раствором тиосульфата натрия.

Синерезис (выделение жидкости) оценивали по внутренней методике выполнения измерений (МВИ).

Содержание экзополисахаридов (ЭПС) определяли по методике, описанной в патенте РФ № 2437092 [83; 160].

ИК-спектроскопический анализ (FTIR) проводили согласно руководству по эксплуатации и калибровке используемого прибора IRTracer-100 Shimadzu.

Методы микроскопии включали два способа приготовления препаратов: «раздавленная капля» и фиксированный мазок с окраской по Граму.

Суммарное содержание фенольных соединений (*TPC*, total phenolic content) определяли методом Фолина – Чокальтеу. Принцип: реакция фенольных соедине-

ний с реагентом Фолина – Чокальтеу в щелочной среде с образованием хромофорного комплекса синего цвета. Реакционную смесь инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте до стабилизации окраски. Интенсивность поглощения измеряли спектрофотометрически на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 760 нм. Калибровочный график строили по стандарту галловой кислоты (ГАЭ) в линейном диапазоне от 50 до 400 мкг ГАЭ/мл [164].

Эффективность инкапсуляции (*EE*, %) – показатель, который отражает, насколько успешно БАВ было заключено в защитную оболочку (капсулу) в процессе инкапсуляции [89; 110].

Общую антиоксидантную активность (АОА) определяли методом DPPH-ингибирования (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил). Принцип: радикал DPPH имеет устойчивое неспаренное электронное состояние и характерное поглощение при $\lambda = 515$ нм. Антиоксиданты, присутствующие в образце, донируют водород DPPH, обесцвечивая раствор [74; 107; 156; 171].

Оценку *in vitro* биодоступности БАВ осуществляли по стандартизированному протоколу INFOGEST. Процедура протокола включает три последовательные стадии: оральная (SSF), желудочная (SGF), кишечная (SIF) [75; 143]. Биодоступность собой количественную характеристику, отражающую долю БАВ, способную достичь системного кровотока в метаболически доступной форме и реализовать целевой биологический эффект.

Также оценивали степень восстановления (*RR*, %) – долю биологически активных веществ из исходного исследуемого образца, которая по итогам *in vitro* пищеварения перешла в потенциально биодоступную фракцию [161].

Микробиологические исследования включали определение наличия различных групп микроорганизмов (молочнокислых бактерий, плесневых грибов и дрожжей, КМАФАнМ, патогенных микроорганизмов) с применением стандартизированных методик [2; 109].

Биотестирование на *Paramecium caudatum* осуществляли для определения токсикологической безопасности (выживаемость за 24 ч в присутствии образца по сравнению с контролем). Критерием нетоксичности выступала выживаемость на

уровне не менее 90 %. Пороговую концентрацию исследуемого вещества определяли как максимальную концентрацию, не вызывающую гибели не менее 10 % инфузорий в течение 24 ч.

Квантово-химические расчеты (DFT) выполняли с использованием программных пакетов ORCA (версия 5.0.3) и Gaussian 09. Уровень теории: функционал обмена-корреляции B3LYP; базисный набор 6-31G(d). Критерий сходимости: отсутствие мнимых частот при расчете частот нормальных колебаний.

Молекулярный докинг осуществляли с использованием программного обеспечения AutoDock 4.2. Визуализацию проводили в Discovery Studio Visualizer 4.5 [106].

ADME-профилирование проводили с использованием онлайн-сервисов SwissADME и ProTox-II [65; 81].

BBD-планирование эксперимента и RSM-оптимизация. Планирование экспериментов и оптимизацию параметров НУЗВ-процесса проводили методом поверхности отклика (RSM) с использованием плана Box–Behnken design (BBD) в программе Design-Expert 13.0 [73].

Все экспериментальные данные представлены как $M \pm SD$ (среднее ± стандартное отклонение); число повторностей $n = 3$ для каждого образца. Статистическую обработку проводили с использованием программного пакета GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США) и Design-Expert 13.0. Для сравнения групп применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA).

3 Экспериментальное обоснование сырьевой базы для технологии биоактивных двойных эмульсий

Рынок пищевых систем сфокусирован на потребительской персонализации с соблюдением ключевых критериев свойств, таких как высокая концентрация пользы и прозрачность составов, а также направленное профилактирующее действие в отношении рисков НИЗ. Основными решениями для предотвращения нутриентных дефицитов, укрепления иммунитета и управления физиологическими процессами (например, уровнем энергии или микробиомом) являются устойчивые форматы таргетных систем доставки биоактивных компонентов в составе пищевых матриц. Аналитические данные, представленные в первой главе работы, позволили определить перспективность применения эмульсионной таргетной платформы для обеспечения эффективной доставки БАВ в составе пищевых систем, что определило основной трек последующих исследований.

В качестве рабочей задачи определена оценка применимости двойных эмульсий в качестве эффективной таргетной платформы доставки природных БАВ в составе пищевых матриц для обеспечения первичной профилактики метаболических рисков, провоцирующих НИЗ.

В совокупной выборке БАВ направленного профилактирующего действия в отношении НИЗ определены природные вещества с доказанными метаболически значимыми свойствами: фукоидан – сульфатированный гетерополисахарид бурых водорослей, и берберин – растительный изохинолиновый алкалоид.

Для формирования доказательной базы в рамках решаемой задачи осуществляли *in silico* скрининг БАВ на активность, прогноз синергетических комбинаций функциональности БАВ и их применимости в составе матрицы молочных продуктов с использованием методов квантовой химии (DFT), молекулярного докинга и ADME-профилирования.

3.1 Прогностические исследования свойств биоактивных природных соединений в матрице молочной пищевой системы

Прогностические исследования комплексообразования БАВ (фукоидана и берберина) с заданным набором компонентов молочной матрицы дают возможность сопоставить их физико-химические свойства и поведение в идентичных условиях, обосновать выбор обоих веществ для эмульсионных молочных систем.

Применение DFT-расчетов и молекулярного докинга на стадии разработки технологии позволяет до начала экспериментальных работ оценить термодинамическую вероятность связывания БАВ с белковыми, кислотными и жирнокислотными компонентами пищевой матрицы, выявить потенциальные риски потери биоактивности при контакте с молочной основой и определить рациональную локализацию каждого вещества в эмульсионной структуре. Для анализа отобраны модельные соединения, отражающие ключевые составляющие целевой молочной/сырной матрицы и масляной фазы эмульсионной системы:

– масляная кислота и диацетил – летучие соединения, формирующие сырный аромат;

– молочная кислота – модель кислой среды ферментированных молочных продуктов;

– казеинкиназа 1 – фермент, контролирующий фосфорилирование к-казеина и стабильность казеиновых мицелл;

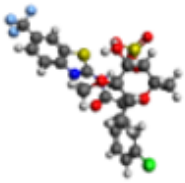
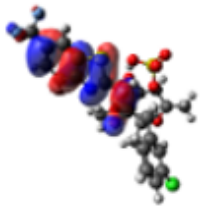
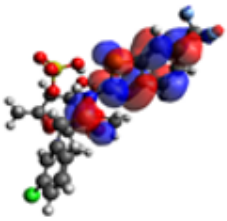
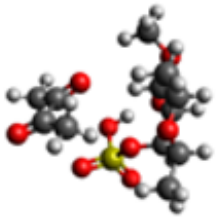
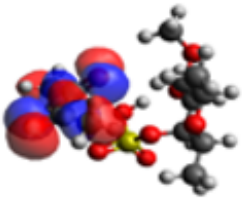
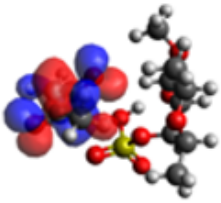
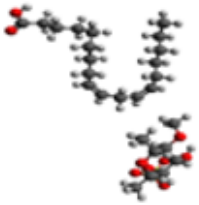
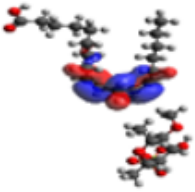
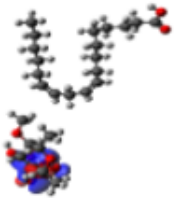
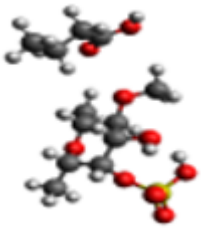
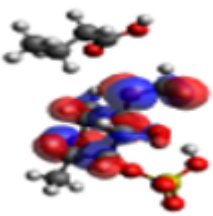
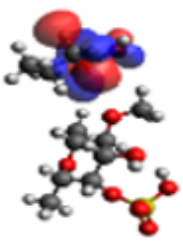
– линолевая кислота – основная ненасыщенная жирная кислота подсолнечного масла, входящего в масляную фазу (О) двойной эмульсии.

Для исследования БАВ с использованием молекулярного докинга определены мишени для предсказания сродства и оценки стабильности путем расчета свободной энергии связывания с последующим *in silico* профилированием.

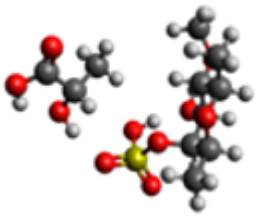
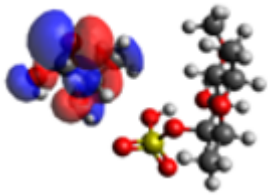
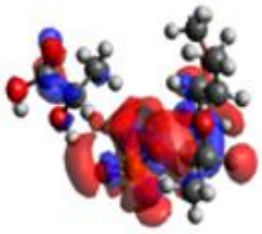
3.1.1 Результаты оценки биоактивного комплекса фукоидана методом DFT

DFT-расчеты в программном пакете ORCA 5.0.3 для молекулы гетерополисахарида фукоидана (структура: связанные остатки фукозы $C_6H_{12}O_5$, *Mw* = 180 кДа) проводились для тетрасахаридного фрагмента с двумя сульфатными группами и выполнены на уровне теории B3LYP/6-31G(d) (таблица 14), в процессе верификации подтверждено отсутствие мнимых частот в спектре нормальных колебаний.

Таблица 14 – Результаты оценки молекулярных взаимодействий фукоидана с компонентами молочной матрицы

Химическая структура	HOMO-орбиталь	LUMO-орбиталь
Фукоидан – казеинкиназа 1		
		
Фукоидан – диацетил		
		
Фукоидан – линолевая кислота		
		
Фукоидан – масляная кислота		
		

Продолжение таблицы 14

Химическая структура	HOMO-орбиталь	LUMO-орбиталь
Фукоидан – молочная кислота		
		

Ключевые молекулярные дескрипторы фукоидана приведены в таблице 15.

Таблица 15 – DFT-дескрипторы комплексов фукоидана с компонентами молочной и сырной матриц (B3LYP/6-31G(d), ORCA 5.0.3)

Комплекс	Полная электронная энергия* ΔG, E_h	Разрыв HOMO–LUMO, эВ	Дипольный момент μ, Д	Механизм взаимодействия	Технологическое значение
Фукоидан – масляная кислота	−1 545,819	+6,020	8,00	Электростатическое $SO_3^-\cdots H{-}N$; водородная связь	Инкапсуляция аромата сыра; влияние на летучие C_4
Фукоидан – казеинкиназа 1	−3 195,881	+5,055	–	Электростатика $SO_3^-\cdots$Lys/Arg; ингибирование АТР-кармана	Снижение фосфорилирования казеинов → снижение синерезиса ($p < 0{,}05$)
Фукоидан – диацетил	−1 544,632	+5,180	7,22	C−H···O водородные связи; дипольный перенос заряда	Стабилизация диацетильного аромата; снижение летучести
Фукоидан – молочная кислота	−1 581,749	+4,710	6,45	Многодентатное Н-связывание; зарядовое взаимодействие $OSO_3^-\cdots$OH	Интеграция в кислую среду йогурта; pH-буферный эффект
Фукоидан – линолевая кислота	−2 093,413	+5,330	5,80	Гидрофобные контакты C−H···O; ван-дер-ваальс	Укрепление границы O/W₂; улучшение коллоидной стабильности
Примечание – * Все $\Delta G < 0$ – термодинамически самопроизвольное комплексообразование.					

Разрыв между HOMO- и LUMO-орбиталями составил от 4,71 до +6,02 эВ в различных конформерах, что характеризует фукоидан как химически стабильную

молекулу с умеренной реакционной способностью. Дипольный момент μ, равный 5,80–8,00 Д, указывает на высокую полярность за счет SO_3^-- и OH-групп, определяет полиэлектролитный характер молекулы. По карте ESP максимальные отрицательные потенциалы локализованы на атомах кислорода сульфатных групп – центры электростатического взаимодействия с катионными остатками белков молочной матрицы.

Результаты DFT-оценки комплексов фукоидана с компонентами молочной и сырной матриц указывают на образование пяти термодинамически самопроизвольных комплексов фукоидана с компонентами молочной матрицы (во всех случаях $\Delta G < 0$). Расчеты показывают, что фукоидан благодаря богатому набору сульфатных (−OSO_3H), карбоксильных (−COOH) и гидроксильных (−OH) функциональных групп обладает высоким потенциалом нековалентного связывания с компонентами молочной матрицы.

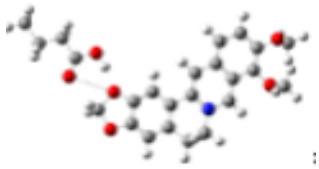
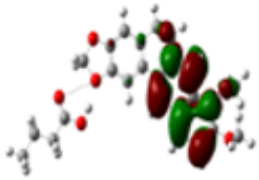
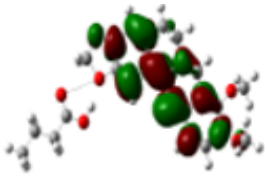
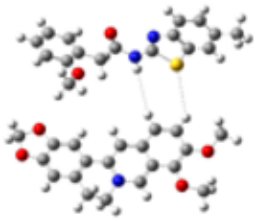
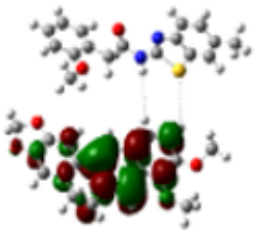
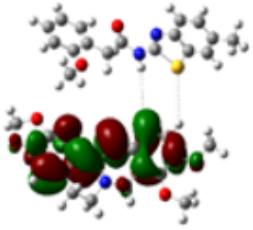
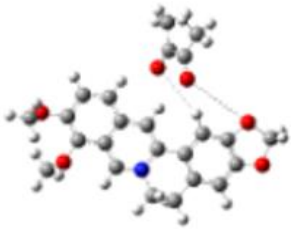
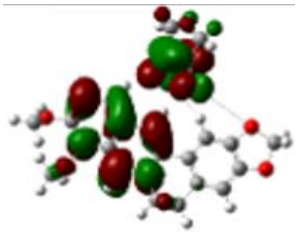
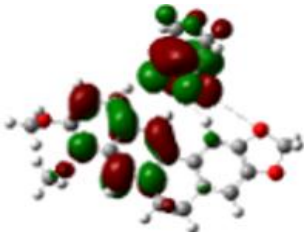
Анализ данных свидетельствует о том, что наибольшая суммарная энергия Гиббса характерна для комплекса фукоидан – казеинкиназа 1 (ΔG = −3195,881 E_h), что обусловлено большим числом межмолекулярных контактов при участии сульфатных групп полисахарида и основных аминокислотных остатков (Lys, Arg) в активном центре фермента. Фукоидан подавляет казеинкиназу 1, из-за чего к-казеин фосфорилируется слабее, казеиновые мицеллы хуже удерживают ионы Ca^{2+}, а синерезис в итоге идет медленнее. Для комплекса фукоидана с масляной кислотой отмечен самый большой разрыв HOMO–LUMO (+6,02 эВ), что указывает на его кинетическую устойчивость и меньшую склонность к реакционному распаду. Наибольший дипольный момент, равный μ = 8,00 Д, говорит о неравномерном распределении электронной плотности и о полярном характере взаимодействия с казеиновой матрицей. При этом у комплекса фукоидана с молочной кислотой зафиксирован минимальный разрыв HOMO–LUMO (+4,71 эВ), что свидетельствует о более высокой реакционной способности системы и выраженном протон-акцепторном взаимодействии карбоксильной группы с сульфатными группами фукоидана.

Высокая химическая активность фукоидана обусловливает необходимость формирования межфазового барьера (например, эмульсии) для контролируемой доставки фукоидана в составе молочной матрицы до нужного участка ЖКТ, а также при технологической обработке и хранении.

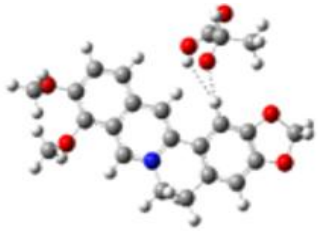
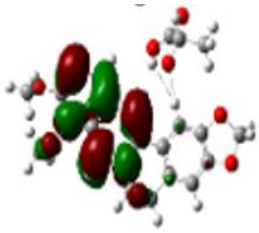
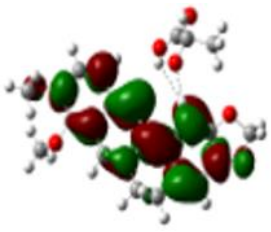
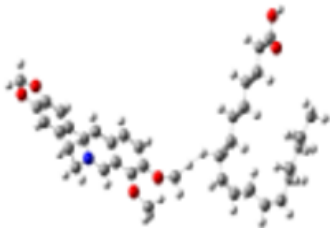
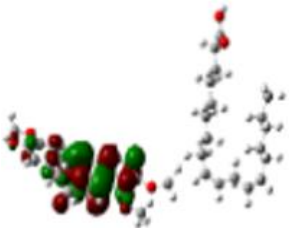
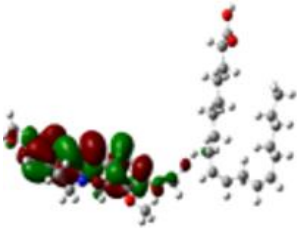
3.1.2 Результаты оценки биоактивного комплекса берберина методом DFT

Результаты молекулярного взаимодействия алкалоида берберина ($C_{20}H_{18}NO_4^+$; молекулярная масса 336,37 г/моль) с компонентами молочной матрицы представлены в таблице 16. Прогностические исследования выполнены на основе DFT-расчетов на уровне B3LYP/6-31G(d) в среде ORCA 5.0.3.

Таблица 16 – Результаты молекулярного взаимодействия берберина с компонентами молочной матрицы

Химическая структура	HOMO-орбиталь	LUMO-орбиталь
Берберин – масляная кислота		
		
Берберин – казеинкиназа 1		
		
Берберин – диацетил		
		

Продолжение таблицы 16

Химическая структура	HOMO-орбиталь	LUMO-орбиталь
Берберин – молочная кислота		
		
Берберин – линолевая кислота		
		

В таблице 17 отражены молекулярные дескрипторы берберина.

Таблица 17 – Результаты оценки DFT-дескрипторов для берберина и его комплексов с компонентами молочной матрицы

Комплекс	HOMO, эВ	LUMO, эВ	Разрыв HOMO–LUMO, эВ	Дипольный момент μ, Д	Электронная энергия, E_h	Механизм взаимодействия
Берберин (свободный)	−6,42	−0,26	9,16	1,31	−1 115,47	–
Берберин – масляная кислота	–	–	4,09 ↓	2,78	–	Ион-парный комплекс $N^+\cdots COO^-$; перенос H^+
Берберин – молочная кислота	–	–	4,94 ↓	3,39	–	Многодентатное Н-связывание $-OCH_3\cdots HO-$; $C-H\cdots O=C$; интеграция в кислую среду
Берберин – диацетил	–	–	9,06	3,04	–	Перенос заряда; C–H···OH-связи; стабилизация аромата
Берберин – казеинкиназа 1	–	–	3,40 ↓	3,23	–	Электростатика $N^+\cdots$Cys; π-стэкинг; ингибирование активного центра
Берберин – линолевая кислота	–	–	9,04	3,03	–	Гидрофобная ассоциация; слабая поляризация; ингибирование *P*-гликопротеина

HOMO – 6,42 эВ; LUMO – 0,26 эВ; разрыв между ними находится на уровне 9,16 эВ; дипольный момент составляет 1,31 Д; энергия равна –1 115,47 E_h. Широкий разрыв (9,16 эВ) свободной молекулы свидетельствует об устойчивости; сужение разрыва в комплексах (до 3,40–4,94 эВ) указывает на перенос заряда при взаимодействии с компонентами матрицы.

ESP-карта демонстрирует катионный N-центр хинолизиниевого ядра – максимальный положительный потенциал (синий цвет, +0,04 а. е.); метокси- и бензодиоксолольный фрагменты обусловливают область гидрофобных контактов с липидной фазой матрицы. Оценка взаимодействия биоактивного комплекса берберина с компонентами молочной матрицы показывает по свободному берберину разрыв 9,16 эВ и снижение для трех комплексов (обозначено стрелкой вниз), что свидетельствует об усилении взаимодействия.

Следовательно, при образовании комплексов с казеинкиназой 1 разрыв HOMO–LUMO заметно сокращается до значения 3,40 эВ, т. е. на 5,76 эВ ниже исходного уровня. Для комплекса с масляной кислотой это значение составляет 4,09 эВ, а значит, падение достигает 5,07 эВ. Такое уменьшение разрыва HOMO–LUMO свидетельствует, что электронная структура берберина становится более реакционноспособной, он легче вступает в химические реакции. Наиболее выраженные изменения электронной структуры видны у комплекса берберина с казеинкиназой 1, возможно, за счет участия в π-стэкинге ароматического звена берберина с остатками фенилаланина и гистидина, а активный центр казеинкиназы 1 дополнительно стабилизирует систему за счет сети водородных связей с лизином. Комплекс с молочной кислотой имеет разрыв 4,94 эВ, формирует водородные взаимодействия, которые помогают удерживать берберин в кислой среде, характерной для кисломолочных матриц (например, йогурта при pH 4,0–4,5).

Комплексы берберина с линолевой кислотой и диацетилом не изменяют разрыв HOMO–LUMO (различие на уровне 0,10–0,12 эВ), доминируют слабые физические взаимодействия, прежде всего силы Ван-дер-Ваальса. Гидрофобное взаимодействие берберина с жирными кислотами C18:2 позволяет применить в качестве таргетной системы липидную фракцию эмульсий для создания двухфазной си-

стемы инкапсуляции. Кроме того, *in silico* анализ показывает, что связь берберина с линолевой кислотой может косвенно указывать на способность подавлять эфлюкс, связанный с *P*-гликопротеином (возврат берберина в кишечные просветы), который во многом объясняет низкую пероральную биодоступность берберина.

Сравнительный анализ результатов DFT-анализа фукоидана и берберина позволяет сформировать молекулярное обоснование использования данных природных компонентов в качестве биоактивного сырьевого ресурса для технологии эмульсионных носителей в составе матриц молочной пищевой системы для адресного высвобождения в ЖКТ.

3.1.3 Оценка функциональной значимости БАВ методами докинг-молекулярного моделирования и сетевой фармакологии

Для расширения массива аналитических данных, подтверждающих функциональную значимость выбранных БАВ для первичной профилактики НИЗ, молекулярно смоделировано их взаимодействие с конкретными белковыми мишенями, связанными с патогенезом заболеваний. Исследование дополнено сетевым фармакологическим анализом, что позволяет оценить, насколько полно покрывается спектр мишеней, а ADME-профилирование раскрывает фармакокинетическое поведение БАВ. Молекулярный докинг проводили в AutoDock 4.2 по стандартному протоколу, описанному во второй главе диссертации.

Для фукоидана определены мишени, связанные с его системным транспортом, а также противовоспалительным и противоопухолевым потенциалом в ЖКТ; для берберина – мишени метаболического и противовоспалительного профиля, что формирует основу для возможного сопоставления результатов по общей белковой мишени противовоспалительного действия. В части профилактики НИЗ для фукоидана (таблица 18) выбрали три значимые белковые мишени: сывороточный аль-

бумин (ALB) – основной транспортный белок плазмы крови; BCL2 – антиапоптотический белок, ассоциированный с канцерогенезом ЖКТ; STAT3 – транскрипционный фактор, который играет важную роль в воспалительных заболеваниях кишечника.

Таблица 18 – Результаты докинг-молекулярного моделирования взаимодействия фукоидана с белками-мишенями

Мишень	Код в Protein Data Bank	Энергия связывания Δ*G*, ккал/моль*	Аминокислоты активного центра	Тип взаимодействия	Биологическое значение
Альбумин (ALB)	1AO6	−6,8	Lys195, Arg218, Phe211, Tyr138	Н-связи; электростатическое $SO_3^-\cdots Lys^+$	Связывание с сайтом II; влияние на системный транспорт полисахаридов
BCL2	6QGG	−6,5	Arg105, Tyr108, Phe101, Gly104	Н-связи; π-стэкинг с Tyr108	Взаимодействие с доменом BH3; проапоптотический потенциал (воспалительные заболевания кишечника, колоректальный рак)
STAT3	6NJS	−7,2	Arg609, Ser613, Lys591, Glu638	Н-связи (4 центра); электростатическое	Ингибирование SH2-домена; противовоспалительный механизм
Примечание – *Δ*G* < −6 ккал/моль – сильное связывание. Наибольшее сродство – к STAT3 (Δ*G* = −7,2 ккал/моль).					

Анализ данных показал, что сульфатированный гетерополисахарид фукоидан может прочно связываться с ALB, BCL2 и STAT3, образуя с ними нековалентные комплексы.

Наиболее выраженное взаимодействие наблюдается со STAT3: значение Δ*G* составляет −7,2 ккал/моль, что, вероятно, связано с четырьмя водородными связями, которые возникают между сульфатными группами фукоидана и остатками Arg609, Ser613, Lys591 и Glu638 в SH2-домене STAT3.

Результаты моделирования подтверждают противовоспалительное действие фукоидана, особенно в контексте сигнального пути IL-6/JAK/STAT3. Для BCL2 энергия связывания Δ*G* = −6,5 ккал/моль. Кроме того, полученный результат дока-

зывает способность фукоидана оказывать проапоптотическое действие в отношении злокачественных новообразований (в частности, колоректального рака). Связывание с сывороточным альбумином ($\Delta G = -6{,}8$ ккал/моль) свидетельствует о возможности системного транспорта фукоидана в кровотоке после всасывания в ЖКТ.

Результаты 3D-визуализации докинга фукоидана с белками на примере 1AO6 представлены на рисунке 7.

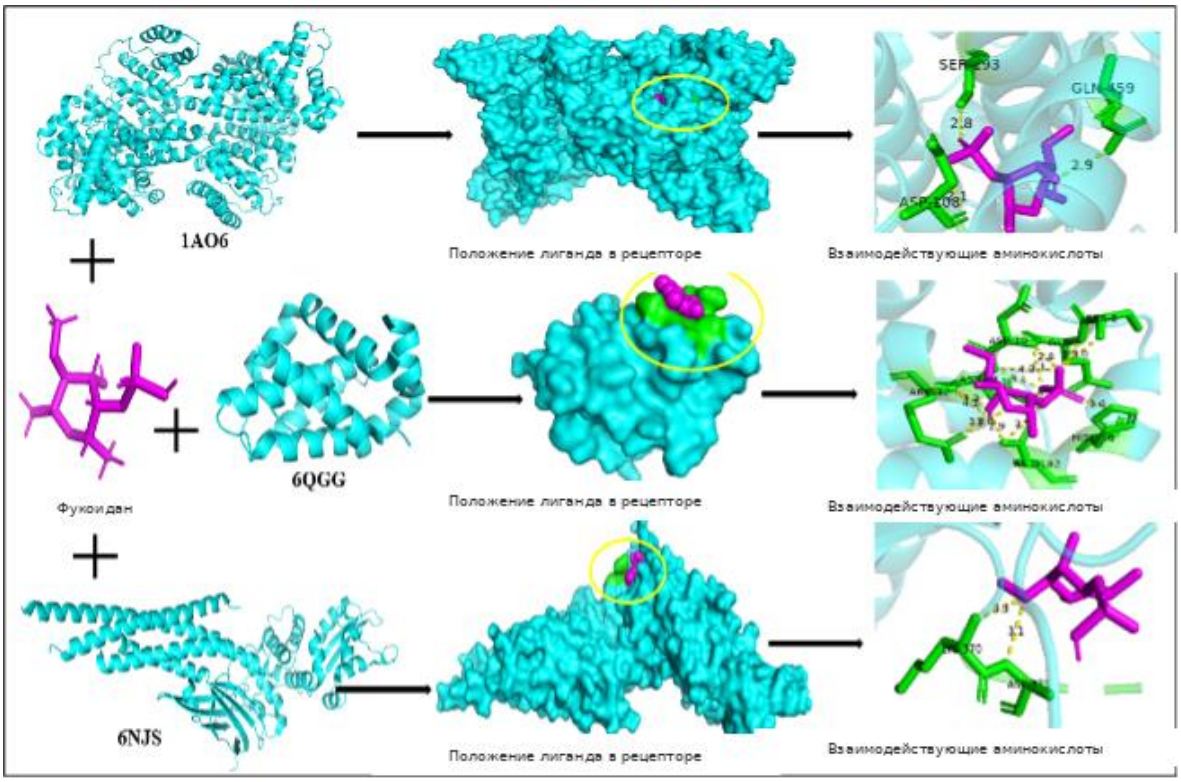


Рисунок 7 – 3D-визуализация докинг результатов взаимодействия фукоидана с белками 1AO6

Отрицательные значения энергий связывания по всем трем мишеням доказывают возможность реализации профилактических эффектов при условии обеспечения адекватной биодоступности – задача, которая может быть решена посредством инкапсуляции в эмульсионные системы.

Для комплексного анализа молекулярных мишеней применялась методология сетевой фармакологии. Анализ сети взаимодействий был выполнен с использованием баз данных SwissTargetPrediction и GeneCards (приложение Г). Установ-

лено, что фукоидан из *Fucus vesiculosus* потенциально взаимодействует с 86 верифицированными мишенями, из которых 43 связаны с патогенезом воспалительных заболеваний кишечника, что дополнительно обосновывает целесообразность его применения в составе функциональных молочных продуктов профилактической направленности. Таким образом, для фукоидана биодоступность не является ограничивающим фактором ввиду его преимущественно локального действия в просвете ЖКТ.

Реализация фармакологического потенциала алкалоида берберина напрямую зависит от его фармакокинетических характеристик. Поэтому прежде, чем переходить к результатам докинг-моделирования берберина с белковыми мишенями, провели оценку его ADME-профиля, определяющую необходимость технологического решения проблемы биодоступности. ADME-профилирование берберина (всасывание, распределение, метаболизм, выведение), выполненное с помощью платформ SwissADME и ProTox-II, показало следующие фармакокинетические параметры для свободной формы: площадь полярной поверхности TPSA = 40,8 Å²; молекулярная масса 335,8 Да; коэффициент липофильности log*P* = 1,45.

Будучи субстратом *P*-гликопротеина, берберин имеет низкую пероральную биодоступность (менее 5 %), несмотря на соответствие TPSA-критериям правила Липинского, – из-за *P-gp*-опосредованного выведения в просвет кишечника. Прогнозируется, что инкапсуляция берберина в липидную фазу БДЭ позволит в составе молочно-липидной матрицы повысить его биодоступность в 3–10 раз.

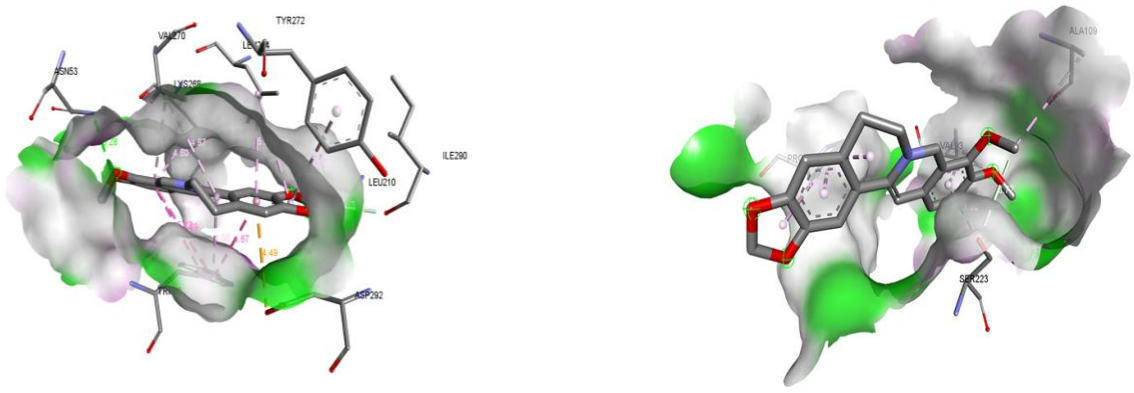
Результаты докинг-молекулярного моделирования берберина с мишенями AKT1 и STAT3 представлены в таблице 19.

Анализ данных показывает сильное связывание берберина с киназой AKT1: так, значение $\Delta G = -9{,}8$ ккал/моль, при этом $K_i = 68{,}2$ нМ (рисунок 8), что объясняется тем, что молекула образует водородные связи с Lys179 и Asp292, а также π-катионное взаимодействие с Glu228.

Таблица 19 – Результаты докинг-молекулярного моделирования берберина с мишенями AKT1 и STAT3

Параметры анализа	AKT1 (код в Protein Data Bank – 6HHG)	STAT3 (код в Protein Data Bank – 1BG1)
Энергия связывания ΔG, ккал/моль*	−9,8	−7,3
Ингибирующая константа K_i, нМ**	68,2	4 210
Ключевые аминокислоты	Lys179, Asp292, Phe161, Glu228	Arg609, Ser613, Lys591, Glu638
Тип взаимодействий	Две Н-связи: Lys179, Asp292; π-стэкинг хинолизинового ядра с Phe161	Три Н-связи: Arg609, Ser613, Lys591; электростатическое взаимодействие с Glu638
Локализация лиганда	АТР-связывающий карман (каталитическая субъединица)	SH2-домен связывания фосфотирозина
Число ван-дер-ваальсовых контактов (менее 3,5 Å)	18	12
Биологическое значение	Ингибирование PI3K/AKT/mTOR; антидиабетический, гиполипидемический, кардиопрофилактический эффект	Ингибирование пути JAK/STAT3; противовоспалительный, онкопрофилактический эффект (воспалительные заболевания кишечника, колоректальный рак)

Примечания
* $\Delta G < -9$ ккал/моль (AKT1) – очень высокое сродство.
** Чем ниже K_i, тем сильнее ингибирование.



а *б*

Рисунок 8 – 3D-визуализация молекулярного докинга берберина с белками: *а* – AKT1; *б* – STAT3

Наблюдается выраженный фармакологический эффект подавления рисков на фоне метаболических нарушений. Отключение сигнального пути

PI3K/AKT1/mTOR особенно важно для снижения риска колоректального рака, время сродства к STAT3 составляет $\Delta G = -7{,}3$ ккал/моль, что подтверждает противовоспалительный потенциал берберина при патологиях ЖКТ.

Сетевая фармакологическая оценка берберина выявила 559 потенциальных GI-мишеней, связанных с воспалительными заболеваниями кишечника и колоректальным раком. GO-анализ показал обогащение процессов клеточной пролиферации, воспалительного ответа и апоптоза (приложение Г).

На основе прогностического анализа по совокупности результатов молекулярного докинга, сетевой фармакологии и ADME-профилирования сформировано целостное обоснование биологической значимости выборки БАВ для последующих исследований в рамках диссертационной работы.

Кроме того, установлена биологическая совместимость БАВ по совокупности данных DFT-анализа, молекулярного моделирования процессов комплексообразования с компонентами молочной матрицы, что формирует фундамент для последующей разработки технологии получения биоактивной эмульсионной системы для целевой доставки на основе НУЗВ-технологий, оптимизированных с использованием BBD-планирования.

