

## МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЕ ПЕПСИНА В ДВУХКОМПОНЕНТНОМ ЗАЩИТНОМ СЛОЕ

**А.В. Дьячкова<sup>1,2</sup>, С.Л. Тихонов<sup>1</sup>, Н.В. Тихонова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Уральский государственный экономический университет, г. Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> Уральский федеральный университет им. первого президента России  
Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия

Статья имела целью проведение эксперимента с производством микрокапсул в псевдокипящем слое и оценке влияния двухкомпонентного защитного материала микрокапсулы – мальтодекстрина с гуммиарабиком и мальтодекстрина с желатином на протеолитическую активность микрокапсулированного пепсина. В результате проведенного факторного анализа было обнаружено, что микрокапсулы с различной толщиной защитного слоя демонстрируют лучшее сохранение первоначальной активности фермента, при этом выявлено наличие существенных различий между некапсулируемым и капсулируемым ферментом с пятой минуты ферментации. Различия между микрокапсулами разной толщины (2, 4, 6 мкм) существенны с 15 минуты ферментации; существенное различие и влияние оказывает не вид защитного слоя, а его толщина. Микрокапсулы с пепсином с защитным материалом мальтодекстрина и желатина, мальтодекстрина и гуммиарабика с толщиной слоя 4 и 6 мкм не проявляли потери активности на протяжении всего срока хранения (18 мес.) при 2 °С. Выявлены отличия в активности пепсина при хранении только между некапсулируемым ферментом и закапсулированным, при этом отсутствует существенная разница между различными микрокапсулами в активности пепсина на протяжении всего срока хранения. Результаты эксперимента по микрокапсуляции пепсина в двухкомпонентный защитный материал в псевдокипящем слое позволяют рекомендовать использовать любой из двухкомпонентных составов в пропорции 3:1, толщина покрытия 4 мкм. Выбор между гуммиарабиком или желатином к мальтодекстрину – вопрос скорее о доступности материала, а не эффективности. Данная технология и материалы для микрокапсулирования могут быть внедрены и активно использоваться в пищевом производстве.

**Ключевые слова:** микрокапсулирование, псевдокипящий слой, пепсин, мальтодекстрин и желатин, мальтодекстрин и гуммиарабик.

### Введение

Наука в области пищевой биотехнологии активно исследует возможности микрокапсулирования витаминов, ферментов, пробиотиков, антиоксидантов для улучшения пищевых свойств продуктов, увеличения сроков годности. Необходимость капсулирования ферментов обусловлена тем, что их активность снижается под воздействием окружающей среды (температура, свет). За счет микрокапсулирования можно повысить термическую и эксплуатационную стабильность ферментов. В многочисленных исследованиях было подтверждено, что технология микрокапсулирования в псевдокипящем слое экономически целесообразна по причине невысокой стоимости производства и легкой воспроизводимости процесса [1–4]. При этом обеспечивается высокая эффективность микрокапсулирования (уровень инкапсуляции вещества в качестве ядра, гигроскопичность, слипаемость микрокапсул), которая сохраняется на протя-

жении относительно длительного срока хранения (от 6 до 12 мес.) [5–7].

Дальнейший вектор исследовательских задач связан с выбором оптимального вещества в качестве защитного материала. В многочисленных работах, исследующих инкапсуляцию различных пищевых ингредиентов, но использующих одинаковый защитный материал, часто имеют схожие выводы о высоких исследуемых показателях [8–11]. Это может означать, что вид ядра скорее не оказывает существенного влияния на качество микрокапсулы. В то время как вид защитного материала является определяющим для обеспечения высоких показателей эффективности микрокапсулирования. При этом исследователи выделяют, что монокомпонентный защитный материал уступает по исследуемым показателям двухкомпонентным материалам [6, 12, 13]. В работах объясняется это тем, что защитный материал не способен одновременно защищать вещество ядра от его разруше-

ния, иметь требуемую механическую прочность, быть совместимым с пищевым продуктом, обеспечивать контролируемое высвобождение и иметь требуемые термические свойства, совместимые со свойствами продукта одновременно по всем параметрам.

