

УДК/UDC544.773.432, 547.485.5

DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-2-21-28

Оригинальная научная статья

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ НАПРАВЛЕННОГО ТРАНСПОРТА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРУЕМОГО ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Евтеев А. В., Горбунова Н. В., Ларионова О. С., Банникова А. В.*

Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

инкапсуляция, биологически активные соединения, контролируемое высвобождение, ферментативный гидролиз.

АННОТАЦИЯ

В работе приведены результаты исследований по изучению высвобождения биологических активных соединений из их инкапсулированных форм в условиях ферментативного гидролиза *in vitro*. В фазе модельного «кишечника» происходит набухание капсул и их последующий распад, что позволяет говорить о контролируемом высвобождении инкапсулированных биоактивных компонентов. Выявлено, что почти 90% от остаточного количества эссенциальных ингредиентов было высвобождено из капсул в модельной фазе «искусственного кишечника». В конце эксперимента капсулы высвобождали все инкапсулированные биологически активные вещества, независимо от содержания в них рыбьего жира и фенольных соединений. Отмечено, что полислойные капсулы имели наибольшую склонность противостоять агрессивной среде «модельного желудка» и сконцентрировать в себе максимальное количество биологически активных веществ. Математическое моделирование подтверждает направленный транспорт биологически активных соединений и роль набухания капсул в высвобождении биологически активных соединений. Две математические модели, описывающие классическую теорию диффузии из капсул и с включением коэффициента релаксации материалов, демонстрируют комбинацию эмпирического и теоретического подходов в управлении свойств инкапсулированных биологически активных веществ. Полученные данные перспективны в области разработки улучшенных и функциональных продуктов питания, а также сухих ингредиентов и концентратов.

Original scientific paper

THEORETICAL SUBSTANTIATION OF DIRECT TRANSPORT OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPONENTS IN CONDITIONS OF MODELED GASTROINTESTINAL TRACT

Evtееv A. V., Gorbunova N. V., Larionova O. S., Bannikova A. V.*

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia

KEY WORDS:

encapsulation, biologically active substances, enzymatic hydrolysis, controlled release.

ABSTRACT

In this paper, the results of studies on the release of biological active compounds from their encapsulated forms under conditions of enzymatic hydrolysis *in vitro* are presented. In the phase of the model «small intestine» swelling of the capsules and their subsequent decay occurs, which allows to speak about the controlled release of encapsulated bioactive components. It was revealed that almost 90% of the residual quantity of essential ingredients was released from the capsules in the model phase of the artificial «small intestine». At the end of the experiment, the capsules released all the encapsulated biologically active substances, regardless of the content of fish oil and phenolic compounds in them. It was noted that the poly-capsules had the greatest propensity to withstand the aggressive environment of the «model stomach» and concentrate in themselves the maximum amount of biologically active substances. Mathematical modeling confirms the direct transport of biologically active compounds and the role of the swelling of capsules in the release of biologically active compounds. Two mathematical models describing the classical theory of diffusion from capsules and incorporating the material relaxation coefficient demonstrate a combination of empirical and theoretical approaches in controlling the properties of encapsulated biologically active substances. The obtained data are promising in the field of development of improved and functional food products, as well as the dry ingredients and concentrates.

1. Введение

Пищевая промышленность характеризуется развитием технологии качественно нового этапа, проявляющегося в эффективном использовании ресурсов для их производства. При этом повышается качество продукции, расширяется ассортимент продовольствия, представленного на полках в магазинах. Статистические данные давно указывают на дефицит различных нутриентов в питании населения [1]. Данную проблему возможно решить с помощью разработ-

ки ассортимента продуктов, обогащенных биологически активными веществами [2].

В настоящее время в нашей стране многие промышленные предприятия начали выпускать продукты, обладающие функциональными свойствами, обогащенные витаминами, минералами и антиоксидантами. Следует отметить, что многие биологически активные соединения снижают свою активность в зависимости от условий окружающей среды, что позволяет рекомендовать технологию инкапсу-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Евтеев А. В., Горбунова Н. В., Ларионова О. С., Банникова А. В. Теоретическое обоснование направленного транспорта биологически активных компонентов в условиях моделируемого желудочно-кишечного тракта. *Пищевые системы*. 2018;1(2):21–28. DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-2-21-28

FOR CITATION: Evtееv A. V., Gorbunova N. V., Larionova O. S., Bannikova A. V. Theoretical substantiation of direct transport of biologically active components in conditions of modeled gastrointestinal tract. *Food systems*. 2018; 1(2):21–28. (In Russ.). DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-2-21-28

ляции, пролонгирующей действие биологически активных веществ [3,4].

Микроинкапсулирование может быть определено как процесс построения функционального барьера между инкапсулируемым веществом и стеновым материалом в целях избежания химических и физических реакций и поддержания биологических и функциональных свойств эссенциальных веществ. В этой связи их защита и иммобилизация является актуальным направлением исследований [2,4,5]. В литературе описано достаточное количество примеров по инкапсулированию масел, красителей, ароматизаторов, белков, витаминов и других веществ, однако