3.2 Разработка технологии биоактивной двойной эмульсии для фортификации в пищевые системы

Таргетные системы, применимые для целевой доставки БАВ, описаны в пункте 1.2.3 диссертационной работы. Выделены эмульсионные системы как наиболее перспективные для доставки БАВ с доказанной функциональностью (см. пункты 3.1.1–3.1.3). Спрогнозировано, что инкапсулированные в эмульсионные системы гидрофильный сульфатированный гетерополисахарид фукоидан и амфифильный алкалоид берберин способны сохранять заявленные свойства биоак-

тивности и одновременно являться биодоступными для размещения в составе матрицы пищевого продукта.

Прогностически показано, что за счет двухстадийной НУЗВ-технологии получения двойной эмульсии типа $W_1/O/W_2$ будет реализована защита фукоидана от преждевременного высвобождения в молочной матрице, а также ингибирование *P*-гликопротеина (выкачивания молекулы берберина в просвет кишечника).

В рамках решения задачи разработки BBD-оптимизированной технологии получения БДЭ типа $W_1/O/W_2$ сформулирована оригинальная гипотеза о возможности технологического применения НУЗВ с целью эффективного использования биопотенциала фукоидана и берберина в молочных пищевых системах.

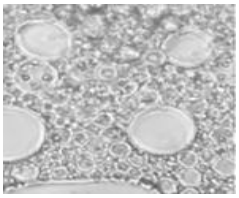
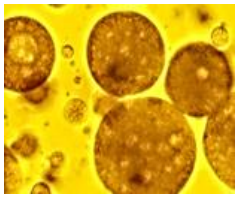
3.2.1 Состав эмульсионной системы и технологические решения для обеспечения стабильности

С целью обоснования выбора базовой технологии эмульсификации для системы доставки БАВ проведен сравнительный анализ данных открытых научных источников о следующих видах эмульсий: наноэмульсии O/W, эмульсии Пикеринга и двойной эмульсии $W_1/O/W_2$ (таблица 20).

В совокупности оценочных критериев определены наиболее значимые для эффективности инкапсуляции БАВ с целью фортификации в молочные пищевые системы. Установлено, что двойная эмульсия типа $W_1/O/W_2$ обеспечивает пространственную обособленность биоактивных веществ различной природы и создает устойчивые барьеры, сохраняющие свойства БАВ в молочной матрице.

Сопоставление трех типов эмульсионных систем выполнено по семи критериям, включая визуальную оценку микроструктуры при увеличении ×1350.

Таблица 20 – Технологическая оценка эмульсий для инкапсуляции БАВ [67; 95; 97; 113; 118; 142; 145; 177]

Критерий оценки	O/W и W/O	Эмульсия Пикеринга	$W_1/O/W_2$
Микроструктура эмульсии (увеличение ×1350)			
Инкапсуляция гидрофильного БАВ (фукоидан, W_1)	–	–+	±+
Инкапсуляция амфифильного БАВ (берберин, W_1/O)	++	++	++
Совместная инкапсуляция БАВ разной полярности	–	–	+
Двойной барьер защиты от ферментов ЖКТ	–	+	++
Контролируемое высвобождение в ЖКТ	±	±	++
Совместимость с молочной матрицей	+	++	++
Примечание – Обозначения эффекта: «–» нет; «+» да; «±» незначительно; «++» эффективно).			

Микроскопия показала, что простые эмульсии O/W (W/O) формируют однородную моноядерную дисперсию без внутренних включений; эмульсии Пикеринга – капли с плотной оболочкой из адсорбированных твердых частиц; система $W_1/O/W_2$ – характерные многоядерные капли с визуально различимыми внутренними водными включениями W_1, что подтверждает факт формирования второго, внутреннего межфазного интерфейса.

Подбор компонентов для липидной фазы и стабилизирующих эмульгаторов (см. пункт 1.2.3) является базой для создания устойчивой БДЭ в качестве фортификата БАВ в молочную пищевую матрицу. Рецептура состава представлена в таблице 21. Практическая ценность разработанной системы доставки в полной мере раскрывается лишь при ее интеграции в реальные пищевые матрицы и подтверждении функционального действия фортифицированных БДЭ пищевых систем, что планируется реализовать в последующих этапах работ.

Таблица 21 – Рецептурный состав биоактивных двойных эмульсий типа $W_1/O/W_2$

Компонент	Полное наименование	Фаза	Концентрация	Функция/ аббревиатура
PGPR (E476)	Полиглицерин полирицинолеат	O (масляная)	2,5 % от массы O	Гидрофобный эмульгатор W_1/O (*HLB* 1,5–3)
Tween 80	Полисорбат 80	W_2 (внешняя)	1,0 % от массы W_2	Гидрофильный эмульгатор O/W_2 (*HLB* 15)
Масло подсолнечное	Подсолнечное масло рафинированное (C18:2 не менее 63 %)	O (масляная)	60 % фазы W_1/O	Непрерывная масляная фаза; носитель берберина
NaCl	Хлорид натрия	W_1 (внутренняя)	1,0 % от массы W_1	Осмотический агент; стабилизация фазы W_1
БАВ фукоидан	Сульфатированный гетерополисахарид (Health Way)	W_1 (внутренняя)	10 % от массы W_1/O	БАВ ДЭ/БДЭФ
БАВ берберин	Изохинолиновый алкалоид (ООО «АФ ФАРМ»)	O (масляная)	5 % от массы W_1/O	БАВ ДЭ/БДЭБ

Важным этапом в разработке методологии технологии БДЭ является выявление наиболее благоприятных технологических решений для эффективного внедрения в реальный сектор экономики.

На основании данных DFT-анализа, молекулярного докинга, сетевой фармакологии и ADME-профилирования БАВ разработана двухстадийная НУЗВ-технология (рисунок 9), которая базируется на последовательном двухстадийном НУЗВ, которое дуально обеспечивает кавитационное диспергирование с минимальной деградацией термолабильных биоактивных компонентов.

Соотношение фаз (W_1:O для первичной эмульсии составляет 40:60 по массе, W_1/O:W_2 для двойной эмульсии – 50:50 по массе) выбрали по результатам предварительных опытов. Такой состав позволяет установить баланс между объемом внутренней фазы, а значит, емкостью для гидрофильного БАВ и устойчивостью системы к коалесценции.

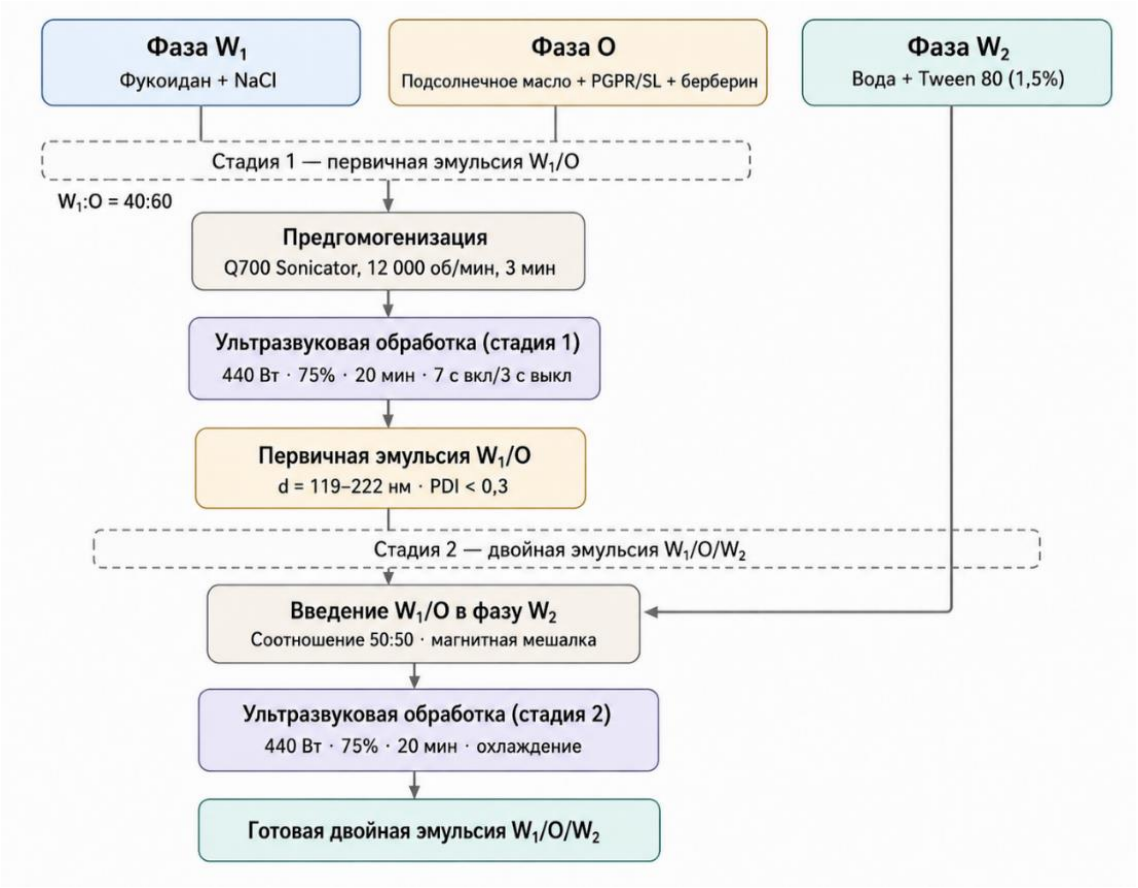


Рисунок 9 – Двухстадийная схема получения БДЭ $W_1/O/W_2$
(стадия 1 – Q700 Sonicator; стадия 2 – НУЗВ в режиме 22 кГц; 440 Вт; не выше 50 °C)

Двухстадийное применение НУЗВ необходимо для соблюдения требований к показателю дисперсности первичной (W_1/O) и двойной ($W_1/O/W_2$) эмульсий.

На первой стадии применяют более высокую интенсивность ультразвукового воздействия для получения мелкодисперсной первичной эмульсии с размером капель W_1 менее 1 мкм, что критично для последующего удержания водной фазы внутри масляных капель двойной эмульсии.

На второй стадии интенсивность снижают, чтобы предотвратить деструкцию уже сформированного распределения капель W_1/O при их диспергировании во внешней фазе W_2.

Вместе с тем проявляются некоторые зависимости изменения двойных эмульсий: при доведении доли W_1 до уровня выше 50 % первичная эмульсия начинает хуже сохранять стабильность, эффективность инкапсуляции уменьшается; при снижении доли W_1 до уровня ниже 30 % снижается загрузка БАВ; необходимо

поддерживать температуру на уровне ниже 50 °C для сохранения биоактивных свойств БАВ.

Экспериментально подтверждено, что отклонение от установленной последовательности операций (например, исключение предварительного формирования первичной эмульсии) приводит к потере иерархической структуры системы и образованию простой эмульсии O/W вместо двойной $W_1/O/W_2$. Критически важный параметр – температурный режим: введение ультразвукового воздействия при температуре выше 50–55 °C обусловливает деградацию берберина и деструкцию полисахаридной цепи фукоидана, что подтверждено снижением *TPC* и АОА.

3.2.2 Оптимизация технологии получения биоактивных двойных эмульсий методом Box–Behnken design

Для системной оптимизации параметров ультразвукового эмульгирования первой стадии (W_1/O) применяли трехфакторный план Box–Behnken design (BBD) в программной среде Design-Expert® версии 13.0 (см. главу 2). Метод BBD позволяет системно варьировать ключевые технологические переменные с учетом их взаимного влияния. По результатам предварительного скрининга однофакторных зависимостей в качестве независимых переменных выбраны три параметра НУЗВ (технические параметры 440 Вт; 22 кГц; амплитуда 75 %):

– X_1 – температура обрабатываемой смеси T (25; 31 и 37 °C);

– X_2 – интенсивность ультразвука I (50; 62 и 74 Вт/см²);

– X_3 – продолжительность обработки t (24; 36 и 42 мин).

Полный план включал 17 опытов с тройным воспроизведением центральной точки для оценки чистой ошибки эксперимента.

BBD-оптимизирование НУЗВ-технологии для фукоидана в составе БДЭ. Цель оптимизации: определение рациональных параметров второй стадии формирования двойной эмульсии $W_1/O/W_2$, обеспечивающих минимальный размер ча-

стиц и перекисное число при максимальных значениях антиоксидантной активности, гравитационной стабильности и эффективности инкапсуляции фукоидана.

Кавитационные эффекты НУЗВ обеспечивают деполимеризацию фукоидана до биоактивных фрагментов с сохранением сульфатных групп, ответственных за иммуномодулирующий эффект. Для оптимизации технологических параметров применен двухфакторный план Box–Behnken design (BBD) в среде Design-Expert® 13.0. В качестве основы использовали предварительно оптимизированную первичную эмульсию W_1/O. При формировании двойной эмульсии варьировали два фактора: концентрацию гидрофильного эмульгатора Tween 80 во внешней водной фазе W_2 и продолжительность второй стадии ультразвукового эмульгирования. Амплитуду ультразвукового воздействия поддерживали постоянной. В опубликованном исследовании концентрация Tween 80 варьировалась в диапазоне 0–2,5 %, время обработки 10–20 мин. Факторы эксперимента и уровни матрицы трехфакторного BBD-эксперимента для биоактивной двойной эмульсии с фукоиданом (БДЭ-Ф) представлены в таблице 22. Нижнему, центральному и верхнему уровням соответствуют значения −1, 0 и +1.

Таблица 22 – Матрица метода трехфакторной BBD-оптимизации

Фактор эксперимента	Условное обозначение	−1 (нижний)	0 (центр)	+1 (верхний)
Концентрация Tween 80, г	*A*	0	1,25	2,50
Время УЗ-обработки, мин	*B*	10	15	20

Откликами служили пять параметров:

– R1 – средний гидродинамический диаметр капель (*PS*, нм);

– R2 – антиоксидантная активность по DPPH (AOA, %);

– R3 – гравитационная стабильность (*GS*, %);

– R4 – перекисное число масляной фазы (*PV*, мэкв/кг);

– R5 – эффективность инкапсуляции фукоидана (*EE*, %).

Направления оптимизации: минимизация R1 и R4; максимизация R2, R3 и R5. Экспериментальная матрица статьи включала 17 опытов.

Полученные регрессионные зависимости для пяти откликов описываются следующими уравнениями в кодированных факторах:

$Y_1 = 586{,}75 - 102{,}375A - 40{,}625B$;

$Y_2 = 89{,}5872 - 4{,}680A + 3{,}50283B - 2{,}3625AB + 10{,}5804A^2 + 0{,}612895B^2$;

$Y_3 = 49{,}970 + 22{,}378A - 55{,}873B + 8{,}222AB - 5{,}50355A^2 - 16{,}2536B^2$;

$Y_4 = 0{,}73756 - 0{,}410A - 1{,}47377B - 0{,}155AB + 0{,}261276A^2 - 0{,}376974B^2$;

$Y_5 = 90{,}0183 - 1{,}835A - 1{,}67349B - 0{,}0075AB - 0{,}301184A^2 + 0{,}221316B^2$,

где Y_1 – размер частиц, нм; Y_2 – антиоксидантная активность, %; Y_3 – гравитационная стабильность, %; Y_4 – перекисное число, мэкв/кг; Y_5 – эффективность инкапсуляции, %; A и B – кодированные значения концентрации Tween 80 и продолжительности второй стадии УЗ-обработки соответственно.

Уравнения получены из регрессионных моделей, представленных для БДЭ-Ф в исходном исследовании.

Для размера частиц зависимость описывалась линейной моделью. Отрицательные коэффициенты при обоих факторах свидетельствуют о том, что увеличение концентрации Tween 80 и продолжительности ультразвуковой обработки приводило к снижению среднего диаметра капель. В исследованном факторном пространстве размер частиц изменялся от 810 до 521 нм.

Для остальных откликов применялись полиномиальные модели второго порядка, учитывающие линейные, квадратичные эффекты и взаимодействие факторов.

Коэффициенты детерминации R^2 моделей составили: 0,9870 для R1; 0,9425 для R2; 0,9423 для R3; 0,8882 для R4; 0,9911 для R5. Наиболее высокая степень соответствия экспериментальным данным установлена для моделей эффективности инкапсуляции и размера частиц.

Коэффициенты детерминации BBD-моделей для пяти откликов БДЭ-Ф представлены в таблице 23, контурные графики с отмеченной точкой оптимума приведены на рисунке 10.

Таблица 23 – Коэффициенты детерминации BBD-моделей для пяти откликов для БДЭ-Ф

Отклик	R^2	Направление оптимизации
Размер частиц *PS*, нм	0,9870	min
Антиоксидантная активность (AOA), %	0,9425	max
Гравитационная стабильность *GS*, %	0,9423	max
Перекисное число *PV*, мэкв/кг	0,8882	min
Эффективность инкапсуляции *EE*, %	0,9911	max

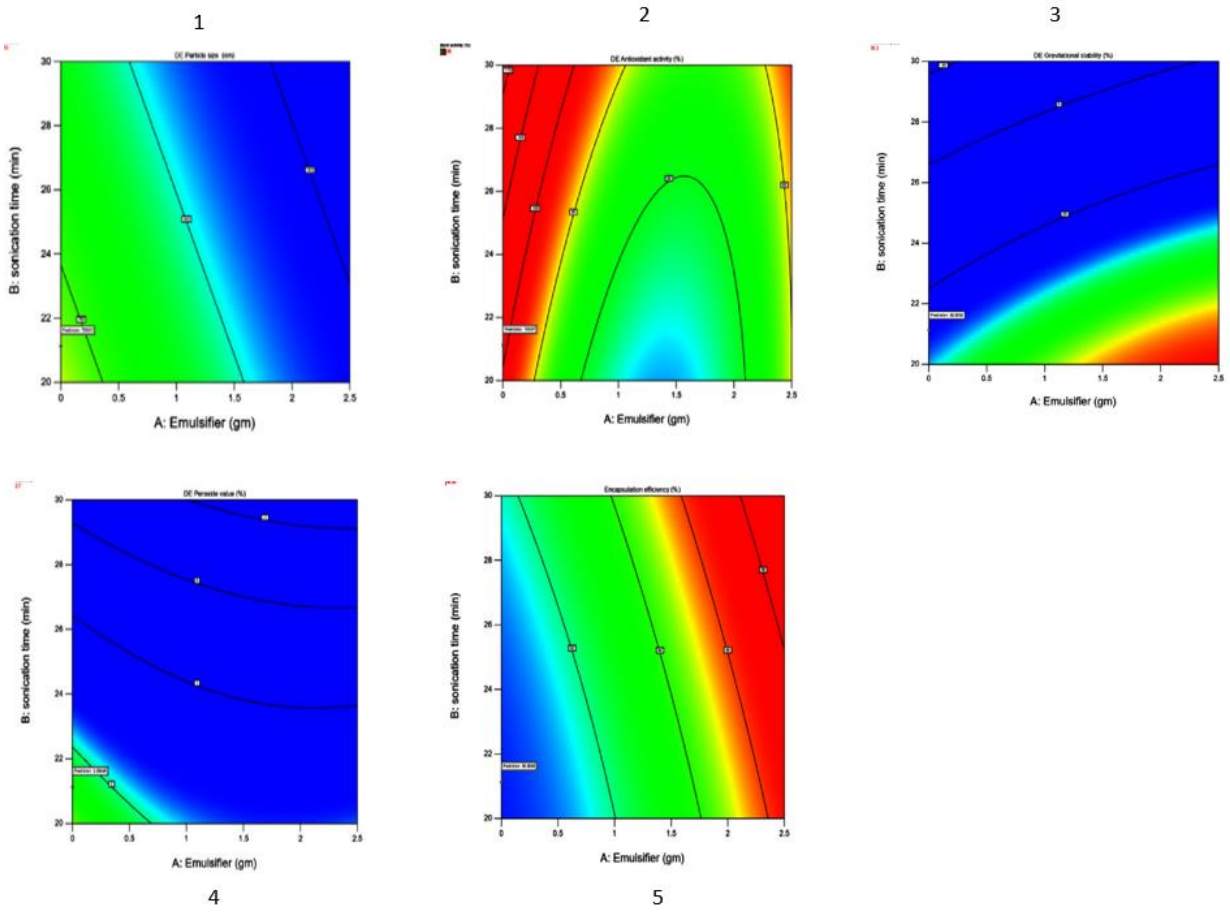


Рисунок 10 – Двухмерные контурные графики для пяти откликов BBD-оптимизации БДЭ-Ф ($W_1/O/W_2$): *1* – размер частиц, нм; *2* – AOA (DPPH), %; *3* – гравитационная стабильность, %; *4* – перекисное число, мэкв/кг; *5* – эффективность инкапсуляции, %

Поверхности отклика BBD-моделей (рисунок 11) сформированы с учетом комплексных оценок: размер частиц и эффективность инкапсуляции зависят от концентрации Tween 80 (*A*) и времени эмульгирования (*B*); оптимальные параметры достигаются при *A* = 1,2 г и *B* = 15 мин: минимальный диаметр капель 729 нм, максимальная AOA 91,1 % при эффективности инкапсуляции 90,66 %.

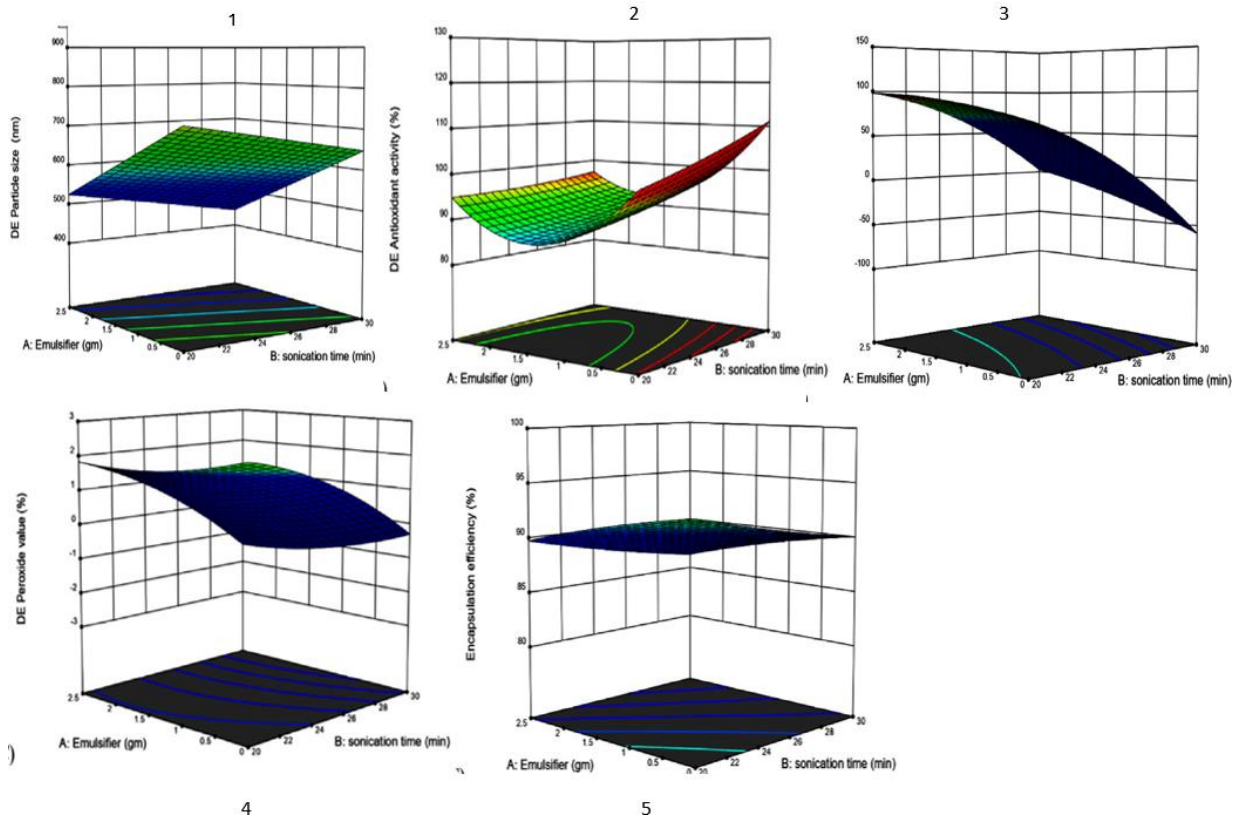


Рисунок 11 – Поверхности отклика для пяти откликов BBD-оптимизации БДЭ-Ф:
1 – размер частиц, нм; *2* – АОА (DPPH), %; *3* – гравитационная стабильность, %;
4 – перекисное число, мэкв/кг; *5* – эффективность инкапсуляции, %

Определено, что при снижении концентрации Tween 80 (менее 0,9 г) снижаются АОА и эффективность инкапсуляции до 82–84 %, а гравитационная стабильность падает до 78–80 %; в то же время избыток Tween 80 (более 1,4 г) вызывает обратный мицеллярный перенос фукоидана, что приводит к незначительному укрупнению капель и снижению целостности W_1-ядра.

Гравитационная стабильность при оптимальных параметрах составляет 84,42 %, снижаясь при условии отклонения от оптимума. Перекисное число минимально (1,1 мэкв/кг) при A = 1,2 г и B = 15 мин, возрастает как при избытке, так и при недостатке Tween 80. На протяжении всего исследованного диапазона перекисное число не превышало 1,46 мэкв/кг.

BBD-оптимизирование НУЗВ-технологий для алкалоида берберина в составе БДЭ. Цель оптимизации – минимизация влияния факторов НУЗВ на стабильность масляной фазы и эффективность инкапсуляции берберина. Следуя той же методологии, для оптимизации технологических параметров применен двухфактор-

ный план BBD в среде Design-Expert® 13.0. Выбраны факторы, отражающие специфику липофильного БАВ: количество эмульгатора PGPR и время второй стадии НУЗВ.

По результатам предварительного скрининга в качестве независимых переменных выбраны: фактор *A* – количество эмульгатора PGPR (E476) во внешней масляной фазе (*A*: 1,5–2,5 г на 50 г масла) и фактор *B* – продолжительность ультразвукового эмульгирования на второй стадии (*B*: 10–20 мин; 440 Вт, 22 кГц, амплитуда 75 %). Центральные точки (*A* = 2,0 г, *B* = 15 мин) воспроизведены трижды для оценки ошибки воспроизводимости (таблица 24).

Таблица 24 – Матрица метода двухфакторной BBD-оптимизации

Фактор	Условное обозначение	−1	0 (центр)	+1
Количество PGPR, г	*A*	1,50	2,00	2,50
Время УЗ-обработки (стадия 2), мин	*B*	10	15	20

Откликами служили пять параметров: R1 – средний гидродинамический диаметр капель (*PS*, нм); R2 – антиоксидантная активность по DPPH (AOA, %); R3 – гравитационная стабильность (*GS*, %); R4 – перекисное число масляной фазы (*PV*, мэкв/кг); R5 – эффективность инкапсуляции берберина (*EE*, %).

Направления оптимизации: минимизация R1, R4; максимизация R2, R3, R5.

Для каждого из пяти откликов методом наименьших квадратов построены полиномиальные модели второго порядка, связывающие отклик с кодированными значениями факторов. Кодирование выполнено по следующим соотношениям: $a = (A - 2{,}0)/0{,}5$ и $b = (B - 15)/5$, вследствие чего нижнему, центральному и верхнему уровням соответствуют значения −1, 0 и +1. Полученные регрессионные зависимости описываются уравнениями:

$$Y_1 = 657{,}794 - 64{,}673A - 27{,}963B + 28{,}264A^2 + 6{,}537B^2 + 21{,}000AB;$$

$$Y_2 = 81{,}928 - 1{,}293A + 1{,}305B + 10{,}872A^2 + 1{,}918B^2 - 1{,}972AB;$$

$$Y_3 = 95{,}110 + 5{,}065A + 5{,}761B - 6{,}553A^2 - 11{,}504 \cdot B2 + 6{,}908AB;$$

$$Y_4 = 1{,}991 - 0{,}102A - 0{,}012B + 0{,}162A^2 - 0{,}319B^2 - 0{,}122AB;$$

$$Y_5 = 92{,}136 + 1{,}808A + 0{,}129B + 0{,}558A^2 + 0{,}218B^2 - 0{,}295AB,$$

где Y_1 – размер частиц, нм; Y_2 - антиоксидантная активность, %; Y_3 – гравитационная стабильность, %; Y_4 – перекисное число, мэкв/кг; Y_5 – эффективность инкапсуляции, %; A и B – кодированные значения количества PGPR и продолжительности УЗ-обработки соответственно.

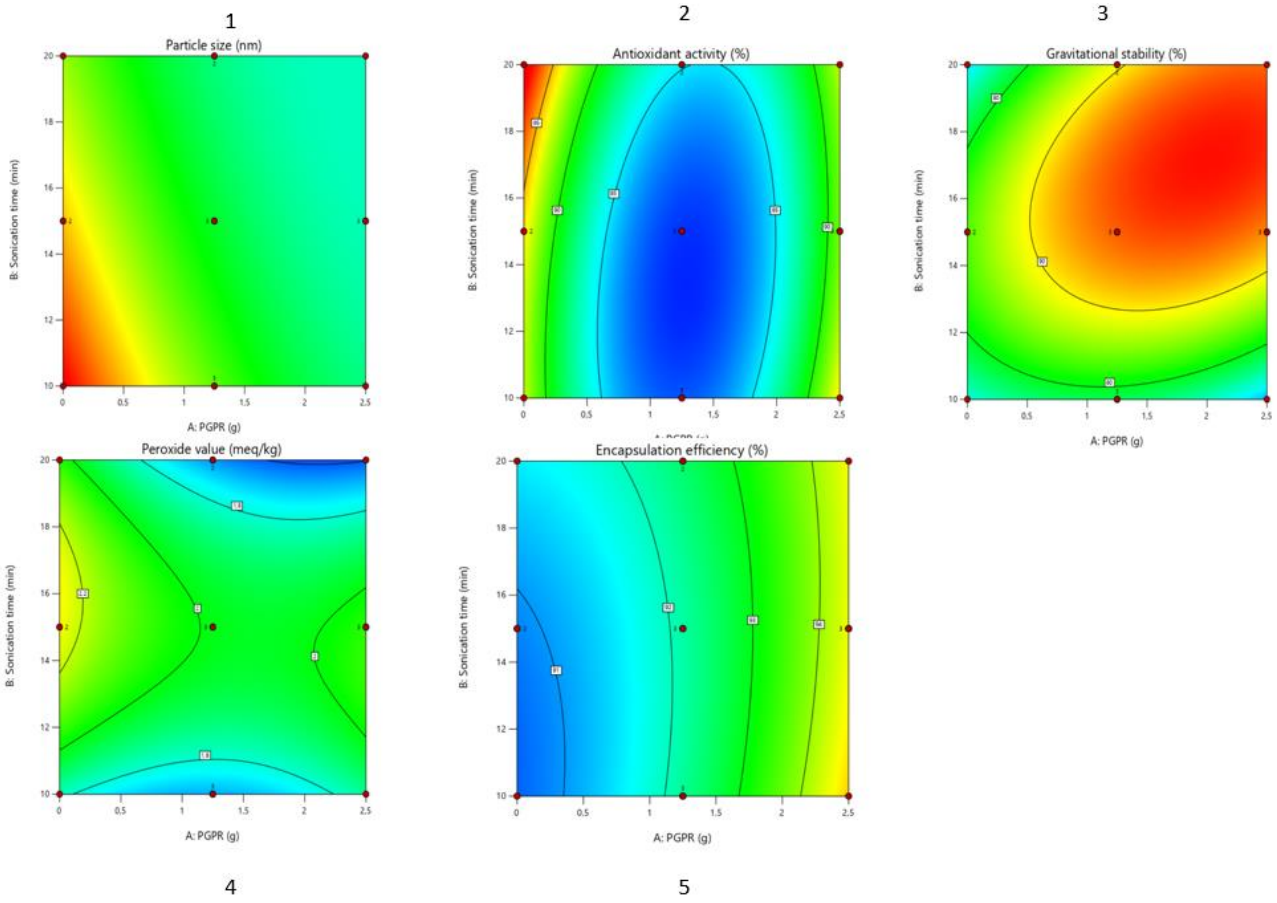
Квадратичные полиномиальные модели были построены для каждого из пяти откликов биоактивных двойных эмульсий с берберином (БДЭ-Б). Коэффициенты детерминации R^2, рассчитанные по нормальным вероятностным графикам остатков, составили: 0,5019 для R1; 0,8557 для R2; 0,6663 для R3; 0,7336 для R4; 0,7301 для R5 (таблица 25). Наибольшая адекватность – у модели антиоксидантной активности (R^2 = 0,8557), что указывает на высокую степень описания экспериментальных данных квадратичным уравнением.

Таблица 25 – Коэффициенты детерминации BBD-моделей для пяти откликов БДЭ-Б

Отклик	Обозначение	R^2	Направление оптимизации
Размер частиц, нм	R1	0,5019	min
Антиоксидантная активность, %	R2	0,8557	max
Гравитационная стабильность, %	R3	0,6663	max
Перекисное число, мэкв/кг	R4	0,7336	min
Эффективность инкапсуляции, %	R5	0,7301	max

Все пять моделей статистически значимы ($p < 0{,}05$, ANOVA) и пригодны для прогнозирования оптимума в пределах исследованного факторного пространства. Контурные карты для всех пяти откликов представлены на рисунке 12.

Размер частиц и стабильность эмульсии зависят от концентрации PGPR (A) и времени ультразвуковой обработки (B). Минимальные размеры частиц (600–620 нм) достигаются при $A \geq 2{,}2$ г и $B \geq 17$ мин. АОА и эффективность инкапсуляции демонстрируют монотонное увеличение с ростом A и B: так, при A = 1,5 г и B = 10 мин АОА ≈ 82,5 %, EE ≈ 88 %; при A = 2,5 г и B = 20 мин АОА ≈ 93 %, EE ≈ 95 %.



Примечание – Символом ★ отмечен оптимум составной желательности (*A* = 2,50 г; *B* = 20 мин; *D* = 0,7786).

Рисунок 12 – Контурные карты для пяти откликов BBD-оптимизации БДЭ-Б ($W_1/O/W_2$): *1* – размер частиц, нм; *2* – АОА, %; *3* – гравитационная стабильность, %; *4* – перекисное число, мэкв/кг; *5* – эффективность инкапсуляции, %

Высокая концентрация PGPR создает плотную межфазную пленку, препятствующую диффузии активных компонентов. Максимальная гравитационная устойчивость наблюдается при *A* = 2,5 г и составляет 97–102 % независимо от времени обработки. При такой высокой дозировке PGPR капли получаются мельче, поэтому они оседают заметно медленнее. Самое низкое значение перекисного числа – около 1,3 мэкв/кг – фиксируется при *A* = 2,5 г и *B* = 20 мин, а при *A* = 1,5 г и *B* = 10 мин оно возрастает до 1,9–2,0 мэкв/кг. В таких условиях система остается более устойчивой к процессам окисления.

Определено, что при оптимальных условиях технологии получения БДЭ-Б система имеет следующие показатели: размер частиц 620,96 нм, антиоксидантная активность 92,76 %, гравитационная стабильность 94,79 %, перекисное число

1,596 мэкв/кг и эффективность инкапсуляции 94,55 %. Трехмерные графики для пяти откликов BBD-оптимизации БДЭ-Б представлены на рисунке 13.