В современных исследованиях встречаются эксперименты по производству микрокапсул с двухкомпонентным защитным материалом хитозана или мальтодекстрина в сочетании с желатином или гуммиарабиком [6, 8, 12]. В этих исследованиях значимых выводов об эффективности определенного двухкомпонентного защитного материала не сделано.

В связи с этим перспективная исследовательская задача состоит в поиске эффективного двухкомпонентного материала для защитного слоя в производстве микрокапсул.

**Цель работы** – экспериментально оценить влияние двухкомпонентного защитного материала микрокапсулы – мальтодекстрина с гуммиарабиком и мальтодекстрина с желатином на протеолитическую активность микрокапсулированного пепсина и разработать рекомендации по его микрокапсулированию

#### **Объекты и методы исследования**

В эксперименте в качестве капсулируемого вещества – ядра – выбран пепсин. Двухкомпонентное защитное вещество микрокапсул: мальтодекстрин с желатином и мальтодекстрин с гуммиарабиком. Пропорция двух материалов была выбрана 3:1, которая была обозначена в работах [12, 14] как оптимальная.

Двухкомпонентный раствор мальтодекстрина с гуммиарабиком растворяли в дистиллированной воде, нагретой до 70 °С, при постоянном перемешивании при 120 об./мин в течение 1 часа, остужали постепенно и затем выдерживали в течение ночи при  $(4 \pm 2)$  °С для регидратации. Для второго вида микрокапсул растворяли желатин в горячей дистиллированной воде при перемешивании до образования водного раствора, затем вносили мальтодекстрин при постоянном перемешивании до полного растворения всех материалов. Производство микрокапсул было проведено в разработанном исследователями аппарате, состоящим из стеклянной емкости, непосредственно в которой происходит нанесение на поверхность фермента псевдооживленного слоя. К стеклянной емкости через патрубок с помощью компрессора с воздухом подается поток ферментов. Частицы в турбулентном потоке подсушиваются и поступают в

корпус аппарата. После выдачи всей порции жидких компонентов вентиль закрывают. Продолжительность сушки составляет 5–8 минут. По окончании сушки нижнюю горловину корпуса перекрывают затвором с заслонкой, и порция капсулированного фермента самотеком сыпается в емкость для готового продукта [2].

Микрокапсулы были выполнены с толщиной защитного слоя 2, 4 и 6 мкм посредством разной продолжительностью протекания процесса капсулирования (для увеличения толщины защитного слоя увеличивали время капсулирования).

Протеолитическая активность пепсина оценивалась по методу, описанному в работах [15, 16], в качестве субстрата использовали казеин по Гамерстену. Активность пепсина определяли в диапазоне от 1,5 до 5,0 рН по количеству тирозина, образующегося в результате гидролиза казеина после инкубации в течение 15 мин при температуре 40 °С. Образцы были подвергнуты центрифугированию и фильтрации. Активность пепсина оценивали по увеличению УФ-поглощения супернатанта при 280 нм.

Контрольными образцами являлся чистый некапсулированный пепсин. Полученные образцы хранили в защищенном от света месте при комнатной температуре. Проверены истинные различия в начале эксперимента и сделаны замеры по прошествии 3, 6, 12, 18 месяцев хранения.

Для оценки различия скорости изменения активности микрокапсулированного фермента и нативного фермента использовался коэффициент опережения. Он рассчитывается как отношение активности микрокапсулированного фермента к некапсулированному для каждого момента измерения. Если показатель означает насколько медленнее падает активность капсулированного фермента по отношению к некапсулированному.

Для определения влияния вида защитного слоя на протеолитическую активность был проведен дисперсионный анализ результатов. Данные были протестированы на 5 %-ном уровне значимости.

#### **Результаты и их обсуждение**

Первоначальная активность ферментного препарата рассматривалась в качестве стандарта для оценки его стабильности. Микрокапсулы с различной толщиной защитного слоя демонстрируют лучшее сохранение первоначальной активности фермента (рис. 1).