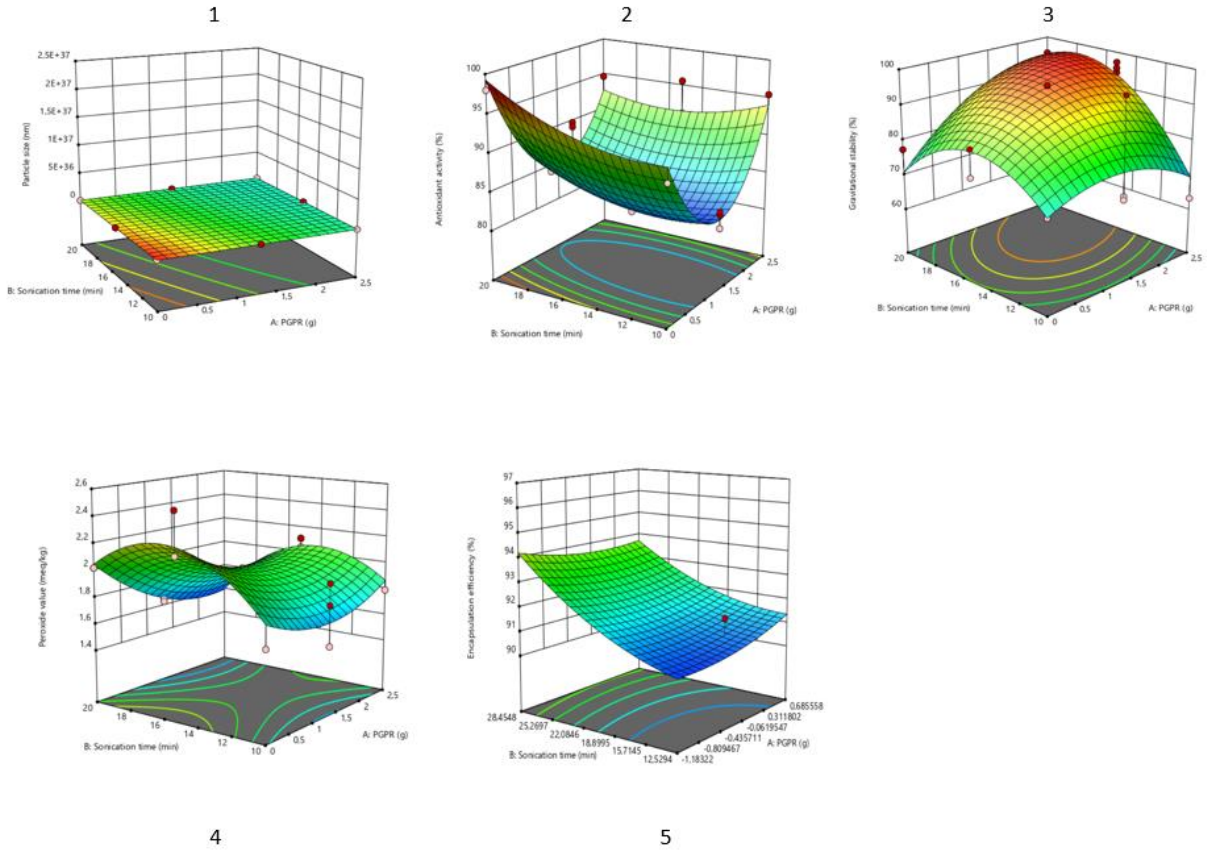


Рисунок 13 – Поверхности отклика для пяти откликов BBD-оптимизации БДЭ-Б ($W_1/O/W_2$): *1* – размер частиц, нм; *2* – АОА, %; *3* – гравитационная стабильность, %; *4* – перекисное число, мэкв/кг; *5* – эффективность инкапсуляции, %

Применение планов BBD является инструментом, который позволяет последовательно изучить влияние различных факторов и оптимизировать технологические процессы получения БДЭ, фортифицированных БАВ.

Таким образом, научно и экспериментально обоснован выбор двойной эмульсии $W_1/O/W_2$ как базовой биоактивной платформы, разработана двухстадийная методология ее получения, выполнена BBD-оптимизация для систем с фукоиданом и берберином и подтверждена воспроизводимость результатов при валидации моделей.

3.3 Оценка стабильности свойств биоактивных двойных эмульсий при хранении

Свойства БДЭ, сформированные в процессе их производства, складываются из комплекса физико-химических показателей и биоактивности, определяющих функциональную пригодность для минимизации метаболических рисков. В совокупности показателей качества высокая степень значимости отводится стабильности заявленных свойств эмульсионных систем, фортифицированных БАВ, которые обеспечивают эффекты полезности в составе пищевых систем.

Для достижения цели диссертационного исследования в перечне задач определена позиция, направленная на исследование безопасности, физико-химических и биоактивных показателей при хранении БДЭ, а также *in vitro* оценка биодоступности по протоколу INFOGEST, что определяет формирование расширенной доказательной базы функциональной применимости БДЭ.

3.3.1 Стабильность свойств при хранении оптимизированных по составу биоактивных двойных эмульсий (БДЭ-Ф и БДЭ-Б)

Оптимизированные по составу в соответствии с планами BBD модельные образцы двойных эмульсий – БДЭ-Ф (с сульфатированным гетерополисахаридом фукоиданом) и БДЭ-Б (с растительным изохинолиновым алкалоидом берберином) оценивали в процессе хранения при (4 ± 2) °С, согласно регламенту для молочных пищевых систем. Динамику изменений свойств контролировали в двух периодах: в течение 60 сут (первый период) (n = 3) для двух показателей – размер частиц, нм, и индекс полидисперсности (*PDI*); в течение 21 сут (второй период) для пяти показателей – стабильность, %; *TPC*, мкг ГАЭ/мл; *EE*, %; АОА (DPPH), %; pH. Результаты оценки физико-химических показателей и биоактивности эмульсий в течение обоих периодов хранения – на рисунках 14 и 15.

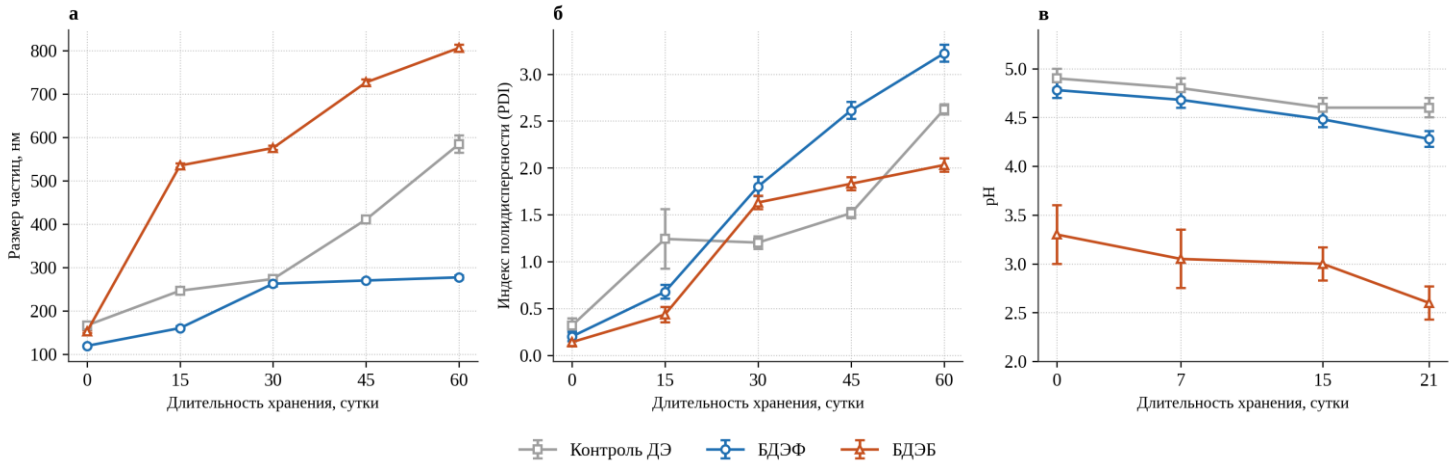


Рисунок 14 – Динамика дисперсных характеристик (*а* – размер частиц; *б* – индекс полидисперсности) и активной кислотности (*в*) эмульсий (контроль ДЭ, БДЭ-Ф, БДЭ-Б) при хранении ((4 ± 2) °С; *M* ± *SD*, *n* = 3)

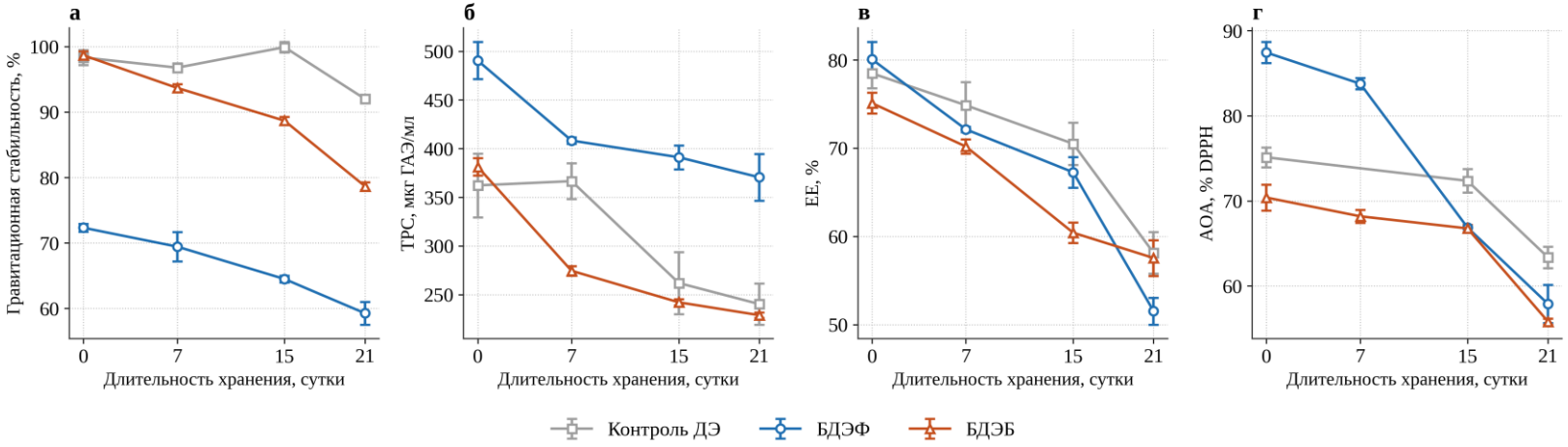
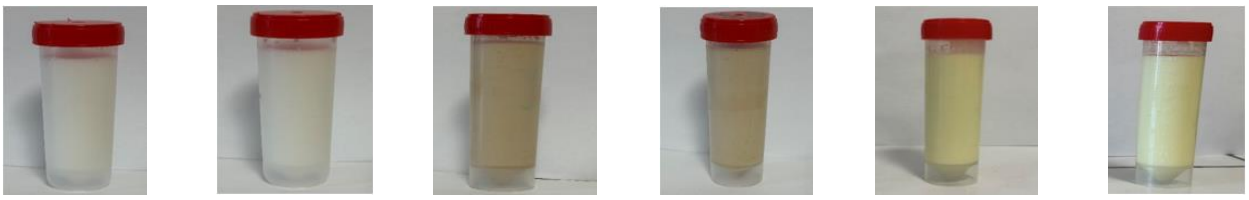


Рисунок 15 – Динамика показателей стабильности и биоактивности эмульсий (контроль ДЭ, БДЭ-Ф, БДЭ-Б) при хранении ((4 ± 2) °С, 21 сут; *M* ± *SD*, *n* = 3): *а* – гравитационная стабильность, %; *б* – суммарное содержание фенольных соединений (*TPC*), мкг ГАЭ/мл; *в* – эффективность инкапсуляции *EE*, %; *г* – антиоксидантная активность (DPPH), %

Внешний вид образцов в начале хранения и на 60-е сутки представлен на рисунке 16.



В начале хранения | На 60-е сутки | В начале хранения | На 60-е сутки | В начале хранения | На 60-е сутки

а *б* *в*

Рисунок 16 – Внешний вид образцов эмульсий в начале хранения и на 60-е сутки при (4 ± 2) °С: *а* – контрольные образцы ДЭ; *б* – БДЭ-Ф; *в* – БДЭ-Б

Контрольные образцы ДЭ. Изменения к концу хранения (на 60-е сутки) наблюдались для следующих показателей: размер частиц увеличился с (166,8 ± 1,35) до (585,03 ± 19,95) нм (почти в 3,5 раза); индекс полидисперсности вырос с (0,317 ± 0,078) до (2,624 ± 0,055), что указывает на повышение гетерогенности дисперсной системы. За 21 сут хранения гравитационная стабильность ДЭ сохранялась на высоком уровне – от (98,33 ± 1,15) % до (92,00 ± 0,50) %, тогда как суммарное содержание фенольных соединений снизилось с (362,19 ± 32,69) до (240,33 ± 21,01) мкг ГАЭ/мл (потери составили 33,6 %), эффективность инкапсуляции – с (78,48 ± 1,68) % до (58,13 ± 2,36) %, антиоксидантная активность – с (75,12 ± 1,16) % до (63,36 ± 1,25) %; активная кислотность изменялась незначительно – от (4,9 ± 0,1) до (4,6 ± 0,1) ед.

Модельные образцы БДЭ. За 60 сут хранения БДЭ-Ф размер частиц увеличился с (119,53 ± 1,10) до (277,53 ± 4,24) нм, т. е. почти в 2,3 раза (у контроля – в 3,5 раза), – наименьший прирост среди исследованных систем, что свидетельствует о стабилизирующем вкладе фукоидана в отношении дисперсности; индекс полидисперсности при этом увеличился с (0,201 ± 0,052) до (3,223 ± 0,092). За 21 сут хранения гравитационная стабильность снизилась с (72,33 ± 0,58) % до (59,27 ± 1,72) %, суммарное содержание фенольных соединений – с (490,42 ± 19,07) до (370,53 ± 24,14) мкг ГАЭ/мл (потери 24,4 %, минимальные среди систем), эффек-

тивность инкапсуляции – с (80,06 ± 1,97) % до (51,53 ± 1,52) %, антиоксидантная активность – с (87,43 ± 1,24) % до (57,89 ± 2,24) %. Снижение *EE*, возможно, связано с частичным переносом водорастворимой фракции фукоидана из внутренней водной фазы W_1 через масляный слой в наружную водную фазу W_2 под действием концентрационных и осмотических градиентов. Согласованность динамики *TPC, EE* и АОА указывает на постепенное снижение стабильности биоактивной фракции фукоидана в эмульсионной системе.

За 60 сут хранения БДЭ-Б зафиксирован наибольший среди всех систем прирост размера частиц – с (152,60 ± 3,17) до (806,67 ± 7,37) нм (почти в 5,3 раза) при увеличении индекса полидисперсности с (0,141 ± 0,045) до (2,031 ± 0,070). Вероятной причиной является амфифильная природа берберина и его локализация в масляной фазе: в форме гидрохлоридной соли он способствует коалесценции капель и оствальдовому созреванию дисперсии. За 21 сут хранения гравитационная стабильность снизилась с (98,66 ± 0,58) % до (78,67 ± 0,58) %, суммарное содержание фенольных соединений – с (381,25 ± 8,90) до (228,91 ± 2,90) мкг ГАЭ/мл (потери составили порядка 40 %, максимальные среди систем), эффективность инкапсуляции – с (75,10 ± 1,18) % до (57,55 ± 2,03) %, антиоксидантная активность – с (70,39 ± 1,53) % до (55,82 ± 0,36) %; активная кислотность снизилась с (3,30 ± 0,30) до (2,60 ± 0,17) tl.

Таким образом, сопоставление трех систем показывает, что наибольшей устойчивостью дисперсных характеристик обладала БДЭ-Ф (минимальный прирост размера частиц и умеренные потери *TPC* – 24,4 %), тогда как БДЭ-Б характеризовалась максимальным укрупнением частиц дисперсной фазы в дисперсной системе (прирост размера частиц в 5,3 раза, потери *TPC* 40 %). Полученные данные подтверждают стабилизирующий вклад фукоидана в структуру двойной эмульсии и необходимость учета пониженной агрегативной устойчивости берберинсодержащей системы при установлении рекомендуемого срока годности.

Заключительным этапом проверки возможности применения БДЭ в молочных пищевых системах стала оценка их безопасности. Для оценки применили биотестирование на стандартных тест-системах *Paramecium caudatum* с целью экспрессной оценки токсичности пищевых ингредиентов.

Результаты биотестирования свидетельствуют об отсутствии острой токсичности разработанных эмульсий: выживаемость *P. caudatum* в образцах БДЭ-Ф составила 110,7–126,5 %, что значительно превышает пороговое значение (80 % – «нетоксично»), указывает на слабый стимулирующий эффект, возможно, обусловленный пребиотическим действием фукоидана на клеточный метаболизм *P. caudatum*. Выживаемость простейших в образцах БДЭ-Б составила 110,7–121,3 %, что также соответствует категории «нетоксично». Результаты согласуются с данными ProTox-II (LD_{50} берберина выше 2000 мг/кг, класс IV), а также с исследованиями токсичности полисахаридных систем доставки.

Таким образом, разработанные БДЭ-Ф и БДЭ-Б представляют собой безопасные пищевые ингредиенты, что является необходимым условием их введения в состав молочных пищевых систем. Для оценки практического приложения разработанных пищевых ингредиентов для пищевых систем с целью расширения сегмента продуктов для первичной профилактики НИЗ необходимо исследовать свойства биодоступности инкапсулированных БАВ.

3.3.2 Оценка *in vitro* биодоступности биоактивных двойных эмульсий по протоколу INFOGEST

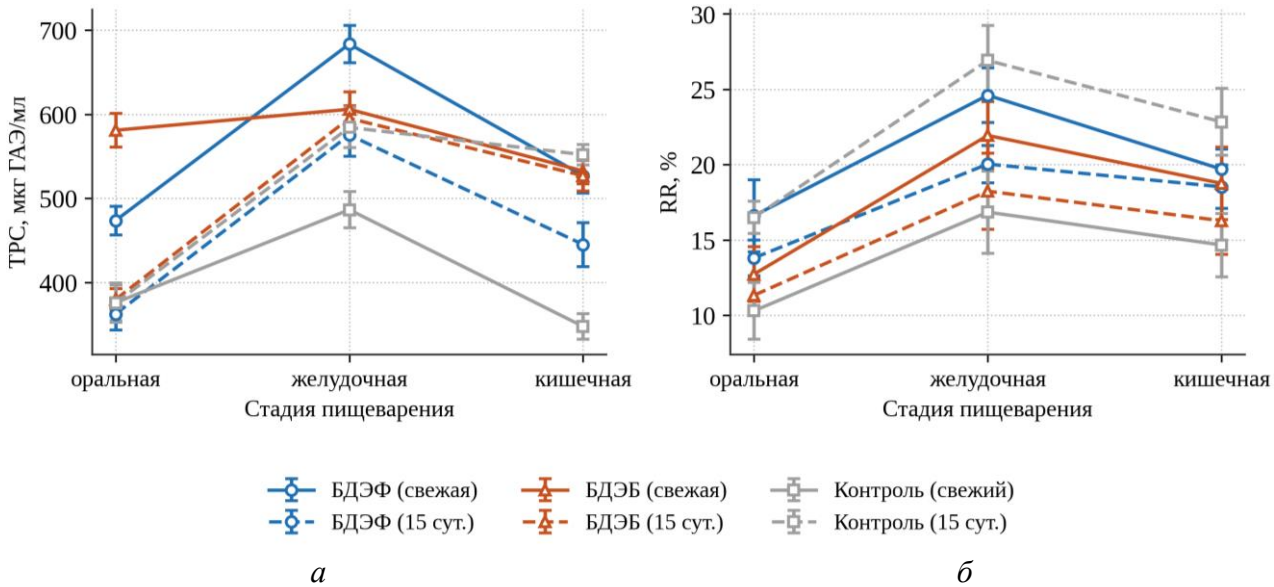
Режимы НУЗВ, выбранные и оптимизированные по плану BBD в предыдущих экспериментальных исследованиях (см. пункт 3.2.2), позволили получить модельные эмульсионные системы БДЭ-Ф и БДЭ-Б с заданными физико-химическими свойствами. Однако основной показатель, определяющий эффективность разработанной технологии, – биодоступность БАВ. Оценку фактического уровня биодоступности модельных образцов проводили с включением БДЭ-Ф и БДЭ-Б в процесс пищеварения (модель ЖКТ) с применением протокола INFOGEST. Полученные с его помощью данные позволят объективно оценить прогнозные резуль-

таты молекулярного моделирования (ADME-профиль) и оптимизации для практического приложения.

Стандартизированный статический протокол *in vitro* пищеварения INFOGEST включает три последовательные стадии, моделирующие условия ЖКТ: оральную (α-амилаза, pH 7, 37 °C, 2 мин), желудочную (пепсин 25 000 ед/мл, pH 3, 37 °C, 2 ч) и кишечную (панкреатин + желчные соли, pH 7, 37 °C, 2 ч). После каждой стадии определяли суммарное содержание фенольных соединений (*TPC*) методом Фолина – Чокальтеу [164], антиоксидантную активность по DPPH [74], а также степень восстановления биоактивных веществ (*RR*, %), рассчитываемую как отношение *TPC* после соответствующей стадии к исходному *TPC* образца, умноженное на 100 %.

Испытания проводили для свежих эмульсий (0 сут) и образцов после 15 сут хранения при (4 ± 2) °C, а также для контрольной эмульсии ДЭ; все измерения выполняли в трех повторностях (n = 3).

Результаты *in vitro* пищеварения по протоколу INFOGEST представлены на рисунке 17.



а *б*

Рисунок 17 – Результаты *in vitro* пищеварения по протоколу INFOGEST ($M \pm SD$, n = 3):
а – суммарное содержание фенольных соединений (*TPC*), мкг ГАЭ/мл;
б – степень восстановления биоактивных веществ (*RR*), %;
сплошные линии – образцы при закладке, пунктирные – после 15 сут хранения

Полученные данные показали, что инкапсулированные БАВ в системах БДЭ-Ф и БДЭ-Б усваиваются особенно эффективно. Анализ динамики *TPC* по стадиям пищеварения имеет характерный для двойных эмульсий профиль высвобождения биоактивных веществ. Для всех образцов содержание фенольных соединений возрастало при переходе от оральной стадии к желудочной, достигая на ней максимальных значений в начале хранения – (683,51 ± 22,25) мкг ГАЭ/мл для БДЭ-Ф и (605,85 ± 21,00) мкг ГАЭ/мл для БДЭ-Б. Это объясняется тем, что кислая среда желудочной фазы (pH 3) и протеолитическое действие пепсина частично разрушают внешнюю водную и масляную фазы эмульсии, высвобождая инкапсулированные соединения из внутренней фазы W_1.

На кишечной стадии наблюдалось умеренное снижение *TPC* (до (527,06 ± 21,14) и (532,47 ± 15,09) мкг ГАЭ/мл соответственно), связанное с частичной деградацией фенольных соединений в нейтральной среде (pH 7) и их взаимодействием с компонентами желчи и панкреатина.

Наиболее физиологически значимым показателем является степень восстановления биоактивных веществ на кишечной стадии, поскольку именно в тонком кишечнике происходит основное всасывание нутриентов. При закладке на хранение значение *RR* на кишечной стадии составило для БДЭ-Ф (19,69 ± 1,34) %, для БДЭ-Б (18,75 ± 2,42) %, что заметно превышает значение контрольной двойной эмульсии (14,66 ± 2,10) %.

Полученные данные свидетельствуют, что инкапсуляция фукоидана и берберина в структуре двойной эмульсии $W_1/O/W_2$ обеспечивает защиту действующих веществ при прохождении верхних отделов ЖКТ и повышает их биодоступность в кишечнике по сравнению с неинкапсулированной матрицей. Максимальные значения *RR* для всех образцов зафиксированы на желудочной стадии (до (24,60 ± 1,83) % у БДЭ-Ф), что отражает пиковое высвобождение соединений в кислой среде.

Хранение эмульсий в течение 15 сут приводило к закономерному снижению степени восстановления биоактивных веществ: на кишечной стадии *RR* уменьшалась с 19,69 % до 18,52 % для БДЭ-Ф и с 18,75 % до 16,27 % для БДЭ-Б. Данная

тенденция согласуется с установленным в пункте 3.3.1 снижением эффективности инкапсуляции и суммарного содержания фенольных соединений при хранении, что обусловлено постепенной дестабилизацией эмульсионной структуры и частичной миграцией БАВ.

Таким образом, результаты моделирования пищеварения по протоколу INFOGEST подтверждают, что разработанные биоактивные двойные эмульсии обеспечивают контролируемое высвобождение и повышенную кишечную биодоступность фукоидана и берберина. Наибольшая сохранность биоактивной фракции в процессе пищеварения зафиксирована у системы БДЭ-Ф, что в совокупности с ее высокой антиоксидантной активностью и устойчивостью дисперсной фазы обосновывает целесообразность ее применения в качестве функционального фортификата для молочных продуктов.

Заключение по главе 3

В третьей главе диссертационной работы проведено экспериментальное обоснование сырьевой базы для технологии биоактивных двойных эмульсий. В качестве рабочей задачи определена оценка применимости двойных эмульсий как эффективной таргетной платформы доставки природных БАВ в составе пищевых матриц для обеспечения первичной профилактики метаболических рисков, провоцирующих НИЗ.

Комплексное научное обоснование выбора фукоидана и берберина в качестве биоактивных компонентов двойных эмульсий типа $W_1/O/W_2$ базируется на прогностических исследованиях с использованием квантово-химических расчетов (DFT), моделирования методом молекулярного докинга, ADME-профилирования, сетевой фармакологии, а также на оптимизации технологических параметров применения НУЗВ методом Box–Behnken design и экспериментальной валидации *in vitro*.

Подбор компонентов для липидной фазы и стабилизирующих эмульгаторов использовался для создания устойчивой БДЭ для инкапсуляции БАВ с целью последующей фортификации в молочную пищевую матрицу. Обоснована практическая ценность разработанной таргетной системы доставки БДЭ, которая в полной мере применима для молочной пищевой системы.

Режимы НУЗВ, выбранные и оптимизированные по плану BBD в экспериментальных исследованиях, позволили получить модельные эмульсионные системы БДЭ-Ф и БДЭ-Б с заданными физико-химическими характеристиками. Результаты моделирования пищеварения по протоколу INFOGEST подтверждают, что разработанные биоактивные двойные эмульсии обеспечивают контролируемое высвобождение и повышенную кишечную биодоступность фукоидана и берберина.

Установлено, что БДЭ-Ф и БДЭ-Б обладают наибольшей устойчивостью дисперсных характеристик системы, подтверждают стабилизирующий вклад фукоидана в структуру двойной эмульсии и необходимость учета пониженной агрегативной устойчивости берберина при установлении рекомендуемого срока годности.

Сформированный в ходе экспериментальных исследований массив данных может быть использован для прогностического анализа технологической пригодности. Разработанная технология обеспечивает высокую биодоступность, стабильность при хранении и безопасность, что открывает перспективы для ее промышленного применения в составе обогащенных молочных продуктов профилактической направленности, что, в свою очередь, требует детального изучения и формирования объективной доказательной базы.

4 Исследование качества и сохраняемости молочных пищевых систем, фортифицированных биоактивными двойными эмульсиями

Согласно сформированному массиву экспериментальных данных о разработке БДЭ (в последовательности: выбор сырьевой базы в части доказанных метаболических свойств; разработка BBD-оптимизированных моделей; оценка качества, биодоступности и сохраняемости сформированных свойств двойных эмульсий (см. параграфы 3.1–3.3)) прослеживается возможность фортификации БДЭ в состав молочных пищевых систем.

При построении архитектуры эксперимента учитывали установленные на основе DFT-расчетов, молекулярного докинга и ADME-профилирования критические точки: для фукоидана – термодинамическое предпочтение связей с казеинкиназой 1, для берберина – подавляющее воздействие на молочнокислые бактерии и риски эффлюкса, связанного с *P*-гликопротеином (возвратом берберина в кишечные просветы). Поэтому в рамках решения задачи разработки технологии фортификации БДЭ в матрицы кисломолочных пищевых систем проведено исследование модельных образцов йогуртов и мягких сыров с последующей комплексной оценкой их качества и сохранения добавленной полезности разработанных продуктов.

В результате сформирована научно-технологическая база, которая открывает цепочку решений от модельных эмульсионных систем к полноценным пищевым матрицам профилактического назначения.

4.1 Технологическая совместимость биоактивных двойных эмульсионных систем с матрицей кисломолочных продуктов

Сравнительную оценку кисломолочных пищевых систем (в пилотном исследовании в качестве моделей выступали йогурт и мягкие сыры) для фортификации БДЭ-Ф и БДЭ-Б проводили по комплексу критериев. Выбор пищевых систем для фортификации БДЭ объясняется не только их высокой востребованностью на рынке, но и структурным различием молочной матрицы, количеством влаги и ее активностью, что впоследствии позволит оценить, насколько предложенный технологический подход применим к другим пищевым системам.

Результаты сравнительной оценки характеристик матриц кисломолочных пищевых систем, обогащенных БАВ, представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Сравнительная характеристика матриц кисломолочных пищевых систем для процесса фортификации БДЭ

Оценочный критерий	Вид кисломолочного продукта	
	Йогурт	Мягкий сыр
Состав и структура матрицы	Белковый гель (к-казеин + β-лактоглобулин), pH 4,0–4,5	Концентрированная белково-жировая матрица, pH 4,1–4,9
Механизм структурообразования	Кислотная коагуляция (LAB*-ферментация)	Кислотно-сычужная коагуляция
Массовая доля влаги, %	Не менее 80	55–70
Активность воды (*aw*)	0,98–0,99	0,97–0,99
Влияние берберина** (прямое внесение)	Ингибирует кислотонакопление; устраняется инкапсуляцией	Коагуляция 14,5 мин → 12,0 мин при инкапсуляции; $p < 0,05$
Пробиотическая ценность	LAB ≥ 10^7 КОЕ/г (критерий ВОЗ/ФАО)	Не является пробиотическим продуктом
Срок хранения (целевой) при 4 °C, сут	21	30
Рабочие концентрации БДЭ***, % об.	3,0 и 5,0	5,0

Примечания
* LAB – молочнокислые бактерии.
** Данные о влиянии берберина на коагуляцию приведены по: [22; 94].
*** Рабочие концентрации установлены на основе предварительных экспериментов: при 1 % – субпороговый функциональный эффект; при 10 % – нарушение гелевой структуры.

Различия в структуре матриц позволили определить наиболее подходящий способ внесения биоактивных двойных эмульсий в молочную основу – до этапа ферментации и сквашивания.

Сравнение характеристик матриц йогурта и мягкого сыра как основы для внесения БДЭ как таргетной платформы доставки БАВ показало, что по своим физико-химическим, технологическим и функциональным свойствам они различаются, но технологические решения для процесса фортификации кисломолочных пищевых систем могут быть адаптированы к технологиям других кисломолочных матриц, формируя метаболически значимые свойства конечных обогащенных продуктов.

Технология биоактивных кисломолочных пищевых систем оценивалась на модельных образцах йогуртов, полученных с использованием йогуртовой закваски DVS (*L. bulgaricus* + *S. thermophilus*) и таргетных эмульсионных систем БДЭ-Ф и БДЭ-Б при варьировании количества (3 % и 5 %) в соответствии с аппаратурно-технологической схемой (рисунок 18*а*), а также на модельных образцах мягкого сыра, для получения которых использовали сычужный фермент (ренин-пепсин) и эмульсионные системы БДЭ-Ф и БДЭ-Б в соответствии с аппаратурно-технологической схемой (рисунок 18*б*).

Важным аспектом для получения биоактивных кисломолочных пищевых систем обеспечение процессов устойчивого комплексообразования БАВ (фукоидана и берберина) и инкапсулированных в таргетных эмульсионных системах с компонентами молочной матрицы, что показывают данные прогностических исследований (см. параграф 3.1).

Устойчивость биоактивных комплексов, возможность включения в метаболические процессы организма человека после потребления обогащенных молочных продуктов определило основу последующих исследований.

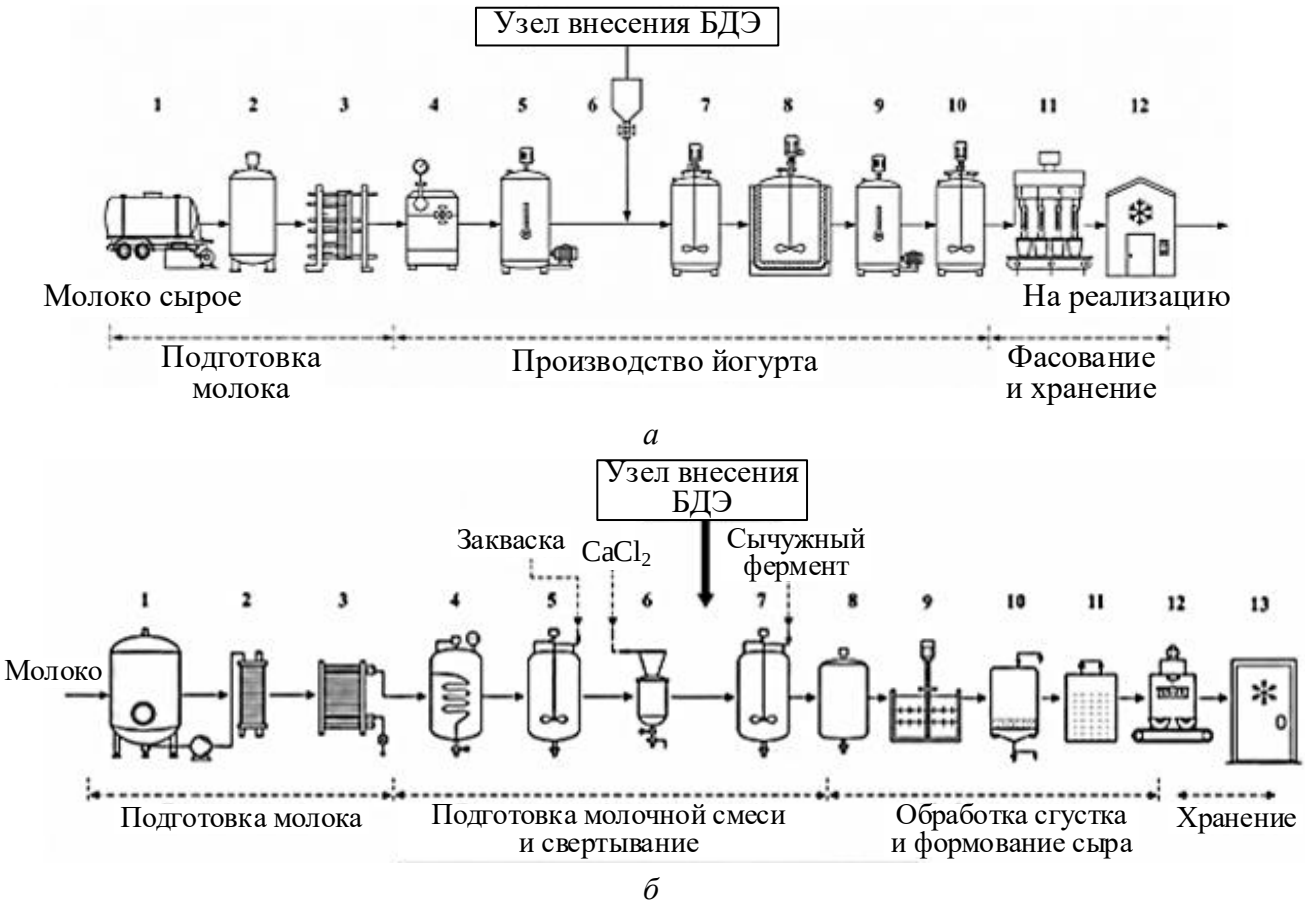


Рисунок 18 – Аппаратурно-технологическая линия производства йогуртов (*а*) и мягких сыров (*б*) с фортификацией БДЭ-Ф и БДЭ-Б

4.2 Комплексное исследование биоактивных кисломолочных пищевых систем, фортифицированных биоактивными двойными эмульсиями

Для каждой биоактивной кисломолочной системы определены технологические условия получения модельных и контрольных образцов; номенклатура показателей включала коллоидную устойчивость, состояние текстуры, активность заквасочной микрофлоры и функциональные свойства.

Для получения модельных образцов термостатного йогурта проводили сквашивание при 42 °С в течение 5–6 ч до достижения титруемой кислотности 70–80 °Т (pH 4,2–4,5), охлаждение до 4 °С, готовый продукт хранили до 21 сут; в качестве контроля (К1) служили образцы без фортификации БДЭ.

В технологии модельных образцов мягкого сыра в качестве закваски применяли DVS-культуры мезофильных молочнокислых лактококков *L. lactis* subsp. *lactis* и *L. lactis* subsp. *cremoris*, в технологии ферментации для сырного зерна использовали сычужный фермент (ренин-пепсин), сквашивание при температуре 32−37 °С до pH 4,2–5,0. В качестве контроля (К1) приняты образцы без фортификации БДЭ.

4.2.1 Результаты исследования модельных образцов биоактивных йогуртовых пищевых систем

При формировании перечня объектов для исследования учитывали количество вносимой БДЭ с учетом проведенной BBD-оптимизации (см. пункт 3.2.2). Экспериментально установлено, что при введении БДЭ в количестве более 5 % увеличивается вязкость и ухудшаются органолептические показатели, при внесении 3 % не обеспечиваются показатели биологической активности. Однако для формирования доказательной базы данных в эксперименте оценивали следующие варианты образцов: БДЭФ3 (содержит 3 % БДЭ-Ф); БДЭФ5 (5 % БДЭ-Ф); БДЭБ3 (3 % БДЭ-Б); БДЭБ5 (5 % БДЭ-Б) и К1 (контроль). Длительность хранения 21 сут с промежуточным исследованием в точках 0; 7; 15; 21 сут.

Оценка органолептических показателей биоактивных йогуртовых пищевых систем. Органолептическое восприятие продукта во многом определяет выбор потребителя и в дальнейшем устойчивость спроса, поэтому приемлемость ключевых показателей комплексного сочетания обонятельного и вкусового ощущений находится в тесной взаимосвязи с усвояемостью, в том числе биоактивных компонентов. Инкапсулирование БАВ в БДЭ позволяет не только обеспечить адресный транспорт в системе ЖКТ, но и одновременно маскировать послевкусие органолептических недостатков, что является достоинством предлагаемого технологического решения.

Органолептическую оценку модельных образцов йогуртовых биоактивных пищевых систем осуществляли на этапе получения продукта перед закладкой на хранение. Применяли унифицированную 10-балльную шкалу для стандартизированных показателей качества – внешний вид и консистенция, цвет, вкус и запах. Для визуальной прослеживаемости и сопоставимости характеристики сенсорного профиля применяли профилограммы по пяти атрибутам. Статистическую значимость различий между образцами и контролем (К1) устанавливали с применением теста Даннетта.

Результаты дегустационной оценки по 10-балльной шкале представлены на рисунке 19.

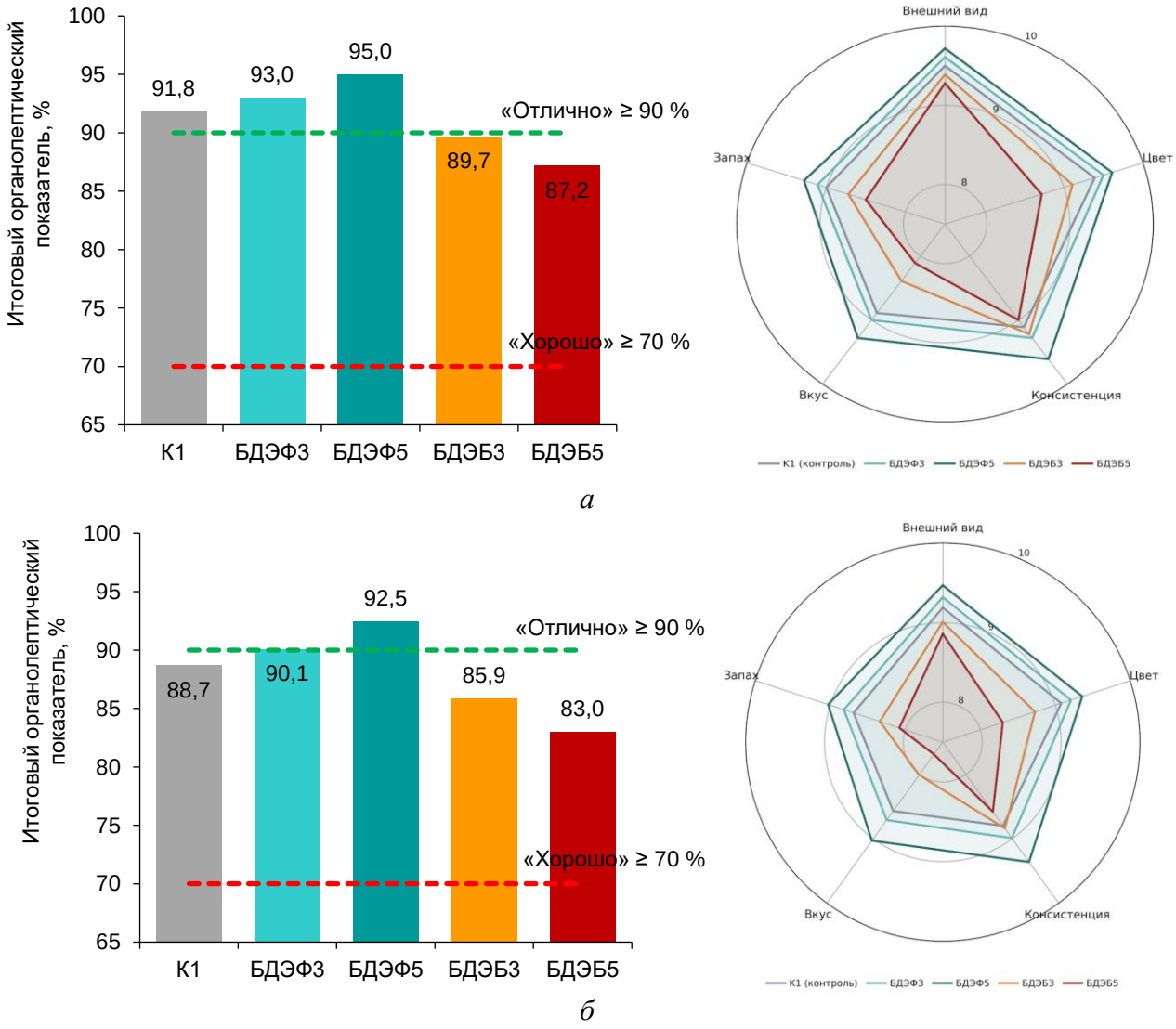


Рисунок 19 – Результаты дегустационной оценки модельных образцов йогуртовых пищевых систем при закладке на хранение (*а*) и через 21 сут (*б*) (n = 9 экспертов)

Модельные образцы, фортифицированные БДЭФ3 и БДЭФ5, и контроль находятся в зоне градации «отлично», тогда как образцы, фортифицированные БДЭБ3 и БДЭБ5, – в зоне градации «хорошо», что отражает сенсорное воздействие алкалоида на органолептический профиль продукта.

Наилучший итоговый балл зафиксирован у модельного образца йогуртовой пищевой системы с БДЭФ5 (суммарно 9,5 балла), наименьший – у БДЭБ5 (8,72 балла), при этом оценка контроля К1 – 9,18 балла. Модельный образец БДЭФ5 демонстрирует значительное улучшение консистенции, а также комплекса обонятельных и вкусовых ощущений кисломолочного продукта, что подтверждается высокими оценками вкуса и запаха. По всем пяти показателям выявлены статистически значимые различия с контролем ($p < 0,05$), балл: внешний вид 9,72–9,50; цвет 9,61–9,39; консистенция 9,61–9,11; вкус 9,28–8,89; запах 9,28–9,00.

Образцы йогуртовых систем с берберином (БДЭБ3 и БДЭБ5) вошли в градацию «хорошо», что отражает сенсорное воздействие алкалоида на показатель вкуса (прежде всего, послевкусие). Образец БДЭБ3 набрал 8,97 балла; по показателям «внешний вид», «цвет» и «консистенция» различия с контролем статистически незначимы ($p > 0,05$), тогда как по показателю «вкус» (8,39–8,89 балла; $p < 0,05$) и «запах» (8,72–9,00 балла; $p < 0,05$) зафиксировано достоверное снижение.

Образец, фортифицированный БДЭБ5, показал наименьшее итоговое значение оценки – 8,72 балла: статистически значимое снижение выявлено по четырем критериям из пяти (цвет 8,72 и 9,39 балла; вкус 8,11 и 8,89 балла; запах 8,5 и 9,0 балла; $p < 0,05$ для каждого), по внешнему виду различие незначимое ($p > 0,05$). Снижение оценки по цвету обусловлено характерным желтым оттенком берберина, тогда как уменьшение баллов по вкусу и запаху при концентрации 5 % объясняется проявлением послевкусия изохинолинового алкалоида, выраженного в легкой горечи и терпкости. Вместе с тем образец БДЭБ5 при максимальной концентрации берберина (5 %) сохранил градацию качество «хорошо», что свидетельствует об эффективности инкапсуляции в системе $W_1/O/W_2$ как технологии маскирования маложелательных сенсорных эффектов.

Таким образом, разработанная технология обеспечивает функциональный и органолептический баланс: при обогащении берберином в составе БДЭБ5 продукт сохраняет приемлемые потребительские характеристики, соответствующие градации «хорошо», что является достаточным условием для потребительского позиционирования функционального молочного продукта.

Наилучший органолептический профиль демонстрирует модельный образец биоактивной йогуртовой пищевой системы, фортифицированной БДЭФ5, у которого по всем пяти показателям зафиксировано статистически значимое улучшение относительно контроля ($p < 0,05$). Образцы с берберином, несмотря на снижение оценки по вкусу и запаху, сохраняют приемлемый сенсорный профиль за счет эффективного маскирования горечи системой двойной эмульсии, что подтверждает целесообразность применения разработанной технологии инкапсуляции для создания функциональных молочных продуктов с сохраненными органолептическими свойствами.

Оценка физико-химических показателей модельных образцов йогуртовых пищевых систем при хранении. Результаты оценки пищевого продукта по регламентируемым показателям качества определяют не только градацию качества продукта, но и гарантируют безопасность для потенциального потребителя.

В таблице 27 представлены результаты оценки нормативно регламентируемых и дополнительных физико-химических показателей модельных образцов йогуртовых пищевых систем в динамике изменения значений на разных этапах хранения при (4 ± 2) °С в течение 21 сут.

При анализе результатов прослеживаются количественные зависимости влияния фортификации БДЭ-Ф и БДЭ-Б на интенсивность процессов сквашивания и устойчивость консистенции продуктов. Наблюдается тенденция к снижению в процессе хранения значений pH и показателей титруемой кислотности, но в пределах нормы, что характеризует степень созревания продукта и глубину преобразования белков. Наиболее значимое снижение (на 1,346 ед.) зафиксировано для модельных образцов йогуртовой пищевой системы, фортифицированной БДЭ-Ф.

Таблица 27 – Значения физико-химических показателей йогуртовых пищевых систем при хранении ($M \pm SD$, $n = 3$)

Показатель	Образец*	Длительность хранения, сут			
		0	7	15	21
Синерезис, %	К1 (контроль)	43,00 ± 11,14	28,00 ± 3,00	22,67 ± 2,52	18,50 ± 1,50
	БДЭФ3	43,67 ± 11,37	27,67 ± 3,06	23,67 ± 1,53	20,50 ± 1,32
	БДЭФ5	42,33 ± 19,66	22,33 ± 2,52	19,50 ± 0,50	17,83 ± 1,61
	БДЭБ3	45,00 ± 11,53	42,50 ± 11,53	40,40 ± 1,60	35,40 ± 1,50
	БДЭБ5	40,00 ± 11,79	37,50 ± 11,79	35,40 ± 1,40	30,40 – 1,30
Вязкость, сП	К1 (контроль)	1,403 ± 0,354	1,543 ± 0,326	1,270 ± 0,256	1,217 ± 0,104
	БДЭФ3	1,943 ± 0,125	2,080 ± 0,161	1,953 ± 0,055	1,760 ± 0,066
	БДЭФ5	1,863 ± 0,152	1,973 ± 0,146	1,723 ± 0,064	1,547 ± 0,055
	БДЭБ3	1,750 ± 0,030	1,770 ± 0,020	1,527 ± 0,032	1,620 ± 0,060
	БДЭБ5	1,813 ± 0,070	1,847 ± 0,035	1,703 ± 0,040	1,553 ± 0,093
pH	К1 (контроль)	4,997 ± 0,085	4,697 ± 0,085	4,400 ± 0,346	4,200 ± 0,346
	БДЭФ3	5,113 ± 0,032	4,813 ± 0,032	3,967 ± 0,058	3,767 ± 0,058
	БДЭФ5	4,500 ± 0,000	4,200 ± 0,000	4,100 ± 0,100	3,900 ± 0,100
	БДЭБ3	4,850 ± 0,010	4,550 ± 0,010	4,100 ± 0,040	4,500 ± 0,040
	БДЭБ5	4,963 ± 0,110	4,663 ± 0,110	4,200 ± 0,040	4,600 ± 0,040
Титруемая кислотность, °Т	К1 (контроль)	108,33 ± 0,58	103,33 ± 0,58	98,33 ± 0,58	95,33 ± 0,58
	БДЭФ3	90,00 ± 0,00	80,00 ± 0,00	76,00 ± 1,73	75,00 ± 1,73
	БДЭФ5	110,67 ± 1,53	109,33 ± 1,53	99,33 ± 1,53	96,33 ± 1,53
	БДЭБ3	92,00 ± 1,00	87,67 ± 0,58	82,67 ± 0,58	77,67 ± 0,58
	БДЭБ5	93,00 ± 1,00	83,33 ± 0,58	78,33 ± 0,58	77,33 ± 0,58

Менее значимый эффект снижения значений (на 0,6 ед.) установлен для образца с БДЭФ5. Фукоидан в составе биоактивных двойных эмульсий проявляет физико-химические буферные свойства и частично нейтрализует продукты молочнокислого брожения.

Модельные образцы, фортифицированные БДЭБ3 и БДЭБ5, показали другой характер изменений pH: в частности, наблюдались волновые эффекты роста и падения. Так, значение pH изменялось от исходных (4,850 ± 0,010) и (4,963 ± 0,010) на 15-е сутки хранения до (4,100 ± 0,040) и (4,200 ± 0,040), а к концу хранения увеличилось до (4,500 ± 0,040) и (4,600 ± 0,040). Вероятно, это обусловлено тем, что бер-

берин как слабое основание проявляет буферные свойства в определенном диапазоне, что позволяет удерживать заданный уровень кислотности при добавлении кислот или щелочей.

Критически важным показателем является способность образцов йогуртов к синерезису. В матрице биоактивной йогуртовой системы склонность к синерезису снижается в два раза – с 26,67 % до 10,67 %, тогда как контрольные образцы к концу хранения показали положительную динамику синерезиса с 25 % до 21 %.

В процессе хранения модельных образцов биоактивных йогуртовых систем органолептически наблюдались приятные кисло-сливочный вкус и запах, а также улучшение текстурных характеристик: сгусток сохранял плотность без отделения сыворотки, что согласуется с динамикой значений показателей вязкости.

Оценка токсичности биоактивных йогуртовых систем методом биотестирования на культуре *Paramecium caudatum*. Токсикологическую безопасность опытных образцов биоактивных йогуртовых систем оценивали методом биотестирования на инфузориях *Paramecium caudatum*. Метод позволяет оценить уровень биобезопасности и активность роста клеток простейших.

В начале эксперимента число инфузорий во всех пробах было в пределах 110–130 кл/мл. Спустя 24 ч количество клеток выросло во всех вариантах, кл/мл: К1 (контроль) – (115 ± 5); БДЭФ3 – (120 ± 7); БДЭФ5 – (124 ± 7); БДЭБ3 – (127 ± 5); БДЭБ5 – (125 ± 10). Во всех случаях выживаемость была выше 100 %, в некоторых образцах зафиксировано активное размножение тестовой биокультуры *P. caudatum*. Полученные результаты согласуются с опубликованными данными о безопасности фукоидана и берберина при их применении в функциональных пищевых системах в нетоксичных дозах.

Содержание полифенолов, эффективность инкапсуляции и антиоксидантная активность йогурта. Функциональная ценность биоактивных йогуртовых пищевых систем определяется прежде всего сохранением инкапсулированных БАВ в матрице биоактивных кисломолочных пищевых систем и уровнем их антиоксидантного потенциала после встраивания двойной эмульсии в кислую молочную матрицу.

На протяжении всего периода хранения (21 сут при температуре (4 ± 2) °С) все модельные образцы, фортифицированные БДЭ-Ф и БДЭ-Б, по содержанию полифенолов достоверно превышали контроль К1 ($p < 0,05$). В момент закладки на хранение наибольшее значение *TPC* было зафиксировано у образца БДЭФ5 – (450,49 ± 6,3) мкг ГАЭ/мл, что на 31,4 % выше значения контрольного образца – (342,66 ± 5,1) мкг ГАЭ/мл. Установленный прирост содержания полифенолов согласуется с показателями эффективности инкапсуляции БАВ в оптимизированных двойных эмульсиях (см. параграф 3.4) и подтверждает перенос биоактивного потенциала эмульсии в готовый кисломолочный продукт. Динамика *TPC* в процессе хранения представлена на рисунке 20.

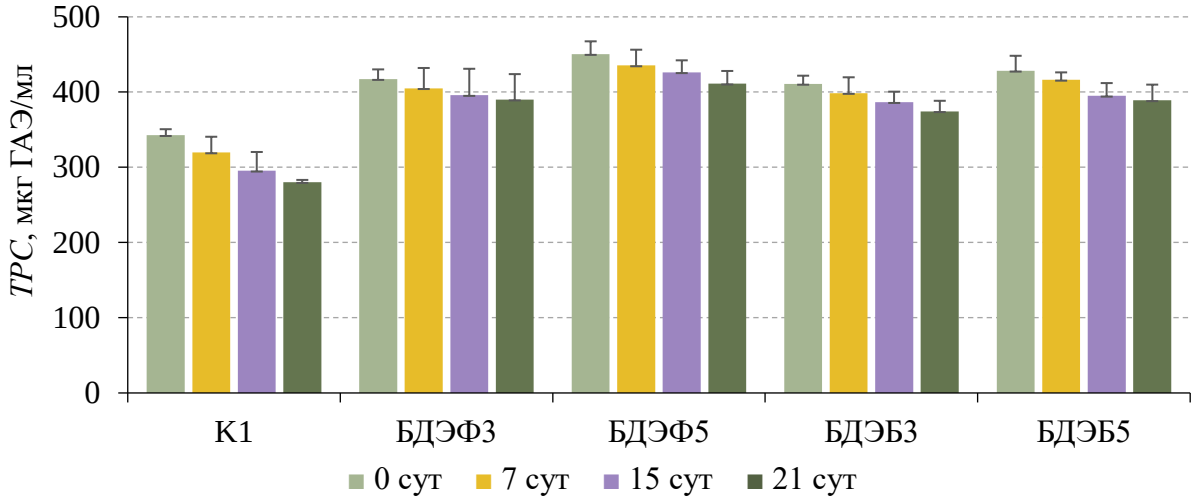


Рисунок 20 – Результаты оценки суммарного содержания полифенолов в образцах йогуртов при хранении

В процессе хранения содержание полифенолов во всех образцах постепенно снижалось, что обусловлено частичной микробной деградацией фенольных соединений и их высвобождением из эмульсионной матрицы под действием кислой среды продукта. Тем не менее к концу срока хранения модельные образцы с БДЭ-Ф и БДЭ-Б сохраняли достоверное превосходство над контролем, что свидетельствует об эффективной защите биоактивной фракции межфазным барьером W_1/O. Эффективность инкапсуляции – ключевой параметр, характеризующий долю биоактивного вещества, удержанную во внутренней водной фазе W_1 после

встраивания эмульсии в йогуртовую матрицу. Наибольшее значение *EE* установлено для образца БДЭФ5 – (93,99 ± 1,5) %, что свидетельствует о высокой устойчивости межфазного барьера W_1/O фукоидановой эмульсии в условиях кислой молочной среды (pH 4,2–4,5). Полученное значение согласуется с эффективностью инкапсуляции, определенной для исходной оптимизированной эмульсии БДЭ-Ф (см. параграф 3.4), и даже несколько превышает ее, что объясняется дополнительной стабилизацией межфазной пленки компонентами молочной матрицы. Результаты оценки эффективности инкапсуляции в образцах йогурта в хранении представлены на рисунке 21.

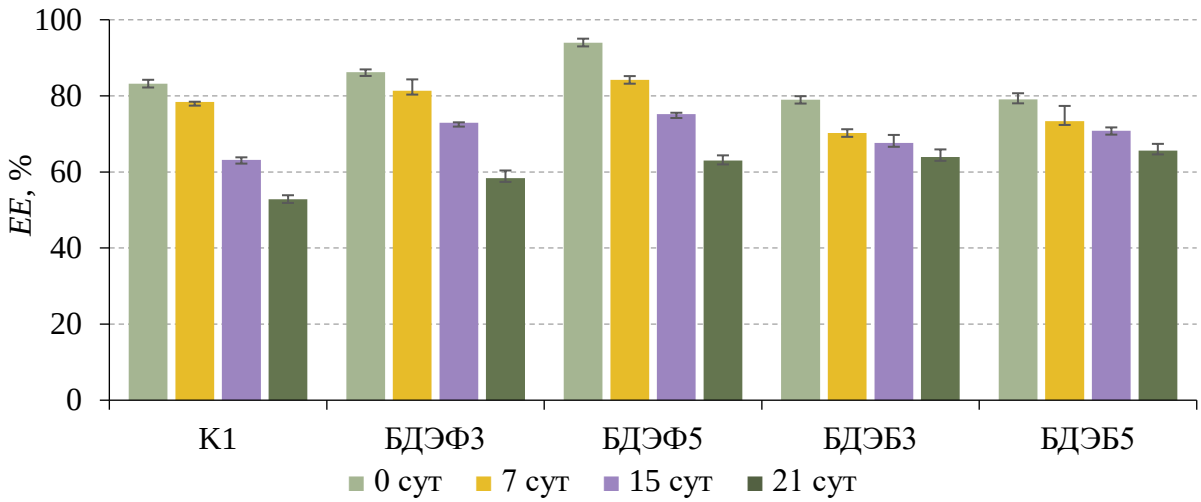


Рисунок 21 – Результаты оценки эффективности инкапсуляции в образцах йогурта при хранении

Для образца БДЭБ5 значение *EE* несколько ниже – (88,15 ± 1,7) %, что обусловлено большей молекулярной массой берберина и его умеренной амфифильностью, возможен частичный переход алкалоида через межфазный слой. Результаты согласуется с прогностическими данными (см. параграфы 3.1 и 3.2), предпочтительной локализацией берберина на границе раздела W_1/O.

Антиоксидантная активность, измеренная методом ингибирования радикала DPPH (λ = 515 нм), достоверно возрастала во всех фортифицированных образцах относительно контроля. На нулевые сутки АОА образца БДЭФ5 достигала (83,04 ± 1,3) %, превышая контроль ((70,79 ± 1,1) %) на 17,3 %. За 21 сут хранения

снижение АОА во всех образцах не превысило 5–8 % от исходного уровня, что подтверждает эффективную защиту биоактивной фракции межфазным слоем W_1/O. Для образца БДЭБ5 значение АОА при закладке на хранение составляло (81,23 ± 1,4) %, снижаясь к 21-м суткам до (76,08 ± 1,2) %, или на 6,3 %. Высокие и устойчивые во времени значения антиоксидантной активности отражают сохранность инкапсулированных фукоидана и берберина и согласуются с их доказанным антиоксидантным потенциалом, обоснованным в пункте 1.2.1. Динамика АОА при хранении представлена на рисунке 22.

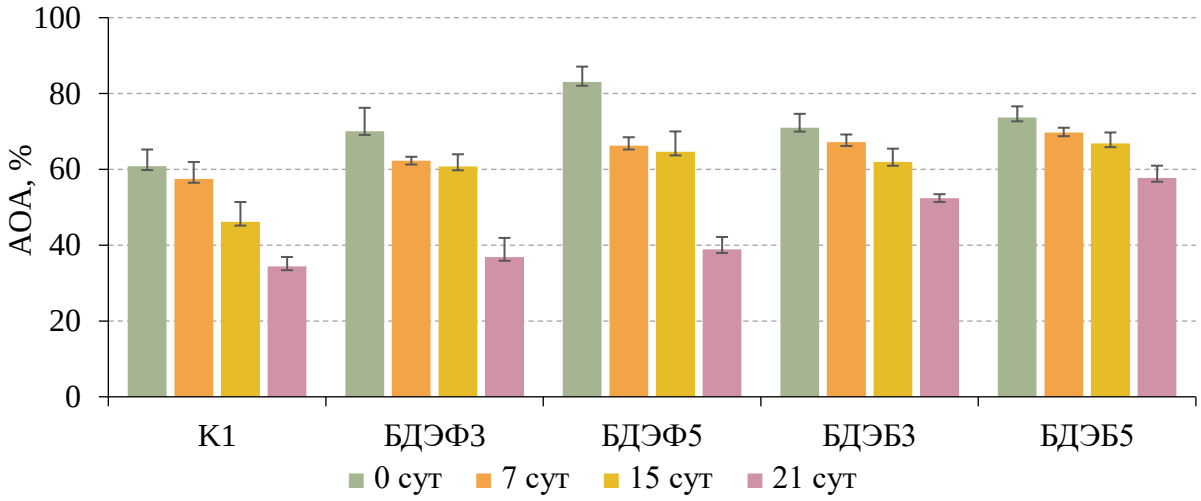


Рисунок 22 – Результаты оценки антиоксидантной активности в образцах йогурта при хранении

Исследование динамики изменения показателей биоактивности модельных образцов йогуртовых пищевых систем при хранении. Комплексное исследование йогуртовых пищевых систем, фортифицированных БДЭ-Ф и БДЭ-Б, показало, что предварительные прогнозы *in silico* о возможных профилактических эффектах поддерживаются данными, характеризующими устойчивость БАВ, микробиологические показатели и *in vitro* анализ биодоступности.

При активном развитии применимой в технологии заквасочной микрофлоры (DVS-культуры мезофильных молочнокислых лактококков *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris* и *L. bulgaricus*) в матрице продукта формируется дополнительная полезность за счет накопления бактериальных экзополисахаридов (ЭПС).

Максимальное содержание ЭПС (рисунок 23) установлено для образцов, фортифицированных БДЭФ3, – (233,2 ± 15,0) мг/л, что на 38,6 % выше, чем в контроле. Образцы, фортифицированные БДЭФ5, БДЭБ5 и БДЭБ3, также достоверно превышали контроль: (223,6 ± 18,2); (217,6 ± 8,4) и (210,0 ± 3,6) мг/л соответственно ($p < 0,05$).

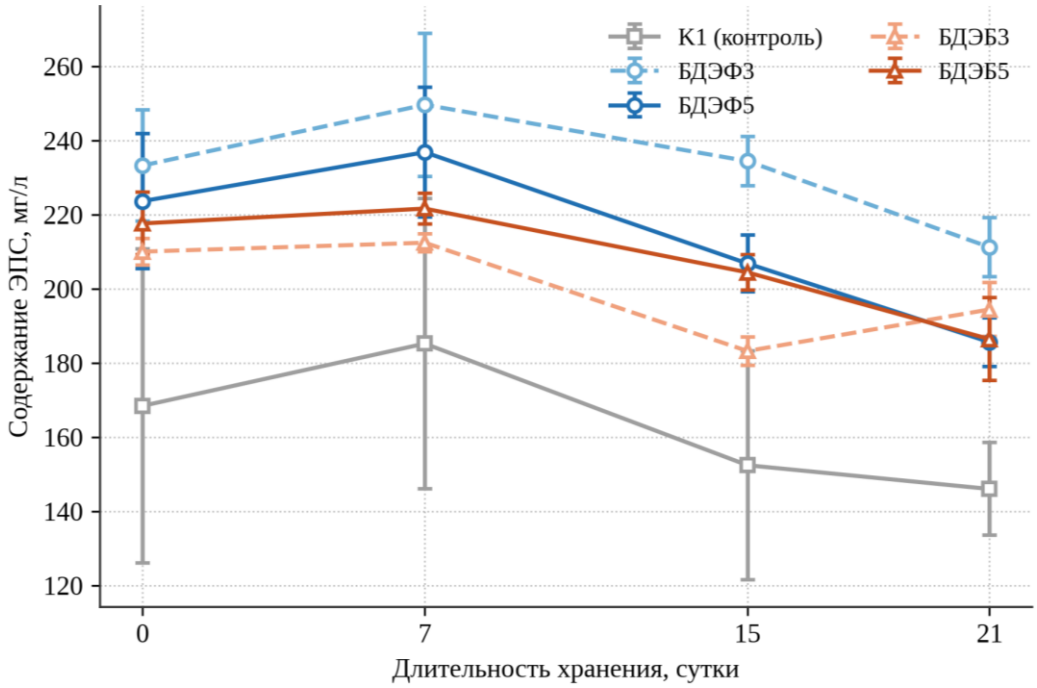


Рисунок 23 – Динамика изменения биоактивности по количеству ЭПС йогуртовых пищевых систем при хранении

Пик накопления ЭПС для всех модельных образцов по отношению к контролю зафиксирован на 7-е сутки хранения: БДЭФ3 – (249,6 ± 19,3) мг/л (плюс 34,8 %), БДЭФ5 – (236,8 ± 17,5) мг/л (плюс 27,9 %), БДЭБ5 – (221,6 ± 4,2) мг/л (плюс 19,6 %), БДЭБ3 – (212,4 ± 2,4) мг/л (плюс 14,7 %). К концу срока хранения значения всех опытных образцов по-прежнему достоверно превышали контроль ((146,0 ± 12,5) мг/л), наиболее значимо – образец в присутствии БДЭФ3 ((211,2 ± 7,9) мг/л; плюс 44,7 %; $p < 0,01$)), что обусловлено пребиотическим действием фукоидана – способностью служить избирательным субстратом для *L. bulgaricus* и *S. thermophilus*.

Кроме того, установлено, что все модельные образцы биоактивных йогуртовых пищевых систем сохраняли высокий уровень жизнеспособной микрофлоры (таблица 28) в течение всего периода хранения (21 сут) при (4 ± 2) °С.

Таблица 28 – Микробиологические показатели фортифицированного йогурта при хранении ($M \pm SD$, n = 3; 4 °С)

Образец	Срок хранения, сут	МКБ, log КОЕ/г	КМАФАнМ, log КОЕ/г	Плесени, дрожжи, log КОЕ/г	Психрофилы, log КОЕ/г	Колиформы, *S. aureus*, *Listeria*
Нормативное значение	–	Не менее 6,0	Не нормируется	Не более 1,7 (50 КОЕ/г)	Не нормируются	Не допускаются
Контроль	0	7,30 ± 0,10	7,80 ± 0,10	2,10 ± 0,10	Менее 1,0	Не обнаружены
	21	5,90 ± 0,20	6,80 ± 0,20	4,20 ± 0,15		
БДЭ-Ф (5 %)	0	7,70 ± 0,10	8,00 ± 0,10	2,50 ± 0,10		
	21	6,70 ± 0,20	7,20 ± 0,20	3,20 ± 0,15		
БДЭ-Б (3 %)	0	7,40 ± 0,10	7,60 ± 0,10	2,20 ± 0,10		
	21	6,20 ± 0,15	6,90 ± 0,15	3,80 ± 0,15		
БДЭ-Б (5 %)	0	7,50 ± 0,10	7,60 ± 0,10	2,30 ± 0,10		
	21	6,30 ± 0,20	7,00 ± 0,15	3,60 ± 0,15		

На 21-е сутки хранения наибольшее количество жизнеспособных клеток МКБ зафиксировано в образце БДЭ-Ф5 – (6,7 ± 0,2) log КОЕ/г, тогда как в контроле значение этого показателя составило (5,9 ± 0,2) log КОЕ/г. Таким образом, образец БДЭФ5 продемонстрировал более высокую сохранность жизнеспособных клеток МКБ. Внесение в продукт БДЭ-Ф обеспечивало дополнительный протективный эффект в отношении заквасочных культур, что, вероятно, обусловлено сочетанием пребиотического потенциала фукоидана, способного поддерживать метаболическую активность отдельных штаммов молочнокислых бактерий, и защитного действия эмульсионной матрицы, уменьшающей воздействие кислотного и окислительного стресса в процессе хранения.

Накопление ЭПС в среде продукта достоверно возрастало в образцах, содержащих БДЭ, и способствовало улучшению структурно-механических свойств йогурта, что подтверждалось увеличением вязкости и снижением синерезиса в обога-

щенных образцах. Так, в образце БДЭФ5 при закладке на хранение содержание ЭПС было на уровне (496 ± 21) мг/л, в образце БДЭБ5 – (482 ± 22) мг/л, тогда как у контроля – (248 ± 12) мг/л (прирост вдвое, $p < 0,05$). Полученные результаты согласуются с литературными данными о пребиотическом синергизме фукоидана и термофильных молочнокислых культур.

Биодоступность полифенолов йогурта при статическом моделировании пищеварения (INFOGEST). Для оценки высвобождения биоактивных веществ из матрицы биоактивной йогуртовой пищевой системы, т. е. определения потенциальной доступности к усвоению, применяли протокол *in vitro* пищеварения INFOGEST 2.0, согласно которому последовательно моделируются фазы: ротовая (модельная слюнная жидкость, SSF), желудочная (модельная желудочная жидкость, SGF) и кишечная (модельная кишечная жидкость, SIF).

На каждой стадии определяли содержание суммарных полифенолов (*TPC*, мкг ГАЭ/мл), антиоксидантную активность (% ингибирования радикала DPPH) и коэффициент восстановления полифенолов (*RR*, % = $TPC_{\text{фазы}} / TPC_{\text{исх}} \times 100$).

Измерения выполняли на момент закладки и на 5-е сутки хранения. Выбор протокола INFOGEST и его роль в оценке биодоступности минорных БАВ обоснованы в параграфе 1.2; полученные результаты дополняют данные о поведении оптимизированных эмульсий БДЭ-Ф и БДЭ-Б при *in vitro* пищеварении (см. пункт 3.2.2), распространяя их на готовую кисломолочную систему.

Ключевой закономерностью INFOGEST-тестирования стал эффект «желудочного усиления»: на желудочной стадии содержание суммарных полифенолов у всех образцов было достоверно выше, чем в ротовой и кишечной фазах ($p < 0,05$). На нулевые сутки значение *TPC* на желудочной стадии варьировало от (757,40 ± 31,0) мкг ГАЭ/мл у контроля до (871,64 ± 42,3) мкг ГАЭ/мл у образца БДЭБ5, заметно превосходя исходное содержание полифенолов в непереваренном продукте. Наблюдаемое усиление высвобождения в желудочной фазе согласуется с двухфазным профилем высвобождения БАВ из систем $W_1/O/W_2$, описанным в пункте 1.2.4.