Поскольку наблюдается снижение активности как некапсулированного пепсина, так и в микрокапсулах, поэтому следует выявить скорость изменения активности в микрокапсулах по отношению к нативному ферменту. Для этого рассчитали коэффициент опережения, по которому соотносили активность фермента каждого вида образца микрокапсулы с некапсулируемым ферментом, на основе полученных данных построили график (рис. 2).

Из графика видно (см. рис. 2), что наибольшую результативность обеспечили микрокапсулы с защитным материалом из мальтодекстрина и гуммиарабика с защитным слоем толщиной 6 мкм. В целом было выявлено, что большая толщина слоя имеет больший защитный эффект.

Проведен факторный анализ данных активности микрокапсулированного фермента и некапсулированного. Значение F-критерия влияния активности пепсина от продолжительности ферментации превышает F критическое ( $203,695229 > 1,93695813$ ). Вычисленная наименьшая существенная разница составила 4,05573796, что позволяет заключить о наличии существенных различий между некапсулируемым и капсулируемым ферментом с пятой минуты ферментации. Различия между микрокапсулами разной толщины (2, 4, 6 мкм) существенны с 15 минуты ферментации. При этом существенные различия не подтверждаются для микрокапсул с разным защитным материалом, но одинаковой толщины. Это означает, что существенное различие и влияние оказывает не вид защитного слоя, а его толщина.

Дисперсионный анализ данных протеолитической активности пепсина при хранении подтверждает отсутствие существенной разницы между различными микрокапсулами ( $F_{\text{факт}} < F_{\text{теор}}$ ;  $1,07344834 < 2,36375096$ ). Наблюдаются отличия между некапсулируемым ферментом и закапсулированным (см. таблицу).

Микрокапсулы с пепсином с защитным материалом мальтодекстрина и желатина, мальтодекстрина и гуммиарабика с толщиной слоя 4 и 6 мкм не проявляли потери активности до 18 месяцев хранения при 2 °С. Снижение активности объясняется зависимой от

времени естественной потерей, и это может быть в значительной степени предотвращено путем микрокапсулирования. Защищенный в матрицу защитного материала из смеси мальтодекстрина с желатином или гуммиарабиком дает преимущество за счет увеличения стабильности фермента в течение всего срока хранения при 2 °С, что определено экспериментом по стабильности при хранении. Данные выводы согласуются с исследованиями [10, 12, 14].

### Выводы

В результате проведенного эксперимента с микрокапсулированием пепсина с двухкомпонентными составами защитного покрытия и толщины были сделаны следующие выводы (на 5 %-ном уровне значимости):

- наличие существенных различий между некапсулируемым и капсулируемым ферментом с пятой минуты ферментации;

- различия между микрокапсулами разной толщины (2, 4, 6 мкм) существенны с 15 минуты ферментации;

- существенное различие и влияние оказывает не вид защитного слоя, а его толщина;

- выявлены отличия в активности пепсина на протяжении всего срока хранения (18 мес.) только между некапсулируемым ферментом и закапсулированным;

- отсутствие существенной разницы между различными микрокапсулами в активности пепсина на протяжении всего срока хранения.

Результаты эксперимента по микрокапсуляции пепсина в двухкомпонентный защитный материал в псевдокипящем слое позволяют рекомендовать использовать любой из двухкомпонентных составов в пропорции 3:1, толщина покрытия 4 мкм. Выбор между гуммиарабиком или желатином к мальтодекстрину – вопрос скорее о доступности материала, а не эффективности. Увеличение толщины защитного слоя может сопровождаться большими временными расходами и расходами материалов, не обеспечивая рост сохраняемости активности капсулированного фермента на значимом уровне ( $p = 0,01$ ).

Данная технология и материалы для микрокапсулирования могут быть внедрены и активно использоваться в пищевом производстве.