В ротовой фазе образцы с фукоиданом характеризовались повышением *TPC* относительно исходных значений: для БДЭФ3 – (536,17 ± 31,0) мкг ГАЭ/мл (от исходно 417,19 мкг ГАЭ/мл), для БДЭФ5 – (571,94 ± 28,0) мкг ГАЭ/мл (исходно 450,49 мкг ГАЭ/мл). Вероятно, фукоидан как полианионный сульфатированный полисахарид способствует высвобождению полифенолов уже в слабощелочной среде ротовой полости. Для образца БДЭБ3, напротив, содержание *TPC* после SSF снижалось до (302,0 ± 35,0) мкг ГАЭ/мл (относительно исходного значения 410,81 мкг ГАЭ/мл), что объясняется низкой растворимостью катионного берберина при нейтральном pH.

В кишечной фазе суммарное содержание фенольных соединений во всех образцах было на 15–22 % ниже, чем в SGF, что связано с частичной деградацией полифенолов под действием панкреатина и желчных солей. При этом образцы с двойными эмульсиями сохраняли более высокий абсолютный уровень *TPC*: у БДЭФ5 он достигал (690,36 ± 19,0) мкг ГАЭ/мл по сравнению с (576,31 ± 31,0) мкг ГАЭ/мл у контроля ($p < 0,05$). Содержание суммарных полифенолов во всех фазах моделируемого пищеварения представлено на рисунке 24.

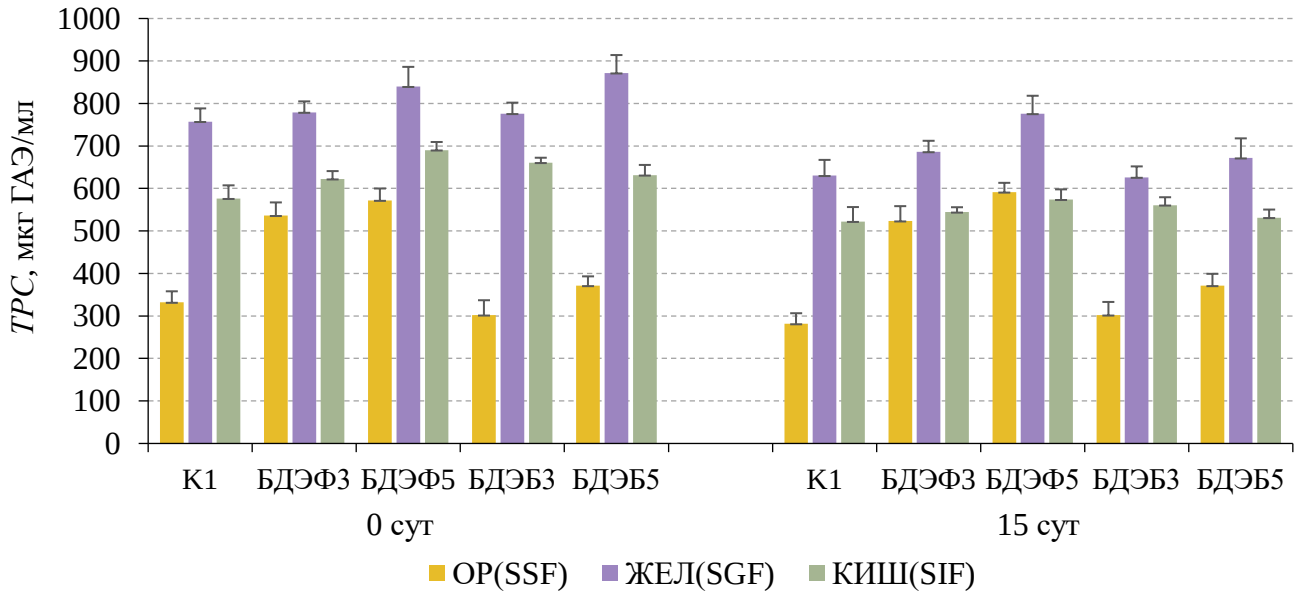


Рисунок 24 – Содержание суммарных полифенолов по фазам INFOGEST 2.0 ($M \pm SD$, $n = 3$)

Индекс биоактивности, оцениваемый по проценту ингибирования радикала DPPH, сохранялась на высоком уровне на всех стадиях пищеварения. Максимальное значение зафиксировано в желудочной фазе для образца БДЭФ3 – (97,09 ± 15,0) %, что свидетельствует о сохранении функциональных свойств продукта в кислой среде желудка. При переходе к кишечной фазе биоактивность закономерно снижалась вследствие изменения химической структуры фенольных соединений под действием панкреатина. Динамика индекса биоактивности по фазам INFOGEST представлена на рисунке 25.

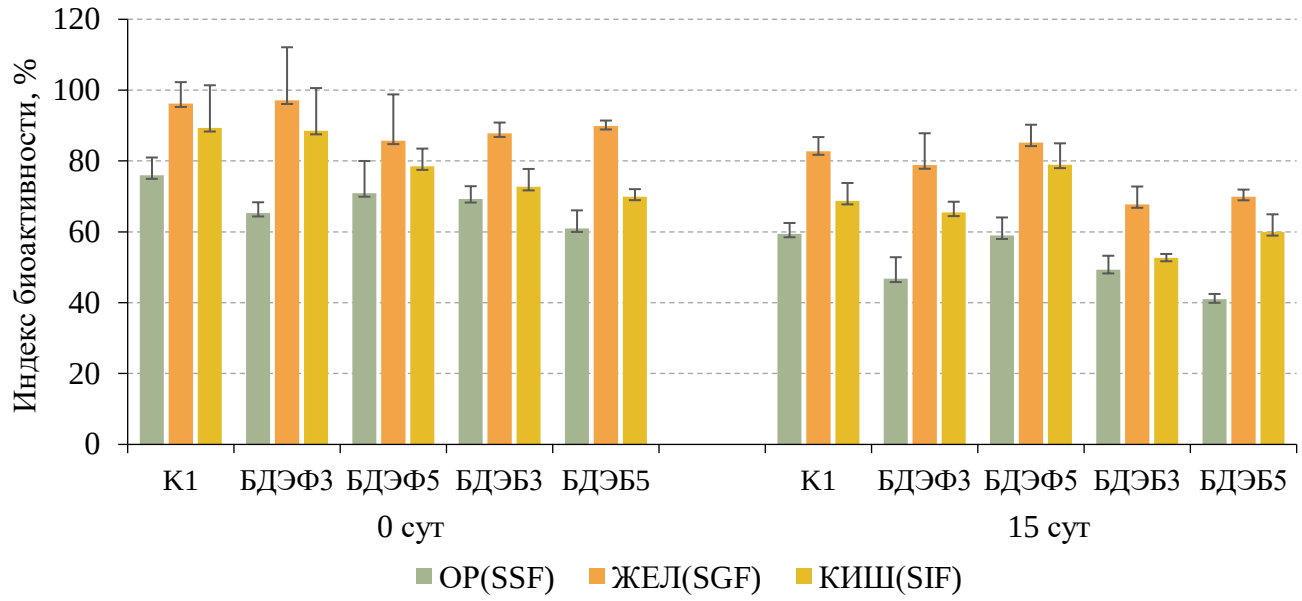


Рисунок 25 – Биоактивность (% ингибирования DPPH) по фазам INFOGEST 2.0 ($M \pm SD$, $n = 3$)

Коэффициент восстановления полифенолов (*RR*, %) достигал максимальных значений в желудочной фазе. На нулевые сутки в желудочной фазе (SGF) он составил: К1 – (37,09 ± 3,0) %, БДЭФ3 – (28,28 ± 1,0) %, БДЭФ5 – (33,83 ± 1,0) %, БДЭБ3 – (38,95 ± 3,3) %, БДЭБ5 – (40,53 ± 0,1) %. Более высокие значения *RR* у образцов с берберином в желудочной фазе обусловлены лучшей растворимостью алкалоида в кислой среде. К 15-м суткам хранения *RR* в SGF снижался (К1 – с 37,09 % до 32,96 %, или на 11,1 %; БДЭФ5 – с 33,83 % до 28,54 %, или на 15,6 %), однако образцы БДЭФ5 и БДЭБ5 сохраняли *RR* не ниже 28 %, что указывает на устойчивую

защиту биоактивных веществ двойной эмульсионной системой в процессе хранения. Данные о коэффициенте восстановления полифенолов по фазам представлены на рисунке 26.

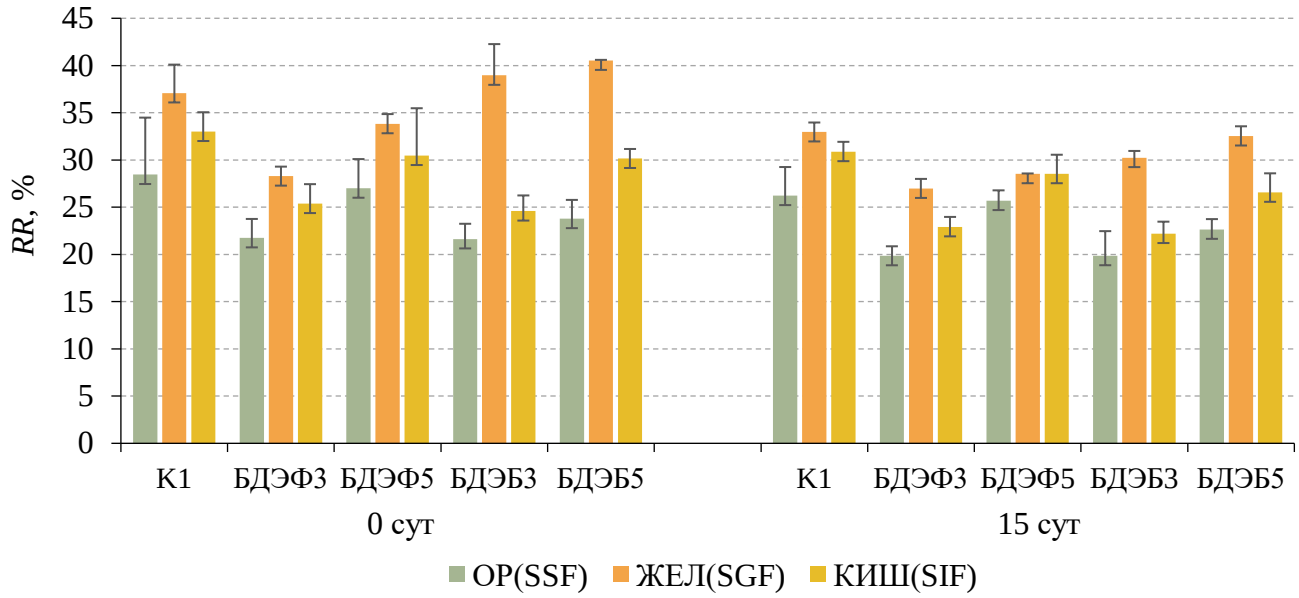


Рисунок 26 – Коэффициент восстановления полифенолов по фазам INFOGEST 2.0 ($M \pm SD$, $n = 3$)

Таким образом, статическое *in vitro* пищеварение по модели INFOGEST 2.0 подтвердило, что двойная эмульсионная инкапсуляция обеспечивает контролируемое, поэтапное высвобождение полифенолов на разных стадиях желудочно-кишечного транзита. Во всех образцах зафиксирован эффект «желудочного усиления» *TPC*; наибольшее абсолютное содержание полифенолов в желудочной фазе установлено для БДЭБ5 ((871,64 ± 42,3) мкг ГАЭ/мл), в кишечной – для БДЭФ5 ((690,36 ± 19,0) мкг ГАЭ/мл). Полученные результаты подтверждают, что технология двойных эмульсий $W_1/O/W_2$ повышает биодоступность фенольных соединений в кисломолочных пищевых системах, реализуя на уровне готового продукта прогнозируемый в параграфе 1.2 механизм защиты и направленного высвобождения БАВ.

Вместе с тем, несмотря на сохранение биоактивности и повышение биодоступности БАВ после моделируемого пищеварения, определяющими для потре-

бительского выбора остаются вкусоароматические характеристики продукта. Это особенно значимо для берберина, обладающего выраженной горечью: результаты дегустационной оценки свидетельствуют, что примененная технология инкапсуляции в двойной эмульсии эффективно маскирует данный сенсорный недостаток, обеспечивая приемлемые органолептические характеристики обогащенного продукта.

4.2.2 Результаты исследования модельных образцов биоактивных сырных пищевых систем

Мягкий сыр является перспективной матрицей для доставки биоактивных компонентов благодаря умеренным технологическим параметрам производства (pH 4,2–5,0; температура свертывания 32–37 °C), высокому содержанию белка и жира, а также широкому потребительскому спросу.

Установлено, что внесение БДЭ в матрицу молочного сырья до сычужного свертывания обеспечивает равномерное распределение капель в сырном сгустке и предотвращает нежелательное действие свободного берберина на коагуляцию. В исследовании анализировали контрольный образец К2, а также образцы БДЭФ, БДЭБ и БДЭ (сыр с двойной эмульсией без БАВ). Инкапсуляция берберина в БДЭ сокращала время свертывания с 14,5 до 12,0 мин ($p < 0,05$) [55; 117].

Оценка органолептических характеристик сырных биоактивных пищевых систем. Оценку органолептических свойств обогащенного мягкого сыра проводила подготовленная дегустационная комиссия из девяти человек по единой 10-балльной системе. Отдельно анализировали пять показателей: внешний вид, цвет, консистенцию, вкус и запах. Каждый из них оценивали в диапазоне от 0 до 10 баллов. Итоговый показатель рассчитывали как среднее арифметическое по всем пяти критериям. По суммарной оценке качество образцов делили следующим образом,

балл: «отлично» – 9,0 и выше; «хорошо» – от 7,0 до 8,9; «удовлетворительно» – от 5,0 до 6,9; «неудовлетворительно» – ниже 5,0. Для более полного описания сенсорных свойств дополнительно строили профилограмму по пяти признакам. Достоверность различий между образцами и контролем (К2) проверяли с применением теста Даннетта.

Наивысшую общую оценку среди всех образцов мягкого сыра получил вариант БДЭ без активного компонента (бланк) – 9,24 балла. Только данный образец был отнесен к группе «отлично». Контрольный образец К2 набрал 8,9 балла, а образцы с фукоиданом (БДЭФ – 8,88 балла) и берберином (БДЭБ – 8,58 балла) вошли в категорию «хорошо». Эти результаты говорят о том, что уже само внесение двойной эмульсии в основу мягкого сыра заметно улучшает его органолептические свойства, прежде всего благодаря более выраженной консистенции. При этом включение действующих веществ немного снижает отдельные показатели вкуса, но в целом продукт все равно сохраняет оценку «хорошо».

На момент закладки образец БДЭ (бланк) получил значительно более высокую оценку по консистенции: 9,61 балла против 8,72 у контроля К2 ($p < 0,05$). По остальным показателям он тоже опережал контроль: внешний вид – 9,28, цвет – 9,22, вкус – 9,00, аромат – 9,11, однако эти различия не были статистически значимыми ($p > 0,05$). Более высокая оценка консистенции объясняется тем, что в состав ввели дополнительную дисперсную масляную фазу, стабилизированную эмульгаторами. Система «вода-в-масле-в-воде» ($W_1/O/W_2$) равномерно распределяется в белково-жировой сети, из-за чего текстура становится мягче. Двойная эмульсия выступает как функциональный компонент: она формирует структуру и улучшает сенсорное восприятие мягкого сыра [4; 5].

Для детального анализа сенсорного профиля всех образцов сыра мягкого при хранении была построена профилограмма, представленная на рисунке 27.

При оценке изменений органолептических свойств в процессе хранения мягкого сыра на 15-е и 30-е сутки отмечено, что у всех образцов итоговые баллы закономерно снижались. Но даже при этом потребительские качества оставались на высоком уровне.

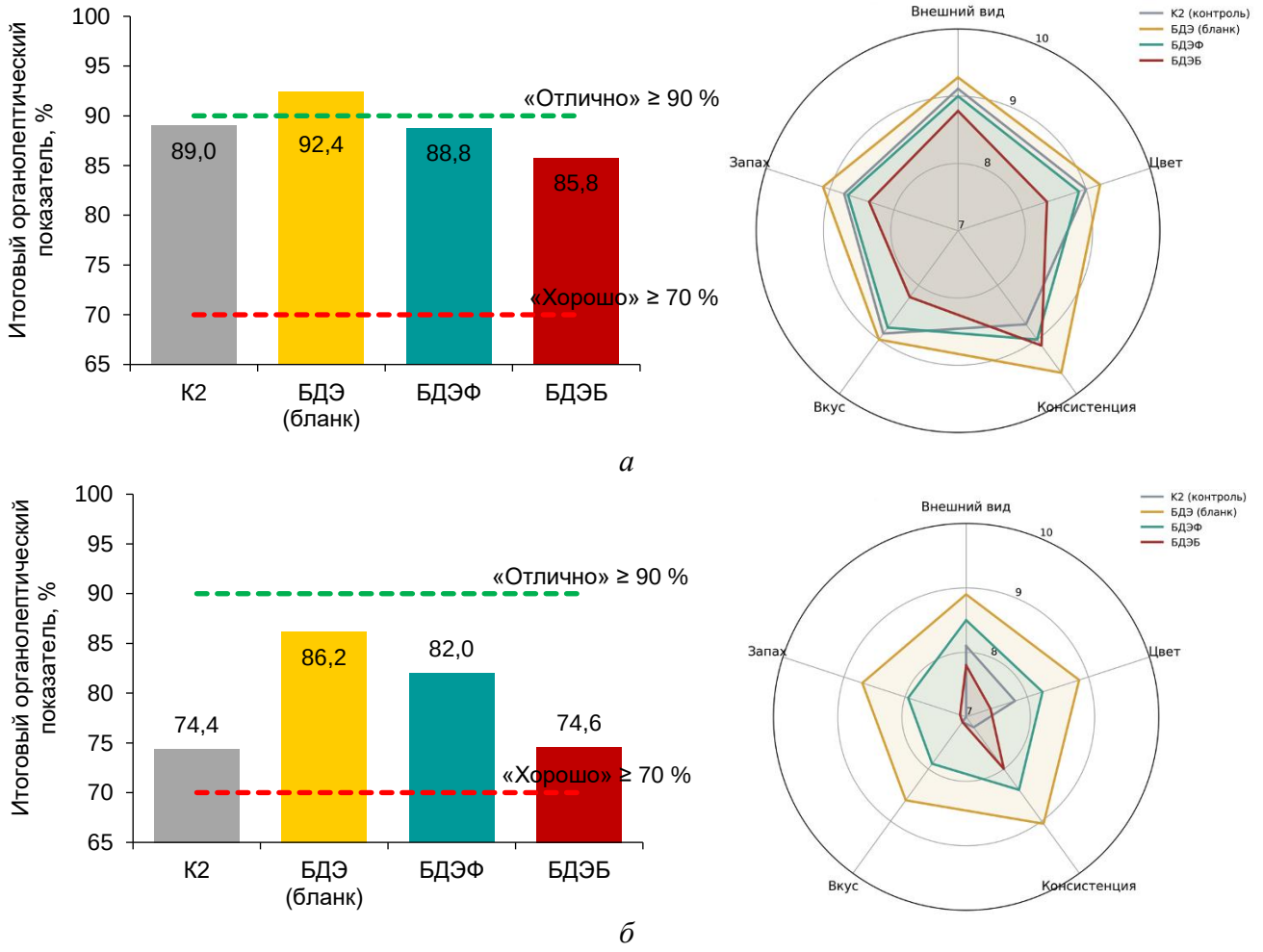


Рисунок 27 – Результаты дегустационной оценки фортифицированного мягкого сыра:
а – в начале хранения; *б* – в конце хранения (30-е сутки)
(*M* ± *SD*, *n* = 9 экспертов; единая шкала 0–10 баллов по каждому показателю)

На 15-е сутки хранения итоговые баллы распределились следующим образом: К2 – 8,30; БДЭ (бланк) – 9,09 (градация качества «отлично»); БДЭФ – 8,66; БДЭБ – 8,18. К 30-м суткам произошло более выраженное снижение органолептических показателей: значения контроля К2 снизились до 7,44 балла, БДЭ (бланк) – до 8,62, БДЭФ – до 8,20, БДЭБ – до 7,46. Стоит отметить, что образец БДЭ (бланк) на всем протяжении хранения стабильно был лучше контроля (К2). Это свидетельствует о том, что двойная эмульсия помогает дольше сохранять консистенцию и структуру продукта. Даже с учетом того, что для мягких сыров характерны окислительные изменения и постепенная утрата свежести, к завершению 30-х суток все обогащенные образцы все равно набрали больше 7 баллов. Это подтверждает, что эмульсионная

система достаточно устойчива и способна защищать органолептические свойства продукта во время хранения.

Образец, обогащенный двойной эмульсией с фукоиданом (БДЭФ), получил итоговый балл 8,88 (градация качество «хорошо»), практически совпав с контролем К2 (8,9 балла). По всем пяти атрибутам различия с контролем статистически незначимы ($p > 0,05$): внешний вид – 9,00; цвет – 8,89; консистенция – 9,00; вкус – 8,78; запах – 8,72. Незначительное снижение итогового балла относительно «бланкового» образца БДЭ объясняется тем, что включение сульфатированного полисахарида в водную фазу эмульсии слегка изменяет реологические свойства системы и вносит едва уловимый специфический привкус, характерный для морских полисахаридов. Тем не менее фукоидан не оказывает выраженного отрицательного воздействия на органолептику, что подтверждается сохранением всех показателей на уровне контроля и высоким качеством продукта в целом.

Образец с берберином (БДЭБ) показал наименьший итоговый балл – 8,58, оставаясь при этом в градации качество «хорошо». Статистически значимое снижение относительно контроля выявлено по двум атрибутам: цвет (8,39 против 9,00 у К2; $p < 0,05$) и вкус (8,22 против 8,89; $p < 0,05$). Снижение оценки по цвету обусловлено характерным желтым оттенком берберина, придающим сыру нехарактерный колер, тогда как уменьшение балла по вкусу связано с проявлением легкой горечи изохинолинового алкалоида. Показатели внешнего вида (8,78), консистенции (9,11) и запах (8,39) достоверно не отличались от контроля ($p > 0,05$); при этом консистенция, как и у остальных образцов с двойной эмульсией, оставалась на высоком уровне. Сохранение градации качество «хорошо» при внесении берберина свидетельствует об эффективности инкапсуляции в системе $W_1/O/W_2$ как о технологии частичного маскирования нежелательных сенсорных эффектов алкалоида.

Органолептический профиль образца БДЭ образует наибольший по площади пятиугольник, что наглядно отражает его превосходство, наиболее выраженное по оси «консистенция» (9,61). Контрольный образец К2 демонстрирует ровный, сбалансированный профиль со значениями в диапазоне 8,72–9,11. Профиль образца БДЭФ практически совпадает с контролем, тогда как профиль БДЭБ

характеризуется умеренным снижением по осям «цвет» и «вкус». Сопоставление органолептических профилей показывает, что внесение активных компонентов в систему $W_1/O/W_2$ несколько изменяет конфигурацию пятиугольника, однако в целом профили всех обогащенных образцов сохраняют высокие значения по всем атрибутам.

По результатам дегустационной оценки установлено, что наилучший органолептический профиль демонстрирует образец мягкого сыра с «бланковой» двойной эмульсией (9,24 балла, категория «отлично»), у которого зафиксировано статистически значимое улучшение консистенции относительно контроля ($p < 0,05$). Образцы, обогащенные действующими веществами, отнесены к градации качество «хорошо»: БДЭФ (8,88 балла) практически не отличается от контроля, а БДЭБ (8,58 балла) характеризуется умеренным снижением оценок по цвету и вкусу вследствие собственных свойств берберина. Все исследованные образцы сохраняли высокие потребительские характеристики на протяжении всего срока хранения (включая 30 сут), что подтверждает целесообразность применения технологии двойной эмульсии для создания функционального мягкого сыра с сохраненными органолептическими свойствами.

Исследование динамики изменений физико-химических показателей модельных образцов сырных пищевых систем при хранении. Физико-химический состав мягкого сыра анализировали по стандартным методикам, результаты представлены в таблице 29. Включение двойных эмульсий $W_1/O/W_2$ в сырную матрицу достоверно повлияло на массовую долю влаги, активную и титруемую кислотность, а также на синерезис при сохранении белкового и минерального состава ($p < 0,05$).

Массовая доля влаги достоверно возросла во всех образцах с эмульсиями по сравнению с контролем К2 ((58,0 ± 0,6) %); наибольшее увеличение зафиксировано у БДЭФ – (60,4 ± 0,7) % (Δ = +2,40 абс. %; $p < 0,05$). Данный эффект обусловлен гидрофильной природой фукоидана – сульфатированного полисахарида, формирующего водородные связи с боковыми цепями казеина и удерживающего значительные объемы сыворотки в структуре геля.

Таблица 29 – Результаты оценки физико-химических показателей мягкого сыра ($M \pm SD$, $n = 3$)

Показатель	Образец	Длительность хранения, сут		
		0	7	15
Массовая доля влаги, %	К2 (контроль)	58,00 ± 0,60	56,50 ± 0,55	55,00 ± 0,60
	Сыр БДЭ	59,60 ± 0,60	58,30 ± 0,55	57,00 ± 0,60
	Сыр БДЭФ	60,40 ± 0,70	59,30 ± 0,60	58,20 ± 0,65
	Сыр БДЭБ	59,20 ± 0,60	58,00 ± 0,55	56,80 ± 0,60
Синерезис, %	К2 (контроль)	10,20 ± 0,20	13,50 ± 0,30	16,50 ± 0,35
	Сыр БДЭ	9,10 ± 0,20	11,80 ± 0,28	14,00 ± 0,32
	Сыр БДЭФ	8,10 ± 0,20	10,20 ± 0,25	12,00 ± 0,30
	Сыр БДЭБ	8,90 ± 0,20	11,00 ± 0,26	13,20 ± 0,31
pH	К2 (контроль)	6,25 ± 0,03	5,95 ± 0,04	5,75 ± 0,04
	Сыр БДЭ	6,33 ± 0,03	6,02 ± 0,04	5,82 ± 0,04
	Сыр БДЭФ	6,46 ± 0,03	6,18 ± 0,03	5,98 ± 0,04
	Сыр БДЭБ	6,56 ± 0,02	6,28 ± 0,03	6,08 ± 0,04
Титруемая кислотность, °Т	К2 (контроль)	22,0 ± 0,40	25,5 ± 0,45	28,5 ± 0,50
	Сыр БДЭ	21,0 ± 0,40	24,2 ± 0,45	27,0 ± 0,50
	Сыр БДЭФ	19,0 ± 0,30	21,8 ± 0,35	24,5 ± 0,40
	Сыр БДЭБ	18,0 ± 0,30	20,8 ± 0,35	23,4 ± 0,40
Белок, %	К2 (контроль)	18,20 ± 0,30	18,30 ± 0,30	18,45 ± 0,30
	Сыр БДЭ	19,00 ± 0,30	19,20 ± 0,30	19,40 ± 0,30
	Сыр БДЭФ	19,10 ± 0,30	19,30 ± 0,30	19,50 ± 0,30
	Сыр БДЭБ	18,20 ± 0,30	18,50 ± 0,30	18,60 ± 0,30
Массовая доля соли (NaCl), %	К2 (контроль)	3,20 ± 0,08	3,80 ± 0,10	4,30 ± 0,12
	Сыр БДЭ	3,15 ± 0,08	3,70 ± 0,10	4,15 ± 0,12
	Сыр БДЭФ	3,12 ± 0,08	3,65 ± 0,10	4,05 ± 0,12
	Сыр БДЭБ	3,25 ± 0,08	3,85 ± 0,10	4,35 ± 0,12

Активная кислотность (pH) всех образцов соответствовала диапазону свежего мягкого сыра (6,2–6,6); наибольшее значение установлено для БДЭБ – (6,56 ± 0,02) против (6,25 ± 0,03) у К2 ($p < 0,05$). Параллельно у БДЭФ и БДЭБ зафиксировано снижение титруемой кислотности до (19,0 ± 0,3) и (18,0 ± 0,3) °Т соответственно (у К2 (22,0 ± 0,40) °Т; $p < 0,05$), что объясняется буферирующим действием компонентов эмульсии: фукоидан (pKa сульфатных групп ≈ 1,5–2,5) и бер-

берин (pKa ≈ 8,06) частично нейтрализуют протоны, умеряя закисление белково-жировой матрицы.

Синерезис во всех образцах с эмульсиями был заметно ниже контроля: минимальное значение зафиксировано у БДЭФ ((8,1 ± 0,2) %), у БДЭБ – (8,9 ± 0,2) %, у БДЭ – (9,1 ± 0,2) % по сравнению с (10,2 ± 0,2) % у К2 ($p < 0,05$ во всех случаях). Снижение синерезиса обусловлено тем, что диспергированные капли $W_1/O/W_2$ дополнительно укрепляют казеиновую сетку и сдерживают отделение сыворотки при хранении; аналогичное защитное действие структурированных эмульсий описано для молочных гелей. Содержание белка (18,2–19,1 %), золы (1,35–1,48 %) и массовая доля соли (3,12–3,47 %) между образцами достоверно не различались и оставались в пределах нормативов для мягких сыров, что указывает на отсутствие нарушений коагуляции казеина при внесении эмульсий. Таким образом, введение двойных эмульсий улучшает удержание влаги и снижает синерезис, не изменяя белковый и минеральный состав сырной матрицы.

Образцы хранили в герметичном контейнере в рассоле (5 % NaCl), полностью покрывающем сыр, при (4 ± 1) °C в течение 30 сут; контрольные точки – 0; 15 и 30 сут. В процессе хранения во всех образцах наблюдалось закономерное снижение массовой доли влаги и активной кислотности (pH) при одновременном росте титруемой кислотности, синерезиса и массовой доли соли, что отражает продолжающееся созревание, постепенное просаливание и обезвоживание сырной матрицы в рассоле. При этом образцы, содержащие двойные эмульсии, во всех контрольных точках сохраняли более высокое влагоудержание и достоверно меньший синерезис по сравнению с контролем К2, а содержание белка оставалось практически стабильным (относительное увеличение обусловлено концентрированием сухих веществ при потере влаги и просаливании).

Биоактивные показатели обогащенного мягкого сыра. Свойство биоактивности для модельных образцов мягкого сыра оценивали по трем ключевым параметрам: содержанию суммарных полифенолов *TPC* (метод Фолина – Чокальтеу, λ = 760 нм, стандарт – галловая кислота, мкг ГАЭ/мл), эффективности инкапсуляции (*EE*, %) и антиоксидантной активности (АОА, % ингибирования DPPH).

При закладке на хранение содержание полифенолов в исходных оптимизированных эмульсиях превышало контроль К2 ((363,71 ± 18,70) мкг ГАЭ/мл): для эмульсии с фукоиданом – (490,42 ± 19,07) мкг ГАЭ/мл, для эмульсии с берберином – (421,25 ± 31,74) мкг ГАЭ/мл (см. параграф 3.4). В готовых сырах *TPC* составило (426,98 ± 21,15) мкг ГАЭ/мл у БДЭФ и (415,59 ± 10,60) мкг ГАЭ/мл у БДЭБ; оба образца достоверно превышали контроль ($p < 0,05$), однако уступали исходным эмульсиям, что обусловлено частичным связыванием полифенолов с белково-жировой матрицей сыра при формовании. Динамика содержания полифенолов при хранении представлена на рисунке 28*а*.

В процессе 30-суточного хранения содержание суммарных полифенолов снижалось во всех образцах вследствие естественного окисления и деградации фенольных соединений. Принципиально важно, что в сырной матрице деградация протекала существенно медленнее, чем в исходных эмульсиях: к 30-м суткам *TPC* образцов БДЭФ и БДЭБ снизилось лишь в 1,07 раза, тогда как в исходных эмульсиях с фукоиданом и берберином – в 1,32 и 1,83 раза соответственно. Полученный результат подтверждает, что казеиновая белковая матрица выполняет самостоятельную протективную функцию в отношении инкапсулированных БАВ, дополняя барьерное действие двойной эмульсии; данный эффект согласуется со способностью казеиновых мицелл связывать и стабилизировать гидрофобные соединения, рассмотренной в пункте 1.2.2.

Эффективность инкапсуляции при закладке на хранение достигала наибольшего значения у образца БДЭФ – (87,57 ± 1,5) % (у К2 (81,7 ± 1,0) %; исходная эмульсия с фукоиданом – 80,06 %, см. параграф 3.4). Превышение *EE* готового сыра над эффективностью инкапсуляции исходной эмульсии обусловлено дополнительной иммобилизацией полифенолов вследствие взаимодействия фукоидана с гидрофобными участками казеиновых мицелл, формирующего дополнительный барьер высвобождения. К концу срока хранения *EE* снижалась до 69,83 % (БДЭФ, 21-е сутки) и 61,48 % (БДЭБ, 30-е сутки), что свидетельствует о большей стабильности полисахаридной (фукоидановой) инкапсулирующей матрицы по сравнению с берберинсодержащей. Динамика *EE* при хранении представлена на рисунке 28*б*.