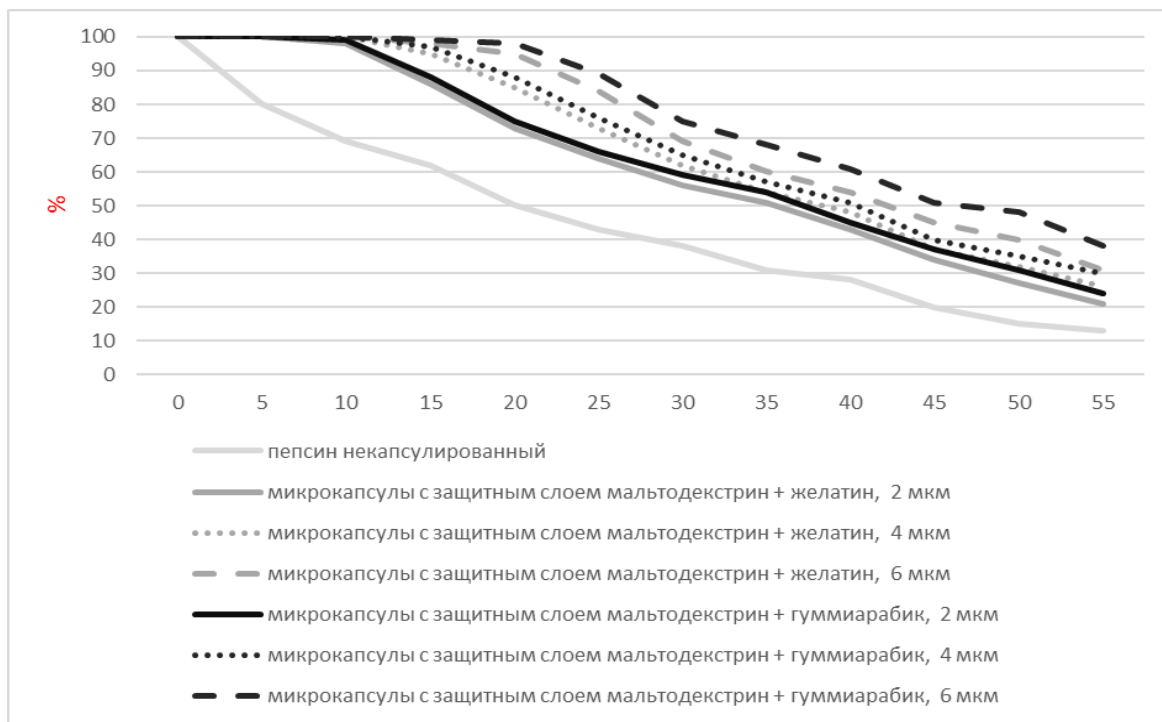


Рис. 1. Активность пепсина для различных микрокапсул, %

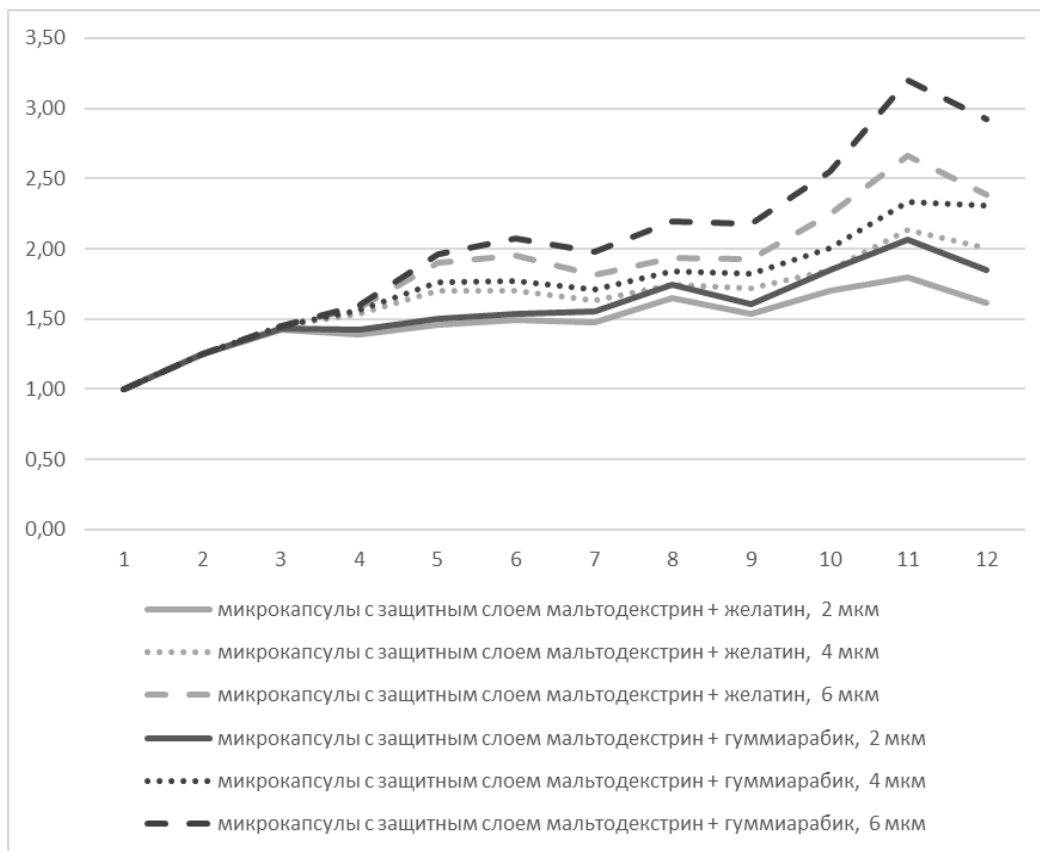


Рис. 2. Коэффициент опережения снижения активности фермента

### Протеолитическая активность пепсина

Месяцы хранения	0	3	6	9	12	15	18
Пепсин некапсулированный	100	98	96	91	87	85	83
Микрокапсулы с защитным слоем мальтодекстрин + желатин, 2 мкм	100	100	100	100	100	100	99
Микрокапсулы с защитным слоем мальтодекстрин + желатин, 4 мкм	100	100	100	100	100	100	100
Микрокапсулы с защитным слоем мальтодекстрин + желатин, 6 мкм	100	100	100	100	100	100	100
Микрокапсулы с защитным слоем мальтодекстрин + гуммиарабик, 2 мкм	100	100	100	100	100	100	100
Микрокапсулы с защитным слоем мальтодекстрин + гуммиарабик, 4 мкм	100	100	100	100	100	100	100
Микрокапсулы с защитным слоем мальтодекстрин + гуммиарабик, 6 мкм	100	100	100	100	100	100	100

### Литература/References

1. Gomes B., Barba F.J., Dominguez R., et al. Microencapsulation of antioxidant compounds through innovative technologies and its specific application in meat processing. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 82. pp. 135–147. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.10.006
2. Kudryashov L.S., Uzakov Ya.M., Tikhonov S.L., Tikhonova N.V., Diachkova A.V. Microencapsulation of proteolytic enzymes for industrial application // Известия НАН РК. Серия геологии и технических наук. 2020. С. 161–170. [Kudryashov L.S., Uzakov Ya.M., Tikhonov S.L., Tikhonova N.V., Diachkova A.V. Microencapsulation of proteolytic enzymes for industrial application. *Izvestiya NAN RK. Seriya geologii i tekhnicheskikh nauk* [News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Geology and Technology Sciences], 2020, pp. 161–170].
3. Silva P.T., Fries L.L.M., Menezes C.R., Holkem A.T., Schwan C.L., Wigmann E.F., ..., da Silva C.D. Microencapsulation: Concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciencia Rural*, 2014, vol. 44(7), pp. 1304–1311. DOI: 10.1590/0103-8478cr20130971
4. Кудряшов Л.С., Тихонов С.Л., Тихонова Н.В., Дьячкова А.В. Микрокапсулирование пепсина и оценка его протеолитических свойств // Вестник ВСГУТУ. 2019. Т. 3 (74). – С. 31–41. [Kudryashov L.S., Tikhonov S.L., Tikhonova N.V., Dyachkova A.V. Microencapsulation of pepsin and estimation of its proteolytic properties. *Vestnik VSGUTU* [ESSUTM Bulletin], 2019, vol. 3(74), pp. 31–41. (in Russ.)]
5. Shiwani Guleria Sh., Walia A., Chauhan A & C. K. Shirkot Optimization of milk-clotting enzyme production by *Bacillus amyloliquefaciens* SP1 isolated from apple rhizosphere. *Bioresources and Bioprocessing*, 2016, vol. 3. DOI: 10.1186/s40643-016-0108-6
6. Mehran M., Masoum S., Memarzadeh M. Improvement of thermal stability and antioxidant activity of anthocyanins of *Echium amoenum* petal using maltodextrin/modified starch combination as wall material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, vol. 148, pp. 768–776. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.197
7. Маковская Ю.В., Гордиенко М.Г. Исследование качества покрытия при инкапсуляции лекарственных веществ в псевдооживленном слое методами статистики // Успехи в химии и химической технологии. 2009. Т. XXIII, № 1 (94). [Makovskaya Yu.V., Gordienko M.G. Issledovanie kachestva pokrytiya pri inkapsulyacii lekarstvennykh veshchestv v psevdoozhizhennom sloe metoda-mi statistiki. *Uspekhi v himii i himicheskoy tekhnologii*, 2009, vol. XXIII, no. 1 (94)]
8. Ferrari C.C., Marconi Germer S.P., Alvim I.D., J.M. de Aguirre. Storage stability of spray-dried blackberry powder produced with maltodextrin or gum Arabic. *Dry. Technol.*, 2013, vol. 31 (4), pp. 470–478. DOI: 10.1080/07373937.2012.742103

9. Sartori T., Consoli L., Hubinger M.D and F. C. Menegalli Ascorbic acid microencapsulation by spray chilling: Production and characterization. *LWT – Food Science and Technology*, 2015, vol. 63, pp. 353–360. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.03.112
10. Ying D., Sanguansri L., Weerakkody R., Bull M., Singh T.K., Augustin M. Effect of encapsulant matrix on stability of microencapsulated probiotics. *J. Funct. Foods*, 2016, vol. 25. DOI: 10.1016/j.jff.2016.06.020
11. Hoyos-Leyva J.D., Chavez-Salazar A., Castellanos-Galeano F., Bello-Perez L.A., Alvarez-Ramirez J. Physical and chemical stability of L-ascorbic acid microencapsulated into taro starch spherical aggregates by spray drying. *Food Hydrocolloids*, 2018, vol. 83, pp. 143–152. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.05.002
12. MahdaveeKhazaei K., S.M. Jafari, M. Ghorbani, A. HemmatiKakhki Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate Polymers*, 2014, vol. 105, pp. 57–62. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.01.042
13. Boiero M.L., Mandrioli M., Vanden Braber N., Rodriguez-Estrada M.T., Garca N.A., C.D. Borsarelli, M.A. Montenegro Gum arabic microcapsules as protectors of the photoinduced degradation of riboflavin in whole milk. *Journal of Dairy Science*, 2014, vol. 97(9). pp. 5328–5336. DOI: 10.3168/jds.2013-7886
14. Mahdavi S.A., Jafari S.M., Assadpoor E., Dehnad D. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, vol. 85, pp. 379–385. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011
15. Hasem, A. M. Purification and properties of a milk-clotting enzyme produced by *Penicillium oxalicum*. *Bioresource Technology*, 2000, vol. 75, pp. 219–222. DOI: 10.1016/S0960-8524(00)00055-9
16. Bergkvist, R. The proteolytic enzyme of *Aspergillus oryzae* 1. Methods for the estimation and isolation of the proteolytic enzymes. *Acta Chemica Scandinavica*, 1963, vol. 17, pp. 1521–1540. DOI: 10.3891/acta.chem.scand.17-1521