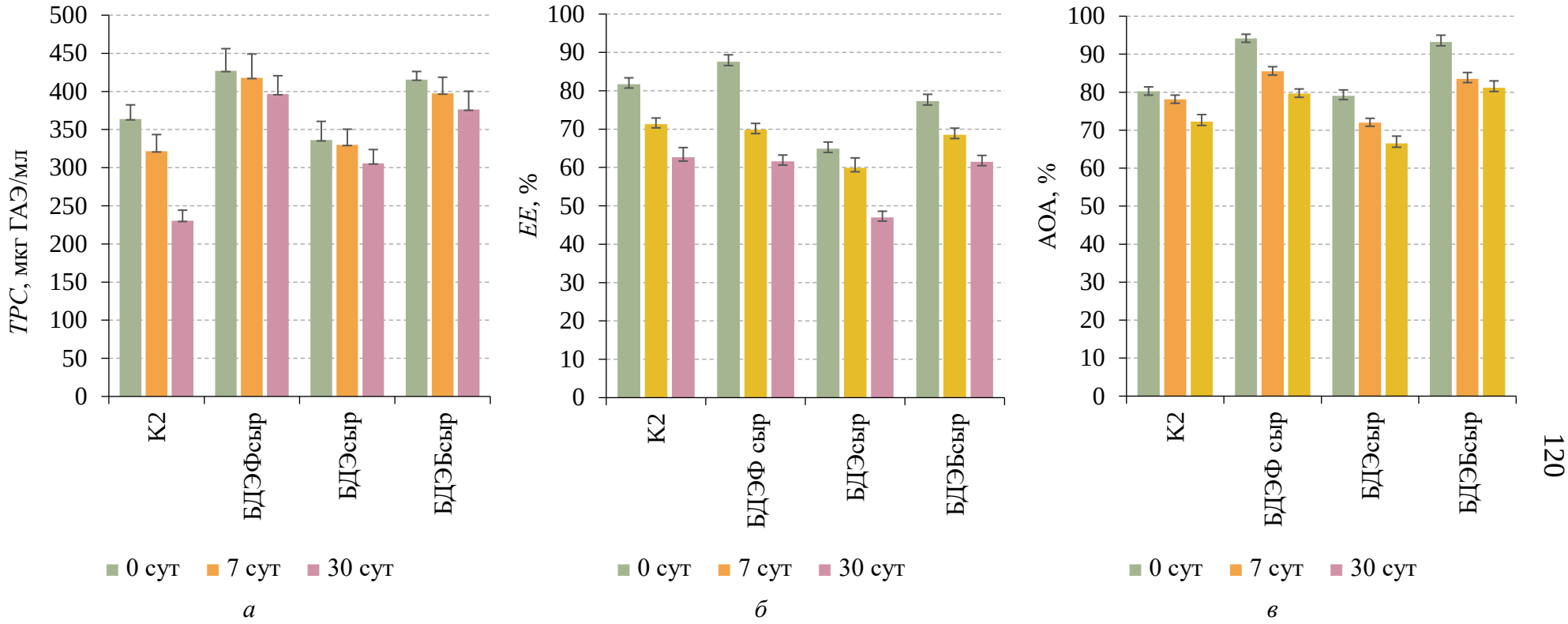
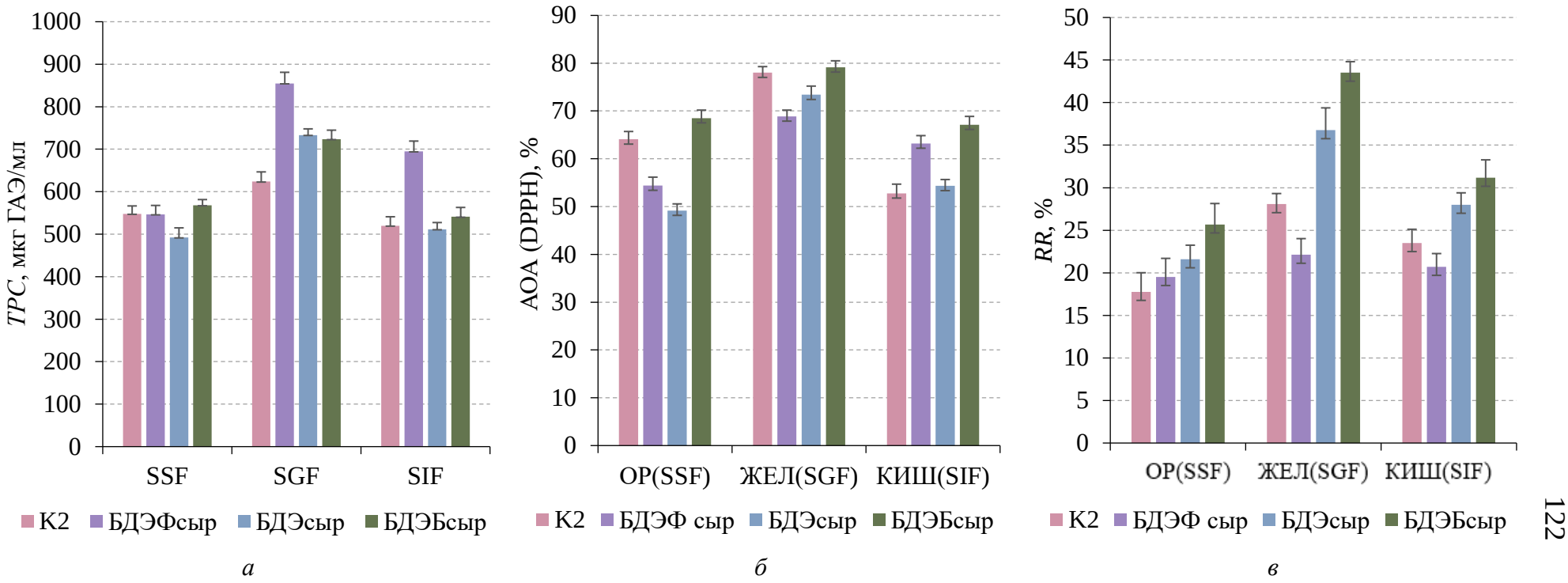


Рисунок 28 – Результаты оценки биоактивных показателей в образцах мягкого сыра при хранении:
а – содержание суммарных полифенолов; *б* – эффективность инкапсуляции; *в* – АОА

Антиоксидантная активность при закладке на хранение достоверно превышала значение контроля К2 (80,21 ± 1,17) % во всех обогащенных образцах: БДЭФ – (94,12 ± 1,11) %, БДЭБ – (93,18 ± 1,81) % ($p < 0,05$). Превышение АОА готового сыра БДЭФ над исходной фукоидановой эмульсией ((92,43 ± 1,24) %, см. параграф 3.4) согласуется с данными по *EE* и обусловлено дополнительным антирадикальным вкладом казеиновых пептидов, высвобождаемых при кислотно-сычужной коагуляции. В процессе хранения АОА прогрессивно снижалась во всех образцах, однако функциональные сыры достоверно превосходили контроль в процессе хранения, что подтверждает эффективность инкапсуляции для долгосрочного сохранения антиоксидантных свойств. Динамика АОА представлена на рисунке 28*в*.

Биодоступность полифенолов мягкого сыра при статическом моделировании пищеварения (INFOGEST). Биодоступность биоактивных компонентов из матрицы мягкого сыра оценивали по стандартизированному протоколу статического *in vitro* пищеварения INFOGEST 2.0, последовательно моделирующему ротовую (SSF), желудочную (SGF) и кишечную (SIF) фазы. На каждой стадии определяли содержание суммарных полифенолов (*TPC*, мкг ГАЭ/мл), антиоксидантную активность (по ингибированию DPPH, %) и коэффициент восстановления полифенолов (*RR*, %) при закладке на хранение и на 15-е сутки хранения. Методология и обоснование протокола INFOGEST приведены в параграфе 1.2, сопоставимые данные для оптимизированных эмульсий – в пункте 3.2.2.

Аналогично результатам, полученным для йогурта (см. пункт 4.2.1), в матрице мягкого сыра зафиксирован выраженный эффект «желудочного усиления». Содержание суммарных полифенолов при закладке на хранение в образце БДЭФ после желудочной фазы достигало (854,79 ± 24,39) мкг ГАЭ/мл, что соответствует приросту 100,2 % по сравнению со значением для непереваренного образца ((426,98 ± 21,15) мкг ГАЭ/мл). Изменение *TPC* во всех фазах при закладке на хранение и 15-е сутки отражено на рисунках 29*а* и 30*а*. В кишечной фазе значение *TPC* снижалось на 15–22 % относительно SGF вследствие деградации фенольных структур под действием панкреатина и желчных солей. Наблюдаемое усиление высвобождения в желудочной фазе согласуется с двухфазным профилем высвобождения БАВ из систем $W_1/O/W_2$ (см. параграф 1.2).



а *б* *в*

Рисунок 29 – Изменение содержания суммарных полифенолов (*а*), антиоксидантной активности (*б*) и коэффициента восстановления полифенолов (*в*) образцов мягкого сыра в процессе моделируемого желудочно-кишечного пищеварения по протоколу INFOGEST 2.0 (при закладке на хранение)

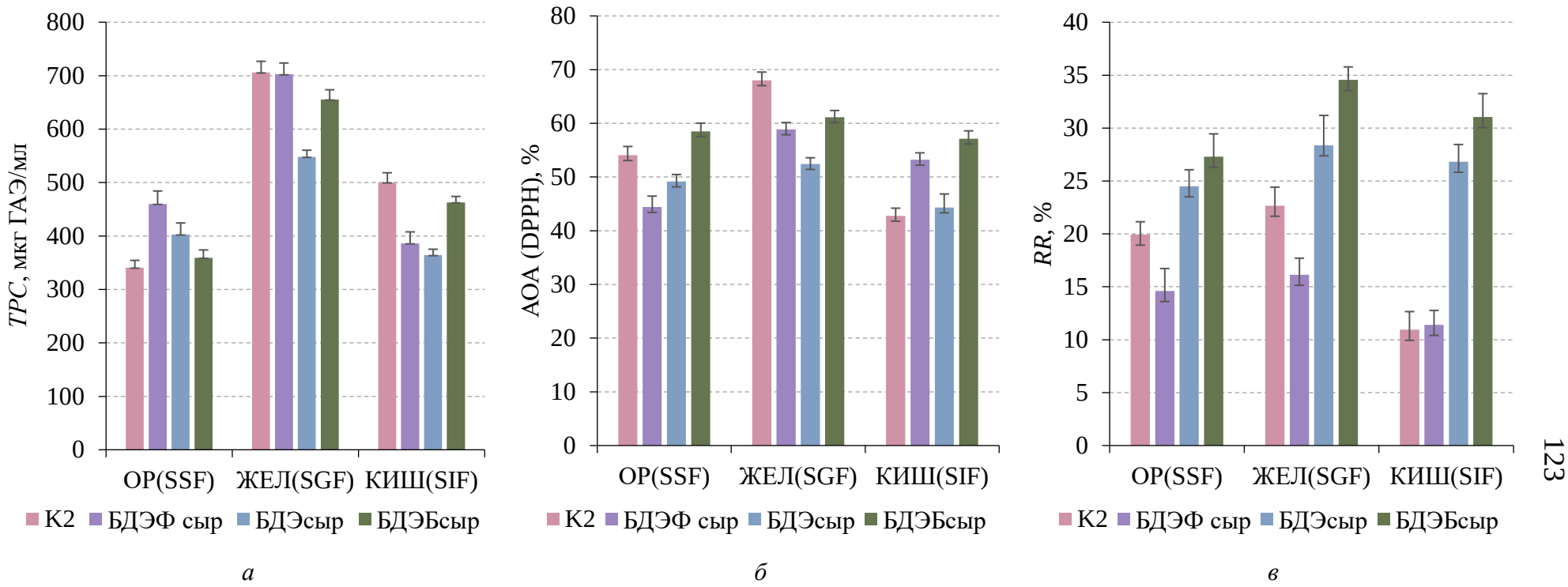


Рисунок 30 – Изменение содержания суммарных полифенолов (*а*), антиоксидантной активности (*б*) и коэффициента восстановления полифенолов (*в*) образцов мягкого сыра в процессе моделируемого желудочно-кишечного пищеварения по протоколу INFOGEST 2.0 (15-е сутки)

Наблюдаемые эффекты обусловлены кислотным протонным катализом (pH ≈ 2–3) и протеолитическим действием пепсина, разрывающими сложноэфирные связи фенольных соединений и переводящими связанные полифенолы в свободную, аналитически определяемую форму.

Антиоксидантная активность (по ингибированию DPPH, %) по фазам пищеварения демонстрировала паттерн, коррелирующий с динамикой *TPC*: снижение в ротовой фазе, усиление в желудочной и повторное снижение в кишечной. При закладке на хранение в желудочной фазе (SGF) АОА составляла: К2 – (78,02 ± 1,26) %, БДЭФ – (68,87 ± 1,31) %, БДЭБ – (79,13 ± 1,36) %; более высокое значение у образца БДЭБ согласуется с его максимальным коэффициентом восстановления в этой фазе. К 15-м суткам абсолютные значения снижались, однако обогащенные образцы сохраняли достоверное превосходство над контролем в кишечной фазе: БДЭФ – (53,20 ± 1,42) %, БДЭБ – (57,13 ± 1,46) % (К2 – (42,78 ± 1,42) %; $p < 0,05$). Сохранение высокой АОА в кишечной фазе к 15-м суткам свидетельствует о пролонгированной функциональности двойной эмульсии. Результаты представлены на рисунках 29*б* и 30*б*.

Коэффициент восстановления полифенолов варьировал в диапазоне 10–43 %, что согласуется с литературными данными для сложных пищевых матриц. Наибольшее значение *RR* зафиксировано у образца БДЭБ в желудочной фазе – (43,51 ± 1,30) % при закладке на хранение. Данная закономерность обусловлена катионной природой берберина: при pH ≈ 2–3 алкалоид переходит в протонированное состояние, его растворимость в кислой желудочной среде возрастает, что ускоряет высвобождение из внутренней фазы W_1 (согласуется с электронным строением берберина, установленным методом DFT, см. параграф 3.1). Несмотря на умеренные абсолютные значения *RR*, двойная эмульсионная система обеспечивает направленное высвобождение полифенолов преимущественно в желудочной фазе – на этапе, критически важном для их биодоступности. Результаты представлены на рисунках 29*в* и 30*в*.

ИК-спектроскопический анализ мягкого сыра (FTIR). Метод инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием (FTIR) применяли для идентификации основных функциональных групп и оценки изменений структуры белково-жировой матрицы сыра при внесении двойных эмульсий. В спектрах всех образцов выявлены четыре характеристические полосы поглощения. Полоса при 3435 $см^{-1}$, соответствующая валентным колебаниям групп −OH и −NH, отражает наличие межмолекулярных водородных связей между белками и водой; у образца БДЭБ ее интенсивность заметно превышала контроль К2, что указывает на дополнительные взаимодействия протонированного берберина с пептидными NH-группами казеина. Данное наблюдение согласуется с результатами DFT-моделирования (см. параграф 3.1), установившего электростатическое и водородное связывание берберина с казеиновыми компонентами. Полосы при 2926 и 2852 $см^{-1}$ отвечают валентным колебаниям связей C−H в метильных ($-CH_3$) и метиленовых ($-CH_2$) группах белков и липидов, полоса при 1745 $см^{-1}$ – колебаниям карбонильных групп C=O триглицеридов жировой фазы.

Полосы амидов I и II в области 1650–1540 $см^{-1}$, обусловленные колебаниями пептидных связей C=O и −NH, характеризуют вторичную структуру белков сыра; отсутствие в этой области заметных изменений свидетельствует о сохранении нативной конформации казеина при внесении эмульсий. Полоса амида III (1240 $см^{-1}$) использована для оценки соотношения α-спиральных и β-складчатых структур белковой матрицы, полосы в области 1170–1100 $см^{-1}$ отнесены к валентным колебаниям C−O липидов и углеводов, а сигнал при 725 $см^{-1}$ – к колебаниям гликозидных связей фукоидана. Отсутствие в спектрах образцов БДЭФ и БДЭБ по сравнению с контролем существенных сдвигов полос или появления новых сигналов свидетельствует об отсутствии ковалентного взаимодействия между биоактивными компонентами и сырной матрицей, а также о сохранении структурной целостности продукта. Полученные данные подтверждают, что двойная эмульсия обеспечивает физическую (нековалентную) иммобилизацию БАВ, что согласуется с концепцией межфазной инкапсуляции, рассмотренной в пункте 1.2.2. Инфракрасные спектры образцов представлены на рисунке 31.

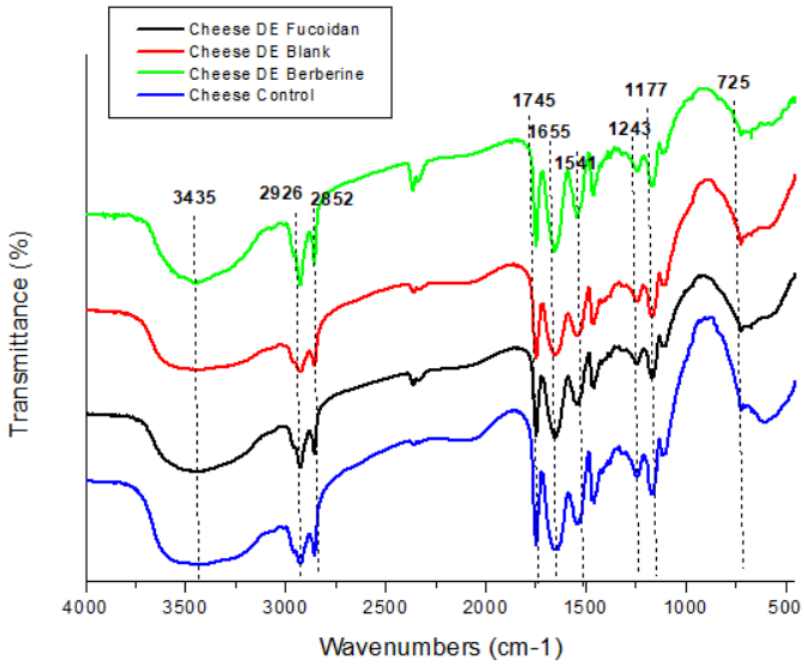


Рисунок 31 – Инфракрасные спектры образцов обогащенных мягких сыров

Оценка токсикологической безопасности мягкого сыра. Токсикологическую безопасность образцов обогащенного функционального мягкого сыра оценивали методом биотестирования на инфузориях *Paramecium caudatum* – общепринятым экспресс-методом скрининга острой цитотоксичности пищевых матриц, позволяющим выявить ингибирование роста или гибель клеток тест-объектов как интегральный показатель токсического воздействия продукта.

Начальная численность инфузорий во всех вариантах составляла 120–130 кл/мл. По истечении 24 ч численность клеток достоверно возрастала во всех образцах: БДЭБ – (162 ± 10) кл/мл (выживаемость 126,5 %), БДЭ – (159 ± 10) кл/мл (122,3 %), К2 – (138 ± 9) кл/мл (115,0 %), БДЭФ – (135 ± 8) кл/мл (110,7 %). Выживаемость во всех вариантах превышала 100 % (диапазон 110,7–126,5 %), что однозначно свидетельствует об отсутствии острого цитотоксического воздействия; наблюдаемая стимуляция пролиферации *P. caudatum* в образцах БДЭБ и БДЭ может указывать на трофическую роль липидных и белковых компонентов сыра в среде биотеста.

Полученные результаты согласуются с данными о безопасности полисахарида фукоидана и алкалоида берберина при включении в биоактивные сырные пи-

щевые системы в нетоксичных концентрациях (см. пункт 1.2.1), а также с результатами ADME-профилирования берберина, обосновавшими его благоприятный профиль безопасности (см. параграф 3.2). Все образцы отнесены к категории «нетоксичные» (выживаемость более 100 %), что подтверждает пригодность разработанных функциональных сыров для дальнейших исследований в соответствии с требованиями международных стандартов безопасности пищевых ингредиентов.

Заключение по главе 4

В рамках четвертой главы диссертационной работы представлен массив данных комплексного исследования молочных пищевых систем (йогурта и мягкого сыра), фортифицированных биоактивными двойными эмульсиями типа $W_1/O/W_2$, содержащими фукоидан (БДЭ-Ф) и берберин (БДЭ-Б). По результатам работы сформирована научно-технологическая база, обосновывающая возможность получения функциональных кисломолочных продуктов с доказанными метаболическими свойствами, высокой сохранностью активных компонентов и приемлемыми потребительскими характеристиками.

Физико-химические и структурно-реологические свойства разработанных биоактивных кисломолочных продуктов в зависимости от инкапсулированного в двойную эмульсию биоактивного вещества имеют различия. Сравнение матриц показало, что по содержанию влаги и характеру формирования структуры они сильно различаются: йогурт с БДЭ-Ф имел высокую вязкость (до 1,547 сП), что связано со структурирующим действием сульфатированного фукоидана. В образцах йогуртов с БДЭ-Ф и БДЭ-Б синерезис существенно уменьшился: с 26,67 % до 10,67 %. В мягком сыре БДЭФ обеспечила наибольшее удержание влаги – 60,4 % (по сравнению с 58,0 % у контроля К2) и самые низкие показатели синерезиса на протяжении 30 сут хранения.

Оценка биодоступности по протоколу INFOGEST 2.0 в статической *in vitro* модели пищеварения показала, что обе кисломолочные матрицы заметно реагировали в желудочной фазе. При кислом гидролизе в условиях pH 2,0–3,0 и под действием пепсина связанные полифенолы активно высвобождались. Наибольшее абсолютное количество *TPC* в желудочной фазе отмечено у йогурта БДЭБ5 – (871,64 ± 42,3) мкг ГАЭ/мл. Установлено продолжительное высвобождение фенольных соединений, а самый высокий коэффициент восстановления полифенолов в желудочной фазе был у мягкого сыра БДЭБ – (43,51 ± 1,3) %.

Приведенные данные показывают, что технология двойной эмульсии пригодна для целевой доставки БАВ в соответствующие отделы организма человека, помогает удержать приемлемые органолептические качества и частично сглаживает нежелательные вкусовые и сенсорные эффекты активных веществ. Поэтому данную технологию можно считать удачным решением для промышленного производства функциональных продуктов профилактического назначения.

5 Оценка экономической эффективности, результаты производственной апробации и требования нормативной документации

Разработанная технология биоактивных двойных эмульсий и обогащенных на их основе кисломолочных продуктов может быть признана состоятельной только при подтверждении ее экономической целесообразности и воспроизводимости в промышленных условиях. В настоящей главе последовательно решены три задачи: рассчитана себестоимость биоактивных двойных эмульсий и обогащенных продуктов, оценены показатели экономической эффективности их производства, обобщены результаты производственной апробации и сформирован комплект нормативной документации.

5.1 Исходные данные и методика расчета

Расчет выполнен применительно к условиям предприятия молочной отрасли при режиме работы 250 смен в год и продолжительности смены 8 ч. Себестоимость определяли методом прямого калькулирования по статьям затрат с раздельным учетом прямых материальных затрат и затрат на переработку. Цены на сырье и материалы приняты по прайс-листам поставщиков, использованных в экспериментальной части работы; нормы расхода молока и дозировка биоактивной двойной эмульсии – по разработанным технологическим инструкциям и результатам четвертой главы.

Исходные данные и принятые допущения приведены в таблице 30.

Таблица 30 – Исходные данные и принятые допущения для экономического расчета

Показатель	Значение	Источник, обоснование
Режим работы предприятия, смен/год	250	Принято
Продолжительность смены, ч	8	Принято
Выработка в смену, кг:		
– БДЭ	500	Принято
– йогурта	1 000	Принято
– мягкого сыра	500	Принято
Норма расхода молока на йогурт, кг/кг	0,9	ТИ 3.110.01006-2026
Норма расхода молока на мягкий сыр, кг/кг	7,0	ТИ 3.199.01005-2026
Дозировка БДЭ в продукте, % от массы	5,0	Параграф 4.2
Цена за 1 кг, р.:		
– молока коровьего	200,00	Прайс поставщика
– фукоидана	20 000	Health Way, Китай
– берберина	19 000	ООО «АФ ФАРМ», Россия
– масла подсолнечного рафинированного	120,00	Прайс поставщика
– ПГПР (Е476)	600,00	Прайс поставщика
– полисорбата 80	500,00	Прайс поставщика
– соли поваренной пищевой	15,00	Прайс поставщика
Месячный оклад основного рабочего, р.	62 500	Штатное расписание
Тарифная ставка за смену (250 смен в год), р.	3 000	Расчет
Численность персонала, чел.:		
– на участке приготовления БДЭ	2	Штатное расписание
– на йогуртовом участке	2	Штатное расписание
– на участке мягкого сыра	4	Штатное расписание
Общепроизводственные расходы, % от ФОТ	30	Принято
Тариф на электроэнергию (за 1 кВт·ч), р/	8,50	Энергосбытовая организация
Удельный расход электроэнергии, кВт·ч/кг:		
– БДЭ	0,25	Паспорт оборудования
– йогурт	0,25	Паспорт оборудования
– мягкий сыр	1,05	Паспорт оборудования
Стоимость оборудования участка БДЭ, р.	2 500 000	Коммерческие предложения
Стоимость йогуртовой линии, р.	6 000 000	Коммерческие предложения
Стоимость линии мягкого сыра, р.	8 000 000	Коммерческие предложения
Срок полезного использования оборудования, лет	10	5-я амортизационная группа
Отпускная цена, р/кг:		
– обогащенного йогурта	297,00	Анализ рынка
– традиционного йогурта	240,00	Анализ рынка
– обогащенного мягкого сыра	1 812,25	Анализ рынка
– традиционного мягкого сыра	1 750,00	Анализ рынка
Отчисления на социальные нужды, %	30,2	НК РФ, гл. 34

Затраты на оплату труда рассчитаны исходя из месячного должностного оклада основного рабочего 62 500 р., что в 2,3 раза превышает минимальный размер оплаты труда и соответствует сложившемуся уровню оплаты операторов пищевых производств. При годовом фонде рабочего времени 250 смен тарифная ставка составляет: 62 500 × 12 / 250 = 3000 р. за смену на одного работника.

Участок приготовления биоактивной двойной эмульсии обслуживают два работника при сменной выработке 500 кг эмульсии. Следовательно, на выработку 1000 кг эмульсии затрачивается две смены, а фонд оплаты труда основных рабочих составляет: 2 смены × 2 чел. × 3000 р. = 12 000 р. на 1000 кг; отчисления на социальные нужды по ставке 30,2 % – 3624 р.

Амортизационные отчисления рассчитаны линейным способом. Стоимость оборудования участка приготовления эмульсии – ультразвуковой установки проточного типа, реактора-эмульгатора с рубашкой охлаждения, дозирующего насоса, емкостей для подготовки фаз, а также монтажа и пусконаладки – принята равной 2 500 000 р. При сроке полезного использования 10 лет, установленном для технологического оборудования пищевой промышленности пятой амортизационной группы, годовая сумма амортизации составляет 250 000 р. Годовая выработка эмульсии при сменной производительности 500 кг и 250 сменах в году равна 125 т, откуда амортизационные отчисления составляют: 250 000 / 125 = 2000 р. на 1000 кг эмульсии.

Затраты на энергоресурсы определены по удельному расходу электроэнергии, учитывающему работу ультразвукового генератора на обеих стадиях эмульгирования, системы охлаждения и вспомогательного оборудования: 0,25 кВт·ч на 1 кг эмульсии при тарифе 8,50 р. за 1 кВт·ч, что составляет 2125 р. на 1000 кг. Общепроизводственные расходы приняты в размере 30 % от фонда оплаты труда с отчислениями.

Показатели экономической эффективности рассчитывали по общепринятым зависимостям: прибыль на единицу продукции – как разность отпускной цены и полной себестоимости; рентабельность – как отношение прибыли к полной себестоимости; точку безубыточности – как отношение постоянных затрат смены

к маржинальному доходу на единицу продукции; запас финансовой прочности – как отношение разности планового объема выпуска и объема безубыточности к плановому объему. Срок окупаемости дополнительных капитальных вложений определяли по приросту прибыли обогащенного продукта относительно традиционного аналога.

5.2 Расчет себестоимости биоактивных двойных эмульсий

Нормы расхода компонентов определены по рецептуре, приведенной в таблице 21. При соотношении фаз W_1:O = 40:60 и W_1/O:W_2 = 50:50 на 1000 кг готовой эмульсии приходится 500 кг первичной эмульсии W_1/O, в том числе 200 кг внутренней водной и 300 кг масляной фазы, и 500 кг внешней водной фазы. Соответственно, расход фукоидана, вносимого в количестве 10 % от массы первичной эмульсии, составляет 50 кг на 1000 кг эмульсии, а расход берберина, вносимого в количестве 5 % от массы первичной эмульсии, – 25 кг. Результаты калькуляции представлены в таблице 31.

Таблица 31 – Калькуляция себестоимости биоактивных двойных эмульсий (на 1000 кг)

Статья затрат	Норма расхода, кг	Себестоимость, р.	
		БДЭ-Ф	БДЭ-Б
Биологически активное вещество	50,0 / 25,0	1 000 000	475 000
Масло подсолнечное рафинированное	292,5 / 267,5	35 100	32 100
PGPR (E476)	7,5	4 500	4 500
Полисорбат 80	5,0	2 500	2 500
Соль поваренная пищевая	2,0	30	30
Вода подготовленная	643,0 / 693,0	3 215	3 465
Итого прямые материальные затраты	1 000,0	1 045 345	517 595
Заработная плата основных рабочих	–	12 000	12 000
Отчисления на социальные нужды (30,2 %)	–	3 624	3 624

Продолжение таблицы 31

Статья затрат	Норма расхода, кг	Себестоимость, р.	
		БДЭ-Ф	БДЭ-Б
Энергоресурсы (НУЗВ, две стадии)	–	2 125	2 125
Амортизация оборудования	–	2 000	2 000
Общепроизводственные расходы (30 % ФОТ)	–	4 687	4 687
Итого затраты на переработку	–	24 436	24 436
Полная себестоимость, р.:			
– за 1000 кг	–	1 069 781	542 031
– за 1 кг	–	1 069,78	542,03
Доля БАВ в полной себестоимости, %	–	93,5	87,6

Примечание – Заработная плата приведена на выработку 1000 кг эмульсии, что при сменной производительности участка 500 кг соответствует двум сменам работы двух основных рабочих (2 × 2 × 3000 р.). Амортизация рассчитана линейным способом от стоимости оборудования участка 2 500 000 р. при сроке полезного использования 10 лет и годовой выработке 125 т.

Расчет показывает, что производство биоактивных двойных эмульсий отличается высокой материалоемкостью: на долю биологически активного вещества приходится 93,5 % полной себестоимости эмульсии с фукоиданом и 87,6 % – эмульсии с берберином. Затраты на переработку, включая двухстадийное ультразвуковое эмульгирование, составляют лишь 2,3 % и 4,5 % соответственно. Следовательно, сама технология получения эмульсии экономически необременительна, а определяющим фактором себестоимости выступает закупочная цена биологически активного вещества.

Себестоимость 1 кг эмульсии с берберином (542,03 р.) практически вдвое ниже себестоимости эмульсии с фукоиданом (1 069,78 р.). Различие обусловлено не ценой самих веществ (19 000 р. против 20 000 р. за 1 кг), а вдвое меньшей дозировкой берберина, установленной по результатам BBD-оптимизации: 5 % против 10 % от массы первичной эмульсии.

5.3 Расчет себестоимости обогащенных кисломолочных продуктов

Калькуляция обогащенных продуктов выполнена на 1 кг готовой продукции при дозировке биоактивной двойной эмульсии 5 % от массы продукта, обоснованной в параграфе 4.2. Затраты на оплату труда определены по той же тарифной ставке 3000 р. за смену: на йогуртовом участке при численности два человека и сменной выработке 1000 кг это составляет 6 р. за 1 кг, на участке мягкого сыра при численности четыре человека и сменной выработке 500 кг – 24 р. за 1 кг. Амортизация рассчитана линейным способом от стоимости соответствующих технологических линий (6 000 000 и 8 000 000 р.) при сроке полезного использования 10 лет и годовых объемах выпуска 250 и 125 т, что дает 2,4 и 6,4 р. за 1 кг. Для всех вариантов применена единая методика с раздельным учетом прямых материальных затрат и затрат на переработку. Результаты приведены в таблице 32.

Таблица 32 – Калькуляция себестоимости обогащенных кисломолочных продуктов, руб./кг

Статья затрат	Йогурт с БДЭ-Ф	Йогурт с БДЭ-Б	Сыр с БДЭ-Ф	Сыр с БДЭ-Б
Молоко коровье	180,00	180,00	1 400,00	1 400,00
Биоактивная двойная эмульсия (5 %)	53,49	27,10	53,49	27,10
Закваска и молокосвертывающий фермент	2,50	2,50	18,40	18,40
Хлорид кальция, соль	1,20	1,20	3,20	3,20
Итого прямые материальные затраты	237,19	210,80	1 475,09	1 448,70
Заработная плата основных рабочих	6,00	6,00	24,00	24,00
Отчисления на социальные нужды (30,2 %)	1,81	1,81	7,25	7,25
Энергоресурсы	2,13	2,13	8,93	8,93
Амортизация	2,40	2,40	6,40	6,40
Общепроизводственные расходы (30 % ФОТ)	2,34	2,34	9,38	9,38
Итого затраты на переработку	14,68	14,68	55,96	55,96
Полная себестоимость	251,87	225,48	1 531,05	1 504,66

Себестоимость мягкого сыра в шесть раз превышает себестоимость йогурта, что определяется нормой расхода молока (7,0 против 0,9 кг на 1 кг готового продукта) и не связано с вносимой эмульсией. Вклад биоактивной двойной эмульсии в полную себестоимость составляет 21,2 % для йогурта с БДЭ-Ф, 12,0 % для йогурта с БДЭ-Б и лишь 3,5 % и 1,8 % для соответствующих вариантов мягкого сыра. Таким образом, сырная матрица экономически менее чувствительна к введению дорогостоящего функционального ингредиента, что делает ее предпочтительной для фортификации.

5.4 Оценка экономической эффективности

На основании выполненных калькуляций рассчитаны показатели экономической эффективности производства обогащенных продуктов (таблица 33).

Таблица 33 – Показатели экономической эффективности производства обогащенных продуктов

Показатель	Йогурт с БДЭ-Ф	Йогурт с БДЭ-Б	Сыр с БДЭ-Ф	Сыр с БДЭ-Б
Полная себестоимость, р/кг	251,87	225,48	1 531,05	1 504,66
Отпускная цена, р/кг	297,00	297,00	1 812,25	1 812,25
Прибыль на 1 кг, р.	45,13	71,52	281,20	307,59
Рентабельность, %	17,9	31,7	18,4	20,4
Маржинальный доход, р/кг	57,68	84,07	328,23	354,62
Постоянные затраты (в смену), р.	12 550	12 550	23 515	23 515
Точка безубыточности:				
– кг в смену	218	149	72	66
– % от объема	21,8	14,9	14,3	13,3
Запас финансовой прочности, %	78,2	85,1	85,7	86,7
Годовой объем выпуска, т	250	250	125	125
Годовая прибыль, млн р.	11,28	17,88	35,15	38,45

Постоянные затраты смены приняты как сумма заработной платы с отчислениями, амортизации и общепроизводственных расходов; к переменным отнесены прямые материальные затраты и энергоресурсы.

Все четыре варианта продукции рентабельны. Наиболее высокие показатели обеспечивает йогурт с эмульсией на основе берберина: рентабельность 31,7 % при точке безубыточности 149 кг за смену, что составляет 14,9 % планового объема выработки, и запасе финансовой прочности 85,1 %. Варианты с фукоиданом уступают вариантам с берберином по всем показателям вследствие вдвое большей стоимости эмульсии. Запас финансовой прочности во всех вариантах превышает 78 %, что свидетельствует об устойчивости производства к снижению объемов реализации и колебаниям рыночной конъюнктуры.

Срок окупаемости дополнительных капитальных вложений в участок приготовления биоактивной двойной эмульсии (2 500 000 р.) рассчитан по приросту прибыли относительно традиционного продукта того же вида. Полная себестоимость традиционного йогурта при принятых допущениях составляет 198,38 р/кг при отпускной цене 240,00 р/кг, т. е. прибыль 41,62 р/кг; для традиционного мягкого сыра – 1 477,56 р/кг при цене 1 750,00 р/кг, т. е. прибыль 272,44 р/кг.

Прирост прибыли для йогурта составляет 3,51 р/кг в варианте с фукоиданом и 29,90 р/кг в варианте с берберином, что при годовом выпуске 250 т соответствует дополнительной прибыли 0,88 и 7,48 млн р. в год и сроку окупаемости 2,8 года и 4,0 месяца. Для мягкого сыра прирост прибыли составляет 8,76 и 35,15 р/кг, дополнительная прибыль при годовом выпуске 125 т – 1,10 и 4,39 млн р. в год, срок окупаемости – 2,3 года и 6,8 месяца соответственно.

Полученные результаты позволяют сформулировать практический вывод: при действующих закупочных ценах на биологически активные вещества экономически предпочтительно производство продуктов, обогащенных эмульсией с берберином, – они окупают дополнительные вложения в пределах одного года. Производство продуктов с эмульсией на основе фукоидана также рентабельно, однако срок окупаемости превышает два года и определяется исключительно закупочной

ценой фукоидана: снижение цены сырья на 30 % сокращает срок окупаемости до одного года.

В ходе производственной апробации технологии установлено:

– технологический процесс стабилен, не зафиксировано отклонений от регламентированных параметров;

– органолептические показатели обогащенных йогуртов и мягких сыров (вкус, запах, консистенция и т. д.) соответствуют требованиям нормативной документации и не уступают контрольному образцу;

– по микробиологическим показателем образцы находятся в пределах допустимых норм (в соответствии СанПиН 2.3.2.1078 01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов»);

– результаты оценки технологических показателей (вязкости, кислотности, синерезис) подтверждают соответствие производимой продукции действующим стандартам: для йогуртов соблюдены требования ГОСТ 31981-2013 «Йогурты. Общие технические условия», для мягких сыров – ГОСТ 32263-2013 «Сыры мягкие. Технические условия».

На основе разработанной технологии составлены и утверждены три технических инструкции:

– на производство биоактивной двойной эмульсии (БДЭ-Ф/БДЭ-Б) – включает рецептуру, параметры эмульгирования, режимы стерилизации и условия хранения;

– на производство йогурта, обогащенного БДЭ-Ф/БДЭ-Б, – регламентирует дозировку эмульсии, температурно-временные режимы ферментации, контроль pH и внесение наполнителей;

– на производство мягкого сыра, обогащенного БДЭ-Ф/БДЭ-Б, – устанавливает последовательность внесения эмульсии, параметры сычужного свертывания, прессования и созревания.

Таким образом, технология производства обогащенных кисломолочных продуктов с применением биоактивных двойных эмульсий экономически целесообразна и демонстрирует высокую коммерческую перспективность.

Заключение

В соответствии с поставленными задачами получены следующие основные результаты.

1. На основании обзора отечественной и зарубежной литературы, а также патентных источников обоснована перспективность использования БДЭ для двухуровневой инкапсуляции гидрофильных и амфифильных биоактивных веществ, что обеспечивает их защиту в ЖКТ и позволяет гарантировано управлять добавленной полезностью молочных продуктов.

2. Определены основные сырьевые компоненты для БДЭ, включая биоактивные вещества (гидрофильный фукоидан и амфифильный берберин), рафинированное подсолнечное масло (C18:2 ≥ 63 %), пищевые эмульгаторы (PGPR, Tween 80). Определены методы модификации основных компонентов для получения БДЭ, биосовместимой с матрицей продукта-приложения (молочной пищевой системы), на основе двухстадийного низкочастотного ультразвукового эмульгирования и оптимизации концентраций пищевых эмульгаторов.

3. Выполнено *in silico* прогностическое моделирование функциональности берберина и фукоидана, их применимости в составе БДЭ для молочных пищевых систем. Методом DFT установлены энергетически сильные комплексы БАВ с компонентами молочной матрицы, обеспечивающие стабильность свойств при фортификации. С помощью ADME-профилирования выявлен 3–10-кратный прирост биодоступности берберина в молочно-липидной матрице будущего продукта. Методом молекулярного докинга доказано, что фукоидан хорошо связывается со STAT3 ($\Delta G = -7{,}2$ ккал/моль) и может образовывать термодинамически стабильные комплексы с компонентами молочной матрицы. Берберин, в свою очередь, показывает наибольшее сродство к AKT1 ($\Delta G = -9{,}8$ ккал/моль) и очень низкую пероральную биодоступность (менее 5 %) из-за эффлюкса, связанного с *P*-гликопротеином. Кроме того, подтвержден вероятный синергетический эффект при совместном ис-

пользовании этих БАВ, что и послужило основанием для их одновременного включения в эмульсионную систему для адресной доставки в ЖКТ.

4. Методом BBD (Box–Behnken design) получены модели оптимизации параметров низкочастотного ультразвукового эмульгирования в технологии БДЭ. Для эмульсии с фукоиданом (БДЭ-Ф) наилучшие результаты показали следующие параметры: концентрация эмульгатора Tween 80 A = 1,2 г, время эмульгирования B = 15 мин. При этом *EE* достигала 90,66 %, АОА – 91,10 %, *PS* – 729 нм; гравитационная стабильность 84,42 %, перекисное число 1,1 мэкв/кг. Для эмульсии с берберином (БДЭ-Б) оптимальные условия были получены при внесении 2,5 г PGPR и обработке в течение 20 мин. Это обеспечило *EE* = 94,55 %, АОА = 92,76 % и *PS* = 620,96 нм. Отклонение между расчетными и экспериментальными значениями не превышало 2,64 %.

5. Исследованы физико-химические и биоактивные показатели БДЭ при хранении: дисперсные характеристики контролировали в течение 60 сут, показатели биоактивности – в течение 21 сут. Для БДЭ-Ф прирост размера частиц за 60 сут составил ~2,3 раза (минимальный среди исследованных систем), а к 21-м суткам сохранялись *TPC* = 370,53 мкг ГАЭ/мл (потери 24,4 % – наименьшие среди систем), *EE* = 51,53 % и АОА = 57,89 %. Оценка *in vitro* биодоступности по протоколу INFOGEST подтвердила контролируемое высвобождение биоактивной фракции: для БДЭ-Ф при закладке на хранение степень восстановления составила (24,60 ± 1,83) % на желудочной и (19,69 ± 1,34) % на кишечной стадии (суммарно 44,3 %) против (16,84 ± 2,73) % и (14,66 ± 2,10) % у контрольной эмульсии, что свидетельствует об эффективности эмульсионной платформы как системы доставки БАВ.

6. Оптимизированы технологии фортификации БДЭ-Ф и БДЭ-Б в модельные молочные матрицы йогурта и мягкого сыра. Для модели йогурта оптимальные показатели достигнуты при внесении 5 % БДЭ-Ф: динамическая вязкость достигла 2,19 сП; количество жизнеспособных молочнокислых бактерий на 21-е сутки хранения составило (6,70 ± 0,20) log КОЕ/г (в контроле (5,90 ± 0,20) log КОЕ/г), общее содержание фенольных соединений увеличилось на 31,4 % относительно контроля.

При реализации протокола INFOGEST в желудочной фазе значение *TPC* для йогурта с БДЭ-Ф достигало (839,80 ± 46,3) мкг ГАЭ/мл, для образца с БДЭ-Б – (871,67 ± 42,3) мкг ГАЭ/мл. В мягком сыре наиболее выраженный положительный эффект продемонстрировала БДЭ-Ф: массовая доля влаги составила (60,4 ± 0,7) %, процесс синерезиса снизился до (8,1 ± 0,2) % (в контроле (10,2 ± 0,2) %), а значение *TPC* на желудочной стадии достигало (854,79 ± 24,4) мкг ГАЭ/мл.

7. Экономический эффект и промышленная апробация. Себестоимость 1 кг йогурта с БДЭ-Б составила 283,55 р. при рентабельности 31,7 %, а мягкого сыра – 1521,45 р. за 1 кг при рентабельности 19,1 %. Себестоимость обоих продуктов с БДЭ-Б ниже, а рентабельность выше, чем у продуктов с БДЭ-Ф. Запас финансовой прочности превысил 78 % (для йогурта с БДЭ-Б – 85,1 %), а вложения окупались за 3–6 мес. В процессе производственной проверки подтвердилась стабильность рецептур и соответствие готовой продукции требованиям технических регламентов и СанПиН 2.3.2.1078-01. По результатам работы были утверждены три технические инструкции, которые регламентируют выпуск биоактивных двойных эмульсий и обогащенных молочных систем.

Список сокращений и условных обозначений

БАВ – биологически активные вещества

БДЭ – биоактивная двойная эмульсия

ДЭ – двойная эмульсия

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

НИЗ – неинфекционные заболевания

НЛН – наноструктурированные липидные носители

НУЗВ – низкочастотное ультразвуковое воздействие

ТЛН – твердые липидные наночастицы

ЭПС – экзополисахариды

BBD (Box–Behnken design) – метод планирования эксперимента Бокса – Бенкена

EE (encapsulation efficiency) – эффективность инкапсуляции

HLB (hydrophilic-lipophilic balance) – гидрофильно-липофильный баланс

RR (recovery ratio) – степень восстановления биоактивных веществ

TPC (total phenolic content) – суммарное содержание фенольных соединений

Список литературы

1. ГОСТ 31450-2013. Молоко питьевое. Технические условия. – М. : Стандартинформ, 2013. – 8 с.

2. ГОСТ 32901-2014. Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа. – М. : Стандартинформ, 2014. – 24 с.

3. ГОСТ 33480-2015. Сыр творожный. Технические условия. – М. : Стандартинформ, 2015. – 11 с.

4. ГОСТ 31981-2013. Йогурты. Общие технические условия. – М. : Стандартинформ, 2013. – 9 с.

5. ГОСТ Р 53438-2009. Сыворотка молочная. Технические условия. – М. : Стандартинформ, 2010. – 7 с.

6. ГОСТ Р 55577-2013. Продукты пищевые специализированные и функциональные. Информация об отличительных признаках и эффективности. – М. : Стандартинформ, 2014. – 16 с.

7. Забодалова, Л. А. Влияние методов детоксикации на технологические свойства молочного сырья / Л. А. Забодалова, И. Ю. Потороко // Процессы и аппараты пищевых производств. – 2011. – № 2. – С. 82–90. – EDN OFXHJL.

8. Заворохина, Н. В. Использование дескрипторно-профильного метода дегустационного анализа при разработке сывороточных напитков / Н. В. Заворохина, Ю. И. Богомазова, О. В. Феофилактова // Пищевая промышленность. – 2019. – № 7. – С. 50–53. – DOI 10.24411/0235-2486-2019-10100. – EDN LGPCZP.

9. Заворохина, Н. В. Сенсорный анализ при сравнительной оценке жировой продукции Европейского союза: инновации и тренды / Н. В. Заворохина, О. В. Феофилактова // Сыроделие и маслоделие. – 2022. – № 6. – С. 38–41. – DOI 10.31515/2073-4018-2022-6-38-41. – EDN AUFLKR.

10. Захарова, Н. А. Исследование процесса эмульгирования биоактивных масел в молочной среде пробиотических микроорганизмов / Н. А. Захарова, Е. С. Попов, И. А. Ефременко [и др.] // Кадры для АПК : сб. материалов междунар. науч.-

практ. конф. по вопросам подготовки кадров для науч. обеспечения развития АПК, включая ветеринарию (Белгород, 12–13 ноября 2020 г.). – Белгород : БелГУ, 2020. – С. 276–277.

11. Кади, А. М. Я. Методология применения биоактивных двойных эмульсий для молочных пищевых систем / А. М. Я. Кади, В. Анйум // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2025. – Т. 13, № 1. – С. 11–18. – DOI 10.14529/food250102. – EDN IYYUZV.

12. Калинина, И. В. Возможности применения двойных эмульсий в пищевой промышленности / И. В. Калинина, Н. В. Науменко, Б. Удей [и др.] // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2022. – Т. 10, № 4. – С. 109–114. – DOI 10.14529/food220411. – EDN BLOIUN.

13. Красуля, О. Н. Влияние эффектов ультразвукового воздействия на активность заквасочных культур кисломолочных напитков / О. Н. Красуля, В. В. Ботвинникова, Д. Г. Ускова // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2016. – Т. 4, № 1. – С. 71–79. – DOI 10.14529/food160109. – EDN VOWHQT.

14. Красуля, О. Н. Инновационные подходы в технологии молочных продуктов на основе эффектов кавитации / О. Н. Красуля, И. Ю. Потороко, О. Кочубей-Литвиненко, А. К. Мухаметдинова // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2015. – Т. 3, № 2. – С. 55–63. – EDN TOEEPD.

15. Красуля, О. Н. Пищевая сонохимия в технологии молочных продуктов / О. Н. Красуля, В. Н. Богуш, О. В. Кочубей-Литвиненко, Н. А. Тихомирова // Молочная река. – 2014. – № 3 (55). – С. 14–16. – EDN FFLQXK.

16. Кудрявцева, Т. А. Биотехнология продуктов питания специального назначения, ч. 1 / Т. А. Кудрявцева, Л. А. Забодалова, О. Ю. Орлова. – СПб. : НИУ ИТМО, 2013. – 87 с.

17. Лавлинская, М. С. Стабилизация пищевых эмульсий полисахаридами и белок-полисахаридными комплексами / М. С. Лавлинская, А. В. Сорокин,

М. Г. Холявка [и др.] // Конденсированные среды и межфазные границы. – 2024. – Т. 26, № 2. – С. 187–196. – DOI 10.17308/kcmf.2024.26/11933. – EDN UCYVRE.

18. Лисицын, А. Б. Современные тенденции развития индустрии функциональных пищевых продуктов в России и за рубежом / А. Б. Лисицын, И. М. Чернуха, О. И. Лунина // Теория и практика переработки мяса. – 2018. – Т. 3, № 1. – С. 29–45. – DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-1-29-45. – EDN YUDWYR.

19. Мазо, В. К. Физиолого-биохимические исследования как необходимый компонент алгоритма оценки эффективности минорных биологически активных веществ пищи / В. К. Мазо, Ю. С. Сидорова, Н. А. Петров, Л. С. Василевская // Вопросы питания. – 2020. – Т. 89, № 4. – С. 52–59. – DOI 10.24411/0042-8833-2020-10041. – EDN WXLKAJ.

20. Молибога, Е. А. Анализ рынка функционального питания: российский и международный аспект / Е. А. Молибога, Е. В. Сухостав, О. А. Козлова, А. В. Зинич // Техника и технология пищевых производств. – 2022. – Т. 52, № 4. – С. 775–786. – DOI 10.21603/2074-9414-2022-4-2405. – EDN DSBTLC.

21. Мусина, О. Н. Комплексное монографическое исследование «Комбинированные сыры» (обзор). Ч. 2. Классификация наполнителей и рекомендации по эффективной стратегии действий при создании комбинированных сыров / О. Н. Мусина // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2011. – № 7. – С. 48–52. – EDN OHFPQH.

22. Мусина, О. Н. Мягкий сыр из смеси коровьего и козьего молока / О. Н. Мусина, Н. И. Бондаренко, Д. А. Усатюк // Ползуновский вестник. – 2022. – № 4-1. – С. 149–153. – DOI 10.25712/ASTU.2072-8921.2022.04.019. – EDN JNGYIL.

23. Мусина, О. Н. Способы подготовки наполнителей к внесению в продукты сыроделия / О. Н. Мусина // Сыроделие и маслоделие. – 2010. – № 1. – С. 37–40. – EDN MBGNHP.

24. Неинфекционные болезни : информационный бюллетень / Всемирная организация здравоохранения. – URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases (дата обращения: 10.07.2025).

25. О безопасности молока и молочной продукции : технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013.

26. О безопасности пищевой продукции : технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011.

27. Об утверждении Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации : указ Президента России от 28.02.2024 № 145.

28. Пищевая продукция в части ее маркировки : технический регламент Таможенного союза ТР ТС 022/2011.

29. Позняковский, В. М. Вызовы и стратегические мегатренды современной нутрициологии / В. М. Позняковский // Индустрия питания. – 2024. – Т. 9, № 2. – С. 5–12. – DOI 10.29141/2500-1922-2024-9-2-1. – EDN CBXCZW.

30. Позняковский, В. М. Гигиенические основы питания, качество и безопасность пищевых продуктов / В. М. Позняковский. – Новосибирск : Сиб. унив. изд-во, 2007. – 456 с. – ISBN 5-94087-777-X. – EDN SUPQLT.

31. Позняковский, В. М. Пищевые системы: специализированные продукты питания, новые технологии, эффективность применения / В. М. Позняковский, Б. Тохириен, О. А. Толмачев. – СПб. : ГИОРД, 2023. – 240 с. – ISBN 978-5-98879-229-1. – EDN HNSMJW.

32. Позняковский, В. М. Эволюция питания и формирование нутриома современного человека / В. М. Позняковский // Индустрия питания. – 2017. – № 3 (4). – С. 5–12. – EDN ZTLWZH.

33. Попов, Е. С. Синтез экзополисахаридов консорциумом лакто- и бифидобактерий в молочной среде обогащенной биологически активными веществами растительного сырья / Е. С. Попов, А. А. Родионов, Н. А. Родионова // Состояние и перспективы развития наилучших доступных технологий специализированных продуктов питания : сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Омск, 30 мая 2019 г.). – Омск : ОмГАУ, 2019. – С. 131–133. – EDN IFMMSV.

34. Потороко, И. Ю. Биоактивность эмульсий Пикеринга в пищевой матрице: теория и практика / И. Ю. Потороко, А. В. Паймулина // Вестник Южно-Ураль-

ского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2023. – Т. 11, № 1. – С. 35–45. – DOI 10.14529/food230104. – EDN KSOLWG.

35. Потороко, И. Ю. Бифункциональный ингредиент для мясных эмульсий: сонохимически модифицированный картофельный крахмал / И. Ю. Потороко, А. А. Руськина, А. В. Малинин [и др.] // Мясная индустрия. – 2023. – № 12. – С. 38–42. – DOI 10.37861/2618-8252-2023-12-38-42. – EDN VHUAWS.

36. Потороко, И. Ю. Методология трехфакторного ультразвукового воздействия для стабильности эмульсионных пищевых систем с добавленной полезностью / И. Ю. Потороко, А. М. Я. Кади, А. А. Руськина, А. В. Малинин // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2023. – Т. 11, № 4. – С. 65–73. – DOI 10.14529/food230407. – EDN YRUSYB.

37. Потороко, И. Ю. Микроструктурированные продукты переработки зерна как гидроколлоиды в пищевых эмульсиях / И. Ю. Потороко, Н. В. Науменко, А. М. Я. Кади [и др.] // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2022. – Т. 10, № 4. – С. 89–99. – DOI 10.14529/food220409. – EDN YQFQGK.

38. Потороко, И. Ю. Молекулярный докинг растительных стабилизирующих частиц для функциональных эмульсионных пищевых систем / И. Ю. Потороко, А. М. Я. Кади, В. Анйум, А. А. Руськина // Индустрия питания. – 2023. – Т. 8, № 2. – С. 84–92. – DOI 10.29141/2500-1922-2023-8-2-9. – EDN PGLDTN.

39. Потороко, И. Ю. Перспективы применения эмульсий Пикеринга в пищевых системах / И. Ю. Потороко, А. В. Паймулина, А. М. Я. Кади // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2022. – Т. 10, № 1. – С. 15–22. – DOI 10.14529/food220102. – EDN LWQMAF.

40. Потороко, И. Ю. Сонохимически наноструктурированные растительные полисахариды: новые стабилизирующие ингредиенты для пищевых эмульсий / И. Ю. Потороко, А. М. Я. Кади, О. Н. Красуля, А. В. Паймулина // Мясная индустрия. – 2022. – № 12. – С. 20–23. – DOI 10.37861/2618-8252-2022-12-20-23. – EDN ECEOAQ.

41. Потороко, И. Ю. Фортификация эмульсий, стабилизированных аутентичным биоактивным комплексом, в сложную гетерогенную пищевую матрицу / И. Ю. Потороко, А. М. Я. Кади, А. А. Руськина [и др.] // Индустрия питания. – 2023. – Т. 8, № 4. – С. 119–127. – DOI 10.29141/2500-1922-2023-8-4-12. – EDN YDWTRY.

42. Потороко, И. Ю. Эмульсии Пикеринга на основе модифицированных полисахаридов бурых водорослей для получения пищевых систем нового поколения / И. Ю. Потороко, А. М. Я. Кади, А. В. Паймулина, Н. В. Науменко // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2023. – № 1. – С. 136–149. – DOI 10.36107/spfp. 2023.417. – EDN QOSSJN.

43. Родионова, Н. С. Эмульгирующие свойства пробиотических систем, обогащенных растительными биокорректорами / Н. С. Родионова, Е. С. Попов, Н. А. Родионова // Актуальная биотехнология. – 2019. – № 3 (30). – С. 313–314. – EDN QJELUO.

44. Рудакова, А. Ю. Разработка и производство сырных продуктов с растительными компонентами / А. Ю. Рудакова, Л. А. Забодалова, О. П. Серова // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. – 2014. – № 4. – С. 204–209. – EDN TBUCFR.

45. Технология продуктов из вторичного молочного сырья / А. Г. Храмцов, С. В. Василисин, С. А. Рябцева [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – СПб. : ГИОРД, 2022. – 632 с. – ISBN 978-5-98879-215-4.

46. Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств : технический регламент Таможенного союза ТР ТС 029/2012.

47. Феофилактова, О. В. Влияние ультразвукового диспергирования на реологические свойства двойных эмульсионных пищевых систем с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот / О. В. Феофилактова // Индустрия питания. – 2022. – Т. 7, № 2. – С. 52–60. – DOI 10.29141/2500-1922-2022-7-2-6. – EDN VGUJEG.

48. Феофилактова, О. В. Оценка биодоступности БАВ в составе биоактивных эмульсионных пищевых систем / О. В. Феофилактова, Т. В. Мажаева, С. В. Бегичева, Н. В. Заворохина // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2024. – Т. 12, № 2. – С. 48–57. – DOI 10.14529/food240206. – EDN HFLNMB.

49. Феофилактова, О. В. Системный подход к моделированию эмульсионных функциональных пищевых продуктов высокой биодоступности / О. В. Феофилактова // Индустрия питания. – 2020. – Т. 5, № 4. – С. 45–51. – DOI 10.29141/2500-1922-2020-5-4-7. – EDN VBUPUT.

50. Храмцов, А. Г. Справочник технолога молочного производства. Технология и рецептуры, т. 5: Продукты из обезжиренного молока, пахты и молочной сыворотки / А. Г. Храмцов, С. В. Василин. – СПб. : ГИОРД, 2004. – 576 с. – ISBN 5-901065-67-0. – EDN VDGKGX.

51. Aditya, N. P. Encapsulation systems for the delivery of hydrophilic nutraceuticals: food application / N. P. Aditya, Y. G. Espinosa, I. T. Norton // Biotechnology advances. – 2017. – Vol. 35, № 4. – P. 450–457. – DOI 10.1016/j.biotechadv.2017.04.012.

52. Ale, M. T. Fucoidans from brown seaweeds: an update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation / M. T. Ale, A. S. Meyer // RSC Advances. – 2013. – Vol. 3, № 22. – P. 11167–11183. – DOI 10.1039/C3RA23373A.

53. Anjum, V. A network pharmacology and molecular docking technology to identify and explore mechanism of bioactive components of *Fucus vesiculosus* against gut disorders / V. Anjum, U. Bagale, A. Kadi, I. Potoroko // Scientia pharmaceutica. – 2024. – Vol. 92, № 3. – Art. 49. – DOI 10.3390/scipharm92030049.

54. Anjum, V. Berberine in emulsions: possibilities to stimulate GABA production in yogurt / V. Anjum, A. M. Y. Kadi, I. Yu. Potoroko // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2024. – Т. 12, № 3. – С. 12–21. – DOI 10.14529/food240302. – EDN BVVHTY.

55. Anjum, V. Density functional theory study of fucoidan interactions with dairy metabolites for flavor and texture control in cheese / V. Anjum, A. Kadi, A. Malinin

[et al.] // Food bioscience. – 2026. – Vol. 75. – Art. 108063. – DOI 10.1016/j.fbio.2025.108063.

56. Anjum, V. Disclosure of the mechanisms of the medical preventional effect of fucoidan in the composition of food systems / V. Anjum, A. M. Y. Kadi, U. Bagale, I. Yu. Potoroko // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2024. – Т. 12, № 1. – С. 16–25. – DOI 10.14529/food240102. – EDN EIIKCL.

57. Anjum, V. Process optimization of *Tinospora cordifolia* extract-loaded W/O nanoemulsion via ultrasound homogenization / V. Anjum, U. Bagale, A. Kadi [et al.] // Molecules. – 2024. – Vol. 29. – Art. 1797. – DOI 10.3390/molecules29081797.

58. Ashokkumar, M. The characterization of acoustic cavitation bubbles – an overview / M. Ashokkumar // Ultrasonics sonochemistry. – 2011. – Vol. 18, № 4. – P. 864–872. – DOI 10.1016/j.ultsonch.2010.11.016.

59. Ashokkumar, M. The ultrasonic processing of dairy products – an overview / M. Ashokkumar, R. Bhaskaracharya, S. Kentish [et al.] // Dairy Science & Technology. – 2010. – Vol. 90, № 2. – P. 147–168. – DOI 10.1051/dst/2009044. – EDN FJREEW.

60. Bagale, U. Prospect of bioactive curcumin nanoemulsion as effective agency to improve milk based soft cheese by using ultrasound encapsulation approach / U. Bagale, A. Kadi, M. Abotaleb [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2023. – Vol. 24. – Art. 2663. – DOI 10.3390/ijms24032663.

61. Bagale, U. Prospect of sonochemical approach for stable fucoidan encapsulated $W_1/O/W_2$ double emulsion. Part 1: W_1/O phase stabilization / U. Bagale, A. Kadi, I. Potoroko [et al.] // Latin American journal of pharmacy. – 2023. – Vol. 42, special issue. – P. 401–404.

62. Bagale, U. Ultrasound assisted comparative study of fucolam and sodium alginate using Box–Behnken design / U. Bagale, A. Kadi, A. Malinin [et al.] // Karbala international journal of modern science. – 2023. – Vol. 9, iss. 3. – Art. 14. – DOI 10.33640/2405-609X.3319.

63. Bagale, U. D. Optimizing fucoidan encapsulation in a $W_1/O/W_2$ double emulsion through an ultrasound-assisted process and response surface methodology

/ U. D. Bagale, A. Kadi, A. Malinin [et al.] // Industrial and engineering chemistry research. – 2024. – Vol. 63, № 20. – P. 8879–8898. – DOI 10.1021/acs.iecr.4c00116.

64. Balcaen, M. Influence of protein type on polyglycerol polyricinoleate replacement in W/O/W (water-in-oil-in-water) double emulsions for food applications / M. Balcaen, L. Vermeir, P. van der Meeren // Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects. – 2017. – Vol. 535. – P. 105–113. – DOI 10.1016/j.colsurfa.2017.09.034.

65. Banerjee, P. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals / P. Banerjee, A. O. Eckert, A. K. Schrey, R. Preissner // Nucleic acids research. – 2018. – Vol. 46, W1. – P. W257–W263. – DOI 10.1093/nar/gky318.

66. Becke, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange / A. D. Becke // Journal of chemical physics. – 1993. – Vol. 98, № 7. – P. 5648–5652. – DOI 10.1063/1.464913. – EDN SGUIWZ.

67. Benichou, A. Double emulsions stabilized with hybrids of natural polymers for entrapment and slow release of active matters / A. Benichou, A. Aserin, N. Garti // Advances in colloid and interface science. – 2004. – Vol. 108–109. – P. 29–41. – DOI 10.1016/j.cis.2003.10.013.

68. Berteau, O. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide / O. Berteau, B. Mulloy // Glycobiology. – 2003. – Vol. 13, № 6. – P. 29–40R. – DOI 10.1093/glycob/cwg058.

69. Bigliardi, B. Innovation trends in the food industry: the case of functional foods / B. Bigliardi, F. Galati // Trends in food science and technology. – 2013. – Vol. 31, № 2. – P. 118–129. – DOI 10.1016/j.tifs.2013.03.006.

70. Bilan, M. I. Structure of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus evanescens* C.Ag. / M. I. Bilan, A. A. Grachev, A. S. Shashkov [et al.] // Carbohydrate research. – 2002. – Vol. 337, № 2. – P. 719– 730.

71. Binks, B. P. Particles as surfactants – similarities and differences / B. P. Binks // Current opinion in colloid and interface science. – 2002. – Vol. 7, № 1–2. – P. 21–41.

72. Boberek, J. M. Genetic evidence for inhibition of bacterial division protein FtsZ by berberine / J. M. Boberek, J. Stach, L. Good // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5, № 10. – Art. e13745. – DOI 10.1371/journal.pone.0013745.

73. Box, G. E. P. Some new three level designs for the study of quantitative variables / G. E. P. Box, D. W. Behnken // Technometrics. – 1960. – Vol. 2, № 4. – P. 455–475. – DOI 10.1080/00401706.1960.10489912.

74. Brand-Williams, W. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity / W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset // LWT – Food science and technology. – 1995. – Vol. 28, № 1. – P. 25–30.

75. Brodkorb, A. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion / A. Brodkorb, L. Egger, M. Alminger [et al.] // Nature protocols. – 2019. – Vol. 14, № 4. – P. 991–1014. – DOI 10.1038/s41596-018-0119-1.

76. Burgain, J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications / J. Burgain, C. Gaiani, M. Linder, J. Scher // Journal of food engineering. – 2011. – Vol. 104, № 4. – P. 467–483. – DOI 10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031.

77. Chemat, F. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction / F. Chemat, Zill-e-Huma, M. K. Khan // Ultrasonics sonochemistry. – 2011. – Vol. 18, № 4. – P. 813–835. – DOI 10.1016/j.ultsonch.2010.11.023.

78. Chen, W. Bioavailability study of berberine and the enhancing effects of TPGS on intestinal absorption in rats / W. Chen, Y. Q. Miao, D. J. Fan [et al.] // AAPS PharmSciTech. – 2011. – Vol. 12, № 3. – P. 705–711. – DOI 10.1208/s12249-011-9632-z.

79. Christiansen, K. PGPR, polyglycerolpolyricinoleate, E476 / K. Christiansen // Emulsifiers in food technology / ed. V. Norn. – Wiley, 2014. – P. 195–220. – DOI 10.1002/9781118921265.ch9.

80. Cumashi, A. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds / A. Cumashi, N. A. Ushakova, M. E. Preobrazhenskaya [et al.] // Glycobiology. – 2007. – Vol. 17, № 5. – P. 541–552. – DOI 10.1093/glycob/cwm014.

81. Daina, A. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules / A. Daina, O. Michielin, V. Zoete // Scientific reports. – 2017. – Vol. 7. – Art. 42717. – DOI 10.1038/srep42717.

82. Damodaran, S. Fennema's Food chemistry / S. Damodaran, K. L. Parkin, O. R. Fennema. – 4th ed. – Boca Raton : CRC Press, 2007. – 1160 p. – ISBN 978-0-8493-9272-6.

83. de Vuyst, L. Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria / L. de Vuyst, F. de Vin, F. Vaningelgem, B. Degeest // International dairy journal. – 2001. – Vol. 11, № 9. – P. 687–707. – DOI 10.1016/S0958-6946(01)00114-5.

84. Donkor, O. N. Rheological properties and sensory characteristics of set-type soy yogurt / O. N. Donkor, A. Henriksson, T. Vasiljevic, N. P. Shah // Journal of agricultural and food chemistry. – 2007. – Vol. 55, № 14. – P. 5507–5516. – DOI 10.1021/JF071050R.

85. El Kadri, H. Utilisation of water-in-oil-water ($W_1/O/W_2$) double emulsion in a set-type yogurt model for the delivery of probiotic *Lactobacillus paracasei* / H. Kadri, S. Lalou, F. Mantzouridou, K. Gkatzionis // Food research international. – 2018. – Vol. 107. – P. 325–336. – DOI:10.1016/j.foodres.2018.02.049.

86. Fan, W. Effects of the combination of protein in the internal aqueous phase and polyglycerol polyricinoleate on the stability of water-in-oil-in-water emulsions co-encapsulating crocin and quercetin / W. Fan, Y. Shi, Y. Hu [et al.] // Foods. – 2024. – Vol. 13, № 1. – Art. 131. – DOI 10.3390/foods13010131.

87. Fang, Z. Encapsulation of polyphenols – a review / Z. Fang, B. Bhandari // Trends in food science and technology. – 2010. – Vol. 21, № 10. – P. 510–523. – DOI 10.1016/j.tifs.2010.08.003.

88. Faridi Esfanjani, A. Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds / A. Faridi Esfanjani, S. M. Jafari // Colloids and surfaces B: Biointerfaces. – 2016. – Vol. 146. – P. 532–543. – DOI 10.1016/j.colsurfb.2016.06.053.

89. Feofilaktova, O. V. Flavor formation of stable double emulsion systems with encapsulated biologically active substances / O. V. Feofilaktova, N. V. Zavorokhina // Индустрия питания. – 2022. – Т. 7, № 4. – С. 74–82. – DOI 10.29141/2500-1922-2022-7-4-9.

90. Feofilaktova, O. V. Methodological approach to the bioactive emulsion food systems development / O. V. Feofilaktova // Индустрия питания. – 2024. – Т. 9, № 1. – С. 35–40. – DOI 10.29141/2500-1922-2024-9-1-4.

91. Feofilaktova, O. V. Ultrasonic cavitation effect on the fatty acid composition of linseed oil-based emulsions / O. V. Feofilaktova, V. L. Feigelman, S. A. S. Abousha-nab, E. G. Kovaleva // Химия растительного сырья. – 2023. – № 3. – С. 311–316. – DOI 10.14258/jcprm.20230311781.

92. Fitri, I. A. Encapsulation of β-carotene in oil-in-water emulsions containing nanocellulose: impact on emulsion properties, *in vitro* digestion, and bioaccessibility / I. A. Fitri, W. Mitbumrung, P. Akanitkul [et al.] // Food hydrocolloids. – 2022. – Vol. 14. – DOI 10.3390/polym14071414.

93. Fitton J. H. Therapies from fucoidan: multifunctional marine polymers / J. H. Fitton // Marine drugs. – 2011. – Vol. 9, № 10. – P. 1731–1760. – DOI 10.3390/md9101731.

94. Fundamentals of cheese science / P. F. Fox, T. P. Guinee, T. M. Cogan, P. L. H. McSweeney. – 2nd ed. – Springer, 2017. – 799 p. – ISBN 978-1-4899-7679-6.

95. Garti, N. Double emulsions-scope, limitations and new achievements / N. Garti // Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects. – 1997. – Vol. 123–124. – P. 233–246. – DOI 10.1016/S0927-7757(96)03809-5.

96. Garti, N. Recent developments in double emulsions for food applications / N. Garti, A. Benichou // Food emulsions / eds. S. Friberg [et al.]. – 4th ed. – New York : Marcel Dekker, 2004. – P. 353–412. – DOI 10.1201/9780203913222-10.

97. Ghiasi, F. An updated comprehensive overview of different food applications of $W_1/O/W_2$ and $O_1/W/O_2$ double emulsions / F. Ghiasi, H. Hashemi, S. Esteghlal, S. M. H. Hosseini // Foods. – 2024. – Vol. 13, № 3. – Art. 485. – DOI 10.3390/foods13030485.

98. Gibson, G. R. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics / G. R. Gibson, M. B. Roberfroid // Journal of nutrition. – 1995. – Vol. 125, № 6. – P. 1401–1412.

99. Gibson, G. R. Expert consensus document: the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics / G. R. Gibson, R. Hutkins, M. E. Sanders [et al.] // Nature reviews gastroenterology and hepatology. – 2017. – Vol. 14, № 8. – P. 491–502. – DOI 10.1038/nrgastro.2017.75.

100. Global functional foods market size and share analysis – growth trends and forecasts (2025–2034) / GMInsights. – URL: https://www.gminsights.com/industry-analysis/functional-food-ingredients-market (дата обращения: 10.07.2025).

101. Granato, D. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products / D. Granato, G. F. Branco, F. Nazzaro [et al.] // Comprehensive reviews in food science and food safety. – 2010. – Vol. 9, № 3. – P. 292–302. – DOI 10.1111/j.1541-4337.2010.00110.x.

102. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria / WHO/FAW. – 2001. – URL: https://www.fao.org/4/y6398e/y6398e.pdf (дата обращения: 09.09.2025).

103. Heller, K. J. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms / K. J. Heller // American journal of clinical nutrition. – 2001. – Vol. 73, № 2. – P. 374–379S. – DOI 10.1093/ajcn/73.2.374s.

104. Hiemenz, P. C. Principles of colloid and surface chemistry / P. C. Hiemenz, R. Rajagopalan. – 3rd ed. – Boca Raton : CRC Press, 1997. – 671 p. – ISBN 978-0-8247-9397-8.

105. Holdt, S. L. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation / S. L. Holdt, S. Kraan // Journal of applied phycology. – 2011. – Vol. 23, № 3. – P. 543–597. – DOI 10.1007/s10811-010-9632-5.

106. Hopkins, A. L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery / A. L. Hopkins // Nature chemical biology. – 2008. – Vol. 4, № 11. – P. 682–690. – DOI 10.1038/nchembio.118.

107. Huang, D. The chemistry behind antioxidant capacity assays / D. Huang, B. Ou, R. L. Prior // Journal of agricultural and food chemistry. – 2005. – Vol. 53, № 6. – P. 1841–1856. – DOI 10.1021/jf030723c.

108. Imenshahidi, M. Berberine and barberry (*Berberis vulgaris*): a clinical review / M. Imenshahidi, H. Hosseinzadeh // Phytotherapy research. – 2019. – Vol. 33, № 3. – P. 504–523. – DOI 10.1002/ptr.6252.

109. ISO 15214:1998. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria.

110. Jafari, S. M. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying / S. M. Jafari, E. Assadpoor, Y. He, B. Bhandari // Drying technology. – 2008. – Vol. 26, № 6. – P. 816–835. – DOI 10.1080/07373930802135972.

111. Jafari, S. M. Nanoencapsulation of food bioactive ingredients: principles and applications / S. M. Jafari. – Amsterdam : Elsevier, 2017. – 620 p. – ISBN 978-0-12-809740-3.

112. Jiao, G. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae / G. Jiao, G. Yu, J. Zhang, H. S. Ewart // Marine drugs. – 2011. – Vol. 9, № 2. – P. 196–223. – DOI 10.3390/md9020196.

113. Jimenez-Colmenero, F. Potential applications of multiple emulsions in the development of healthy and functional foods / F. Jimenez-Colmenero // Food research international. – 2013. – Vol. 52, № 1. – P. 64–74. – DOI 10.1016/j.foodres.2013.02.040.

114. Jin, J. O. Seaweeds in the oncology arena: anti-cancer potential of fucoidan as a drug – a review / J. O. Jin, D. Yadav, K. Madhwani [et al.] // Molecules. – 2022. – Vol. 27, № 18. – Art. 6032. – DOI 10.3390/molecules27186032.

115. Joscelyne, S. M. Membrane emulsification – a literature review / S. M. Joscelyne, G. Trägårdh // Journal of membrane science. – 2000. – Vol. 169, № 1. – P. 107–117. – DOI 10.1016/S0376-7388(99)00334-8.

116. Joye, I. J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: fabrication, characterization, and application / I. J. Joye, D. J. McClements // Current opinion in colloid and interface science. – 2014. – Vol. 19, № 4. – P. 417–427. – DOI 10.1016/j.cocis.2014.07.002.

117. Kadi, A. Integrating molecular docking and experimental evaluation to assess berberine-loaded double emulsions in dairy systems / A. Kadi, V. Anjum, F. K. I. Al-Mahdawi, I. Potoroko // Proceedings of the International Conference on Applied Innovations in IT (ICAIIT). – 2026. – P. 1033–1038. – DOI 10.25673/123675.

118. Kadi, A. The effect of the fortification with Pickering emulsion on the physicochemical and antioxidant properties of yoghurt / A. Kadi, I. Potoroko, A. Paymulina [et al.] // Latin American journal of pharmacy. – 2023. – Vol. 42, special issue. – P. 397–400.

119. Kailasapathy, K. Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications / K. Kailasapathy // Current issues in intestinal microbiology. – 2002. – Vol. 3, № 2. – P. 39–48.

120. Kentish, S. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation / S. Kentish, T. J. Wooster, M. Ashokkumar [et al.] // Innovative food science and emerging technologies. – 2008. – Vol. 9, № 2. – P. 170–175. – DOI 10.1016/j.ifset.2007.07.005.

121. Khan, I. T. The antioxidant components of milk and their role in processing, ripening, and storage / I. T. Khan, M. Bule, R. Ullah [et al.] // Veterinary world. – 2019. – Vol. 12, № 1. – P. 12–33. – DOI 10.14202/vetworld.2019.12-33.

122. Kohli, K. Development of natural polysaccharide-based nanoparticles of berberine to enhance oral bioavailability: formulation, optimization, *ex vivo*, and *in vivo* assessment / K. Kohli, A. Mujtaba, R. Malik [et al.] // Polymers. – 2021. – Vol. 13, № 21. – Art. 3833. – DOI 10.3390/polym13213833.

123. Kong, W. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins / W. Kong, J. Wei, P. Abidi [et al.] // Nature medicine. – 2004. – Vol. 10, № 12. – P. 1344–1351. – DOI 10.1038/nm1135.

124. Lalou, S. Incorporation of water-in-oil-in-water ($W_1/O/W_2$) double emulsion in a set-type yogurt model / S. Lalou, H. El Kadri, K. Gkatzionis // Food research international. – 2017. – Vol. 100, pt. 2. – P. 122–131. – DOI 10.1016/j.foodres.2017.08.027.

125. Leal-Calderon, F. Emulsion science: basic principles / F. Leal-Calderon, V. Schmitt, J. Bibette. – 2nd ed. – Springer, 2007. – 228 p. – ISBN 978-0-387-39683-5.

126. Lee, C. Development of the Colle–Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density / C. Lee, W. Yang, R. G. Parr // Physical review B. – 1988. – Vol. 37, № 2. – P. 785–789. – DOI 10.1103/PhysRevB.37.785.

127. Lee, W. J. Formation and physical properties of yogurt / W. J. Lee, J. A. Lucey // Asian-Australasian journal of animal sciences. – 2010. – Vol. 23, № 9. – P. 1127–1136. – DOI 10.5713/ajas.2010.r.05.

128. Leong, T. S. H. Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification / T. S. H. Leong, T. J. Wooster, S. E. Kentish, M. Ashokkumar // Ultrasonics sonochemistry. – 2009. – Vol. 16, № 6. – P. 721–727. – DOI 10.1016/j.ultsonch.2009.02.008.

129. Leroux, J. Emulsion stabilizing properties of pectin / J. Leroux, V. Langendorff, G. Schick [et al.] // Food hydrocolloids. – 2003. – Vol. 17, № 4. – P. 455–462. – DOI 10.1016/S0268-005X(03)00027-4.

130. Li, B. Fucoidan: structure and bioactivity / B. Li, F. Lu, X. Wei, R. Zhao // Molecules. – 2008. – Vol. 13, № 8. – P. 1671–1695. – DOI 10.3390/molecules13081671.

131. Li, Y. J. Nanoemulsion-based delivery system for enhanced oral bioavailability and Caco-2 cell monolayers permeability of berberine hydrochloride / Y. J. Li, X. B. Hu, X. L. Lu [et al.] // Drug delivery. – 2018. – Vol. 24. – P. 1602–1612. – DOI 10.1080/10717544.2017.1410257.

132. Li, Z. Antioxidant and anti-inflammatory activities of berberine in the treatment of diabetes mellitus / Z. Li, Y. N. Geng, J. D. Jiang, W. J. Kong // Evidence-based complementary and alternative medicine. – 2014. – Art. 289264. – DOI 10.1155/2014/289264.

133. Liu, Y. T. Extensive intestinal first-pass elimination and predominant hepatic distribution of berberine explain its low plasma levels in rats / Y. T. Liu, H. P. Hao, H. G. Xie [et al.] // Drug metabolism and disposition. – 2010. – Vol. 38, № 5. – P. 743–749. – DOI 10.1124/dmd.109.031936.

134. Lobato-Calleros, C. Microstructural and rheological properties of low-fat stirred yoghurts made with skim milk and multiple emulsions / C. Lobato-Calleros,

M. T. Recillas-Mota, T. Espinosa-Solares [et al.] // Journal of texture studies. – 2009. – Vol. 40, № 6. – P. 657–675. – DOI 10.1111/j.1745-4603.2009.00204.x.

135. Lobato-Calleros, C. Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from $W_1/O/W_2$ emulsions and skim milk / C. Lobato-Calleros, A. Sosa-Pérez, J. Rodríguez-Tafoya [et al.] // LWT – Food science and technology. – 2008. – Vol. 41, № 10. – P. 1847–1856. – DOI 10.1016/j.lwt.2008.01.006.

136. Lucey, J. A. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties / J. A. Lucey // International journal of dairy technology. – 2004. – Vol. 57, № 2–3. – P. 77–84. – DOI 10.1111/j.1471-0307.2004.00142.x.

137. Lucey, J. A. Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: a review / J. A. Lucey, P. F. Fox // Journal of dairy science. – 1993. – Vol. 76, № 6. – P. 1714–1724. – DOI 10.3168/jds.S0022-0302(93)77504-9.

138. Maeng, H.-J. P-glycoprotein-mediated transport of berberine across Caco-2 cell monolayers / H.-J. Maeng, D.-J. Yoo, I.-W. Kim [et al.] // Journal of pharmaceutical sciences. – 2002. – Vol. 91, № 12. – P. 2614–2621. – DOI 10.1002/jps.10268.

139. Maghamian, N. Ultrasound-assisted preparation of double nano-emulsions loaded with glycyrrhizic acid in the internal aqueous phase and skim milk as the external aqueous phase / N. Maghamian, A. Najarian, M. Goli // LWT – Food science and technology. – 2021. – Vol. 141. – Art. 110850. – DOI 10.1016/j.lwt.2021.110850.

140. Manivasagan, P. Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria / P. Manivasagan, J. Venkatesan, K. Sivakumar, S. K. Kim // Microbiological research. – 2014. – Vol. 169, № 4. – P. 262–278. – DOI 10.1016/j.micres.2013.07.014.

141. Markowiak, P. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health / P. Markowiak, K. Ślączewska // Nutrients. – 2017. – Vol. 9, № 9. – Art. 1021. – DOI 10.3390/nu9091021.

142. McClements, D. J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity / D. J. McClements, J. Rao // Critical reviews in food science and nutrition. – 2011. – Vol. 51, № 4. – P. 285–330. – DOI 10.1080/10408398.2011.559558.

143. Minekus, M. A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus / M. Minekus, M. Alminger, P. Alvito [et al.] // Food & Function. – 2014. – Vol. 5, № 6. – P. 1113–1124. – DOI 10.1039/c3fo60702j.

144. Morris, G. M. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility / G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom [et al.] // Journal of computational chemistry. – 2009. – Vol. 30, № 16. – P. 2785–2791. – DOI 10.1002/jcc.21256.

145. Muschiolik, G. Double emulsions relevant to food systems: preparation, stability, and applications / G. Muschiolik, E. Dickinson // Comprehensive reviews in food science and food safety. – 2017. – Vol. 16, № 3. – P. 532–555. – DOI 10.1111/1541-4337.12261.

146. Musina, O. Application of modern computer algebra systems in food formulations and development: a case study / O. Musina, P. Putnik, M. Koubaa [et al.] // Trends in food science and technology. – 2017. – Vol. 64. – P. 48–59. – DOI 10.1016/j.tifs.2017.03.011.

147. Musina, O. Studying the features of the use of neural networks and machine learning in the design of food systems / O. Musina, E. Nagornykh // BIO Web of Conferences. – 2023. – Vol. 71. – Art. 1084. – DOI 10.1051/bioconf/20237101084.

148. Neag, M. A. Berberine: botanical occurrence, traditional uses, extraction methods, and relevance in cardiovascular, metabolic, hepatic, and renal disorders / M. A. Neag, A. Mocan, J. Echeverría [et al.] // Frontiers in pharmacology. – 2018. – Vol. 9. – Art. 557. – DOI 10.3389/fphar.2018.00557.

149. Neese, F. The ORCA program system / F. Neese // Wiley interdisciplinary reviews: computational molecular science. – 2012. – Vol. 2, № 1. – P. 73–78. – DOI 10.1002/wcms.81.

150. Ozturk, B. Formation and stabilization of nanoemulsion-based vitamin E delivery systems using natural biopolymers / B. Ozturk, S. Argin, M. Ozilgen, D. J. McClements // Food chemistry. – 2015. – Vol. 188. – P. 256–263. – DOI 10.1016/j.foodchem.2015.05.005.

151. Palanisamy, S. Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* brown algae: structural characterization, in vitro antioxidant and anticancer activity / S. Palanisamy, M. Vinosha, T. Marudhupandi [et al.] // International journal of biological macromolecules. – 2017. – Vol. 102. – P. 402–412. – DOI 10.1016/j.ijbiomac.2017.03.182.

152. Patel, A. R. Functional and edible uses of soy protein products / A. R. Patel // Comprehensive reviews in food science and food safety. – 2008. – Vol. 7, № 1. – P. 14–28. – DOI 10.1111/j.1541-4337.2007.00025.x.

153. Paximada, P. Double emulsions fortified with plant and milk proteins as fat replacers in cheese / P. Paximada, M. Howarth, B. N. Dubey // Journal of food engineering. – 2020. – Vol. 288. – Art. 110229. – DOI 10.1016/j.jfoodeng.2020.110229.

154. Peng, S. Enhancement of curcumin bioavailability by encapsulation in sophorolipid-coated nanoparticles: an *in vitro* and *in vivo* study / S. Peng, Z. Li, L. Zou [et al.] // Journal of agricultural and food chemistry. – 2018. – Vol. 66, № 6. – P. 1488–1497. – DOI 10.1021/acs.jafc.7b05478.

155. Potoroko, I. Yu. Development of yogurt based on lactose-free milk with a functional bioactive compound / I. Yu. Potoroko, A. M. Y. Kadi, Wang Minglei [et al.] // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2023. – Т. 11, № 2. – С. 57–64. – DOI 10.14529/food230207. – EDN KEDJYV.

156. Re, R. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay / R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente [et al.] // Free radical biology and medicine. – 1999. – Vol. 26, № 9–10. – P. 1231–1237. – DOI 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.

157. Roberfroid, M. Prebiotic effects: metabolic and health benefits / M. Roberfroid, G. R. Gibson, L. Hoyles [et al.] // British journal of nutrition. – 2010. – Vol. 104, suppl. 2. – S1–S63. – DOI 10.1017/S0007114510003363.

158. Rodriguez-Amaya, D. B. Food carotenoids: chemistry, biology and technology / D. B. Rodriguez-Amaya, J. Amaya-Farfan. – Wiley-Blackwell, 2016. – 327 p. – DOI 10.1002/9781118864364.

159. Romeih, E. A. Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: chemical, physical and sensory attributes / E. A. Romeih, A. Michaelidou, C. G. Biliaderis, G. K. Zerfiridis // International dairy journal. – 2002. – Vol. 12, № 4. – P. 525–540. – DOI 10.1016/S0958-6946(02)00043-2.

160. Ruas-Madiedo, P. Exopolysaccharides produced by probiotic strains modify the adhesion of probiotics and enteropathogens to human intestinal mucus / P. Ruas-Madiedo, M. Gueimonde, A. Margolles [et al.] // Journal of food protection. – 2006. – Vol. 69, № 2. – P. 2011–2015. – DOI 10.4315/0362-028X-69.8.2011.

161. Salami, M. Biological activity of camel milk casein following enzymatic digestion / M. Salami, A. A. Moosavi-Movahedi, F. Moosavi-Movahedi [et al.] // Journal of dairy research. – 2011. – Vol. 78, № 4. – P. 471–478. – DOI 10.1017/S0022029911000628.

162. Shahidi, F. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects / F. Shahidi, P. Ambigaipalan // Journal of functional foods. – 2015. – Vol. 18. – P. 820–897. – DOI 10.1016/j.jff.2015.06.018.

163. Silchenko, A. S. Hydrolysis of fucoidan by fucoidanase isolated from the marine bacteria, *Formosa algae* / A. S. Silchenko, M. I. Kusaykin, V. V. Kurilenko [et al.] // Marine drugs. – 2013. – Vol. 11, № 7. – P. 2413–2430. – DOI 10.3390/md11072413.

164. Singleton, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents / V. L. Singleton, J. A. Rossi // American journal of enology and viticulture. – 1965. – Vol. 16, № 3. – P. 144–158.

165. Sobti, B. Encapsulation properties of *Mentha piperita* leaf extracts prepared using an ultrasound-assisted double emulsion method / B. Sobti, A. Kamal-Eldin, S. Rasul [et al.] // Foods. – 2023. – Vol. 12, № 9. – Art. 1838. – DOI 10.3390/foods12091838.

166. Sodini, I. The relative effect of milk base, starter, and process on yogurt texture: a review / I. Sodini, F. Remeuf, S. Haddad, G. Corrieu // Critical reviews in food science and nutrition. – 2004. – Vol. 44, № 2. – P. 113–137. – DOI 10.1080/10408690490424793.

167. Su, P. Analytics and applications of polyglycerol polyricinoleate (PGPR) – Current research progress / P. Su, S. Legay, G. Ye [et al.] // Comprehensive reviews in food science and food safety. – 2023. – Vol. 22. – P. 4282–4301. – DOI 10.1111/1541-4337.13223.

168. Suslick, K. S. Sonochemistry / K. S. Suslick // Science. – 1990. – Vol. 247, № 4956. – P. 1439–1445. – DOI 10.1126/science.247.4956.1439.

169. Tamime, A. Y. Tamime and Robinson's Yoghurt: science and technology / A. Y. Tamime, R. K. Robinson. – 3rd ed. – Amsterdam : Woodhead, 2007. – 808 p. – ISBN 978-1-84569-213-1.

170. Tillhon, M. Berberine: new perspectives for old remedies / M. Tillhon, L. M. Guaáman Ortiz, P. Lombardi, A. I. Scovassi // Biochemical pharmacology. – 2012. – Vol. 84, № 10. – P. 1260–1267. – DOI 10.1016/j.bcp.2012.07.018.

171. Torino, M. I. Antioxidant and antihypertensive properties of liquid and solid state fermented lentils / M. I. Torino, R. I. Limón, C. Martínez-Villaluenga [et al.] // Food chemistry. – 2013. – Vol. 136, № 2. – P. 1030–1037. – DOI 10.1016/j.foodchem. 2012.09.015.

172. van de Langerijt, T. M. Structural, binding and functional properties of milk protein-polyphenol systems: a review / T. M. van de Langerijt, J. A. O'Mahony, S. V. Crowley // Molecules. – 2023. – Vol. 28, № 5. – Art. 2288. – DOI 10.3390/ molecules28052288.

173. van Duynhoven, J. Microbes and health sackler colloquium: Human metabolic phenotyping using whole-body interactions / J. van Duynhoven, E. E. Vaughan, D. M. Jacobs [et al.] // PNAS. – 2011. – Vol. 108, suppl. 1. – P. 4523–4532. – DOI 10.1073/pnas.1000099107.

174. van Nieuwenhuyzen, W. Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies / W. van Nieuwenhuyzen, M. C. Tomás // European journal of lipid science and technology. – 2008. – Vol. 110, № 5. – P. 472–486. – DOI 10.1002/ejlt.200800041.

175. Vo, T. S. Fucoidans as a natural bioactive ingredient for functional foods / T. S. Vo, S. K. Kim // Journal of functional foods. – 2013. – Vol. 5, № 1. – P. 16–27. – DOI 10.1016/j.jff.2012.08.007.

176. Vuddanda, P. R. Berberine: a potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities / P. R. Vuddanda, S. Chakraborty, S. Singh // Expert opinion on investigational drugs. – 2010. – Vol. 19, № 10. – P. 1297–1307. – DOI 10.1517/13543784.2010.517745.

177. Walstra, P. Physical chemistry of foods / P. Walstra. – Wageningen : Marcel Dekker, 2003. – 807 p. – ISBN 978-0-8247-9355-2.

178. Wang, M. Analysis of the mechanism of berberine against stomach carcinoma based on network pharmacology and experimental validation / M. Wang, Z. Xu, Z. Wang [et al.] // Translational cancer research. – 2024. – Vol. 13, № 9. – P. 4593–4607. – DOI 10.21037/tcr-24-668.

179. Wijesinghe, W. A. J. P. Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweeds / W. A. J. P. Wijesinghe, Y.-J. Jeon // Carbohydrate polymers. – 2012. – Vol. 88, № 1. – P. 13–26. – DOI 10.1016/j.carbpol.2011.12.029.

180. Yan, H. M. Efficacy of berberine in patients with non-alcoholic fatty liver disease / H. M. Yan, M. F. Xia, Y. Wang [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, № 8. – Art. e0134172. – DOI 10.1371/journal.pone.0134172.

181. Yin, J. Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus / J. Yin, H. Xing, J. Ye // Metabolism. – 2008. – Vol. 57, № 5. – P. 712–717. – DOI 10.1016/j.metabol.2008.01.013.

182. Zvyagintseva, T. N. Mechanisms of bioactivities of fucoidan from the brown seaweed *Fucus vesiculosus* L. of the Barents Sea / T. N. Zvyagintseva, N. M. Shevchenko, A. O. Chizhov [et al.] // Marine drugs. – 2020. – Vol. 18, № 5. – Art. 275. – DOI 10.3390/md18050275.

Приложение А

(справочное)

Результаты интеллектуальной деятельности

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2803980

Способ получения пищевого ингредиента

Патентообладатель: ***Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)" ФГАОУ ВО "ЮУрГУ (НИУ)" (RU)***

Авторы: ***Багале Удай Дашаратх (RU), Кади Аммар Мохаммад Яхья (RU), Потороко Ирина Юрьевна (RU), Калинина Ирина Валерьевна (RU), Науменко Наталья Владимировна (RU), Малинин Артем Владимирович (RU), Цатуров Арам Валерикович (RU), Брызгалова Анна Дмитриевна (RU)***

Заявка № **2023106364**
Приоритет изобретения **17 марта 2023 г.**
Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации **25 сентября 2023 г.**
Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **17 марта 2043 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2803980

Способ получения пищевого ингредиента

Патентообладатель: ***Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)" ФГАОУ ВО "ЮУрГУ (НИУ)" (RU)***

Авторы: ***Багале Удай Дашаратх (RU), Кади Аммар Мохаммад Яхья (RU), Потороко Ирина Юрьевна (RU), Калинина Ирина Валерьевна (RU), Науменко Наталья Владимировна (RU), Малинин Артем Владимирович (RU), Цатуров Арам Валерикович (RU), Брызгалова Анна Дмитриевна (RU)***

Заявка № **2023106364**
Приоритет изобретения **17 марта 2023 г.**
Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации **25 сентября 2023 г.**
Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **17 марта 2043 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

Приложение Б

(справочное)

Акты внедрения

АКТ

о внедрении результатов научно-исследовательской работы сотрудников ФГБОУ ВПО «Южно-уральский государственный университет» (НИУ)» Потороко И.Ю., А.М. Кади по отработке технологии производства обогащённого йогурта с внесением биоактивных двойных эмульсий (с фукоиданом и берберином)

Настоящий акт подтверждает проведение в ООО «Молоко Зауралья» (г. Курган) апробации технологии производства обогащённых йогуртов с внесением биоактивных двойных эмульсий типа W/O/W (вода в масле в воде).

В ООО «Молоко Зауралья» (г. Курган) проведена апробация разработанной сотрудниками ЮУрГУ (НИУ) Потороко И. Ю. и Кади А. М. технологии производства обогащённого йогурта с биоактивными двойными эмульсиями типа W/O/W, содержащими БАВ – фукоидан или берберин: ключевые параметры процесса получения йогурта – пастеризация при 72 ± 1 °С в течение 15 секунд, внесение двойной эмульсии в дозировке 5 % об./об., добавление термофильной закваски DVS в количестве 2-3 % при 42 ± 1 °С, инкубация в течение 6 часов при 42 °С и до кислотности 80-110 °Т и последующее охлаждение до температуры от 4-6 °С; использованное сырьё (молоко по ГОСТ 31450-2013, закваска по ГОСТ 34372-2017, вспомогательные компоненты) соответствовало техническим и санитарным требованиям и было подтверждено сертификатами и протоколами испытаний.

Результаты апробации подтвердили соответствие образцов йогурта нормативным требованиям: по физико-химическим – массовая доля белка составила не менее 3,2 %, кислотность находилась в диапазоне 75-140 °Т, антиоксидантная активность повысилась в 2,7-2,9 раза; по санитарно-гигиеническим и микробиологическим – продукция соответствует ГОСТ 31981-2013 и ряду ТР ТС. При этом система контроля качества на всех технологических этапах обеспечила стабильность параметров, а транспортирование и хранение в соответствии с требованиями для скоропортящихся продуктов (при температуре 4 ± 2 °С и срока годности – 7-14 дней) – безопасность и сохранность свойств кисломолочной продукции.

Разработанный способ может быть рекомендован для внедрения на предприятиях молочной отрасли для повышения качества и потребительских свойств продукции.

Первый заместитель генерального директора ООО «Молоко Зауралья» Л.В. Кузнецова

Российская Федерация Курганская область Общество с ограниченной ответственностью "Молоко Зауралья" город Курган

АКТ

о внедрении результатов научно-исследовательской работы сотрудников ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (НИУ)» Потороко И. Ю., А. М. Кади по апробации технологии производства обогащённого мягкого сыра с внесением биоактивных двойных эмульсий (с фукоиданом или берберином)

Настоящий акт подтверждает проведение в ООО «Молоко Зауралья» (г. Курган) экспериментальной проверки и апробации технологии производства обогащённых мягких сыров с внесением биоактивных двойных эмульсий типа W/O/W. В ходе испытаний выработан мягкий сыр на основе пастеризованного нормализованного молока с добавлением двойной эмульсии, содержащий ВАБ – фукоидан или берберин.

Результаты апробации подтвердили соответствие образцов обогащенного мягкого сыра нормативным требованиям. В процессе апробации подтверждено соответствие всего используемого сырья (молока, закваски, сычужного фермента, хлорида кальция, соли и компонентов для двойной эмульсии) установленным нормативам – ГОСТ 31450-2013, ГОСТ 34372-2017, ГОСТ 34353-2017, ГОСТ 450-77, ГОСТ Р 51574-2018 и иным требованиям, а также соблюдены все регламентированные параметры технологического процесса – от подготовки молока до упаковки готового продукта, при этом отклонений, влияющих на безопасность и качество, не было выявлено.

Оценка готовых образцов мягкого сыра (контрольного, с фукоиданом и с берберином) показала соответствие органолептических и физико-химических показателей: консистенция, вкус и запах отвечают требованиям стандарта; массовая доля влаги и соли находится в пределах допустимой нормы ГОСТ 32263-2013. Антиоксидантная активность, измеренная методом DPPH, в образцах с биоактивными веществами существенно превысила показатели контрольного образца, что свидетельствует о формировании у продукта выраженных функциональных свойств.

По санитарно-гигиеническим и микробиологическим показателям продукция соответствует ГОСТ 32263-2013 и ряду Технических регламентов Таможенного союза (ТР ТС 033/2013, ТР ТС 021/2011, ТР ТС 029/2012, ТР ТС 022/2011, ТР ТС 005/2011), что подтверждает её безопасность.

Разработанный способ может быть рекомендован для внедрения на предприятиях молочной отрасли для повышения качества и потребительских свойств продукции.

Первый заместитель генерального директора ООО «Молоко Зауралья» Л.В. Кузнецова

Приложение В

(справочное)

Технологические инструкции

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)»

УТВЕРЖДАЮ:

Начальник управления научной и инновационной деятельностью ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)»
_____к.т.н., доцент Л.В. Шипулин

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ
по производству обогащенного мягкого сыра с внесением биоактивных двойных эмульсий

ТИ 3.199.01005-2026

Дата введения в действие_____

РАЗРАБОТАНО:

Директор ВМБШ
ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)»
Д.т.н., профессор
_____Потороко И.Ю.
Ассистент кафедры «Пищевые и биотехнологии»
ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)»
_____А.М.Я. Кади

Челябинск 2026

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)»

УТВЕРЖДАЮ:

Начальник управления научной и инновационной деятельностью ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)»
к.т.н., доцент Л.В. Шипулин
_____

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ
по производству обогащенного йогурта с внесением биоактивных двойных эмульсий

ТИ 3.110.01006-2026

Дата введения в действие_____

РАЗРАБОТАНО:

Директор ВМБШ
ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)»
Д.т.н., профессор
_____Потороко И.Ю.
Ассистент кафедры «Пищевые и биотехнологии»
ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)»
_____А.М.Я. Кади

Челябинск 2026

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)»

УТВЕРЖДАЮ:

Начальник управления научной и инновационной деятельностью ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)»
_____ к.т.н., доцент Л.В. Шипулин

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ
по производству биоактивных двойных эмульсий для обогащения кисломолочных систем

ТИ 3.110.01007-2026

Дата введения в действие_____

РАЗРАБОТАНО:

Директор ВМБШ
ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)»
Д.т.н., профессор
_____Потороко И.Ю.
Ассистент кафедры «Пищевые и биотехнологии»
ФГАОУ ВО «ЮУрГУ (НИУ)»
_____А.М.Я. Кади

Челябинск 2026

Приложение Г

(справочное)

Результаты анализа сетевой фармакологии биоактивных веществ

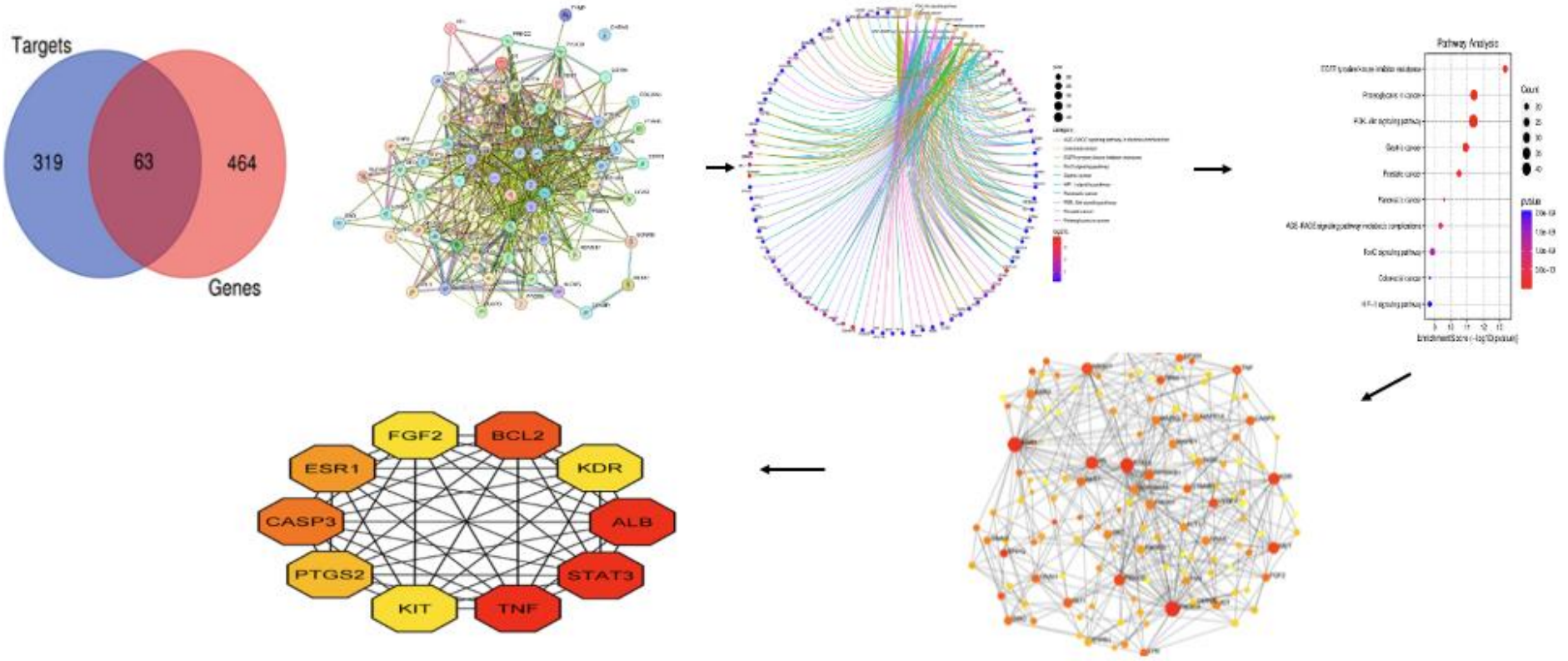


Рисунок Г.1 – Сетевая фармакология фукоидана: диаграмма Венна (63 общих гена); PPI-сеть и ее кластеры (1049 узлов / 1717 ребер и 141 узел / 435 ребер); сеть «соединение – мишень» и десять генов с наибольшей степенью связности; сеть обогащенных биологических процессов; KEGG-обогащение и пузырьковая диаграмма сигнальных путей

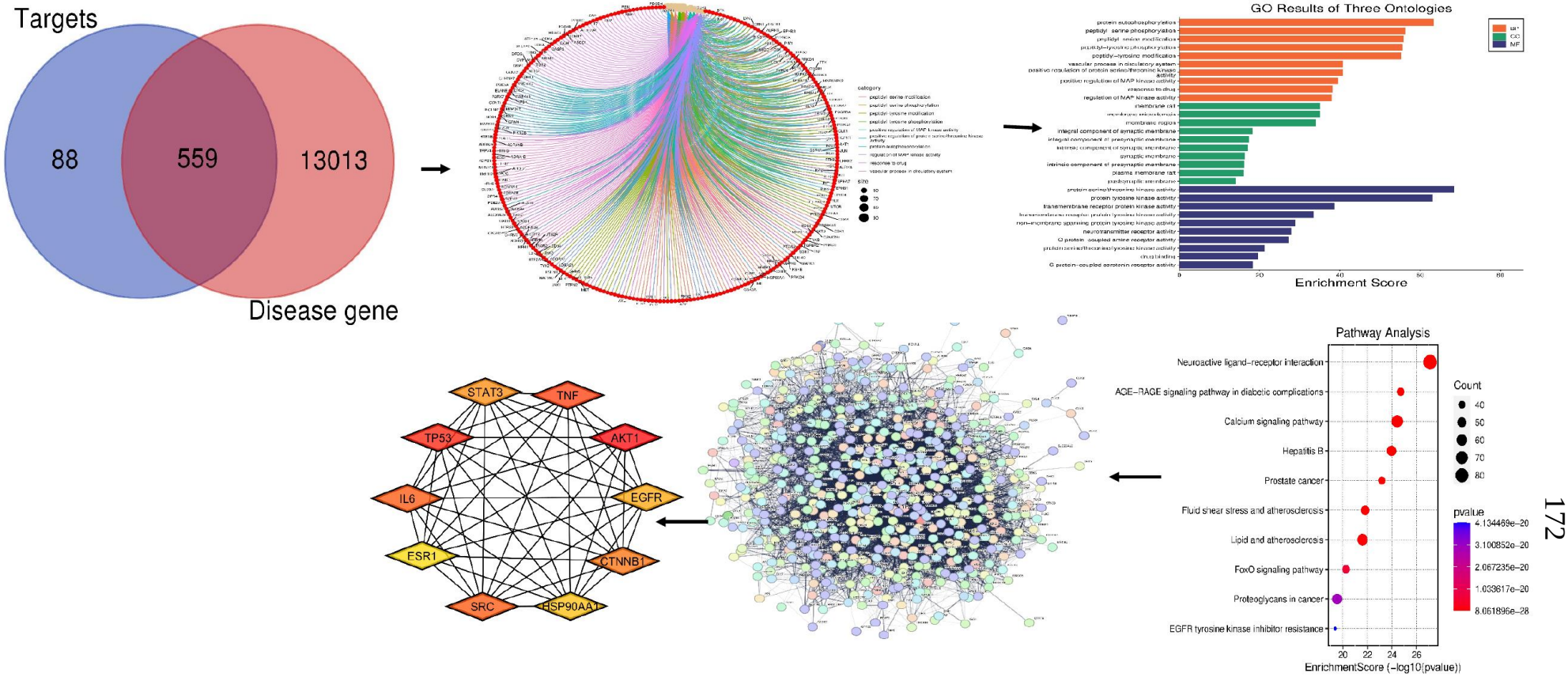


Рисунок Г.2 – Сетевая фармакология берберина: диаграмма Венна (559 общих генов); сеть «мишень – сигнальный путь» по результатам KEGG-обогащения; GO-обогащение по трем онтологиям (BP, CC, MF); PPI-сеть STRING; десять хаб-генов с наибольшей степенью связности; пузырьковая диаграмм