**Дьяčkова Анна Викторовна**, канд. экон. наук, доц. кафедры пищевой инженерии, Уральский государственный экономический университет (г. Екатеринбург); доц. кафедры экономической теории, Уральский федеральный университет им. первого президента России Б.Н. Ельцина (г. Екатеринбург), a.v.diachkova@urfu.ru

**Тихонов Сергей Леонидович**, заведующий кафедрой пищевой инженерии, д-р техн. наук, профессор, Уральский государственный экономический университет (г. Екатеринбург), tihonov75@bk.ru

**Тихонова Наталья Валерьевна**, д-р техн. наук, профессор кафедры пищевой инженерии, Уральский государственный экономический университет (г. Екатеринбург), tihonov75@bk.ru

Поступила в редакцию 23 марта 2020 г.

## MICROENCAPSULATION OF PEPSIN IN A TWO-COMPONENT WALL MATERIAL

**A.V. Diachkova<sup>1,2</sup>, S.L. Tikhonov<sup>1</sup>, N.V. Tikhonova<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ural State University of Economics, Ekaterinburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russian Federation

The aim of the article was to do the experiment of microcapsulation in a pseudo-boiling layer and to assess the effect of the two-component protective material of the microcapsule - maltodextrin with gum arabic and maltodextrin with gelatin on the proteolytic activity of microencapsulated pepsin. As a result of the factorial analysis, it was found that microcapsules with different thicknesses of the protective layer demonstrate better preservation of the initial activity of the enzyme, while significant differences were revealed between the non-encapsulated and encapsulated enzyme from the fifth minute of fermentation. Differences between microcapsules of different thickness (2, 4, 6  $\mu\text{m}$ ) are significant from 15 minutes of fermentation; a significant difference and influence is made not by the type of the protective layer, but by its thickness. Microcapsules with pepsin with a protective material of maltodextrin and gelatin, maltodextrin and gum arabic with a layer thickness of 4 and 6  $\mu\text{m}$  did not show any loss of activity during the entire storage period (18 months) at 2 °C. Differences in the activity of pepsin during storage were revealed only between the non-encapsulated enzyme and the encapsulated one, while there was no significant difference between different microcapsules in the activity of pepsin throughout the entire storage period. The results of the experiment on microencapsulation of pepsin in a two-component protective material in a pseudo-boiling layer make it possible to recommend the use of any of the two-component compositions in a ratio of 3:1, coating thickness 4  $\mu\text{m}$ . The choice between gum arabic or gelatin to maltodextrin is a matter of material availability rather than efficiency. This technology and materials for microencapsulation can be introduced and actively used in food industry.

**Keywords:** microencapsulation, pseudo-boiling layer, pepsin, maltodextrin and gelatin, maltodextrin and gum Arabic.

**Anna V. Diachkova**, PhD in Economics, Associate Professor, Ural State University of Economics; Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, a.v.diachkova@urfu.ru

**Sergey L. Tikhonov**, head of the Department of food engineering, Doctor of Engineering, Professor, Ural State University of Economics, Ekaterinburg, tihonov75@bk.ru

**Natalya V. Tikhonova**, Doctor of Engineering, Professor, Ural State University of Economics, Ekaterinburg, ticonov75@bk.ru

*Received March 23, 2020*

### ОБРАЗЕЦ ЦИТИРОВАНИЯ

Дьячкова, А.В. Микрокапсулирование пепсина в двухкомпонентном защитном слое / А.В. Дьячкова, С.Л. Тихонов, Н.В. Тихонова // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2020. – Т. 8, № 3. – С. 40–46. DOI: 10.14529/food200305

### FOR CITATION

Diachkova A.V., Tikhonov S.L., Tikhonova N.V. Microencapsulation of Pepsin in a Two-Component Wall Material. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2020, vol. 8, no. 3, pp. 40–46. (in Russ.) DOI: 10.14529/food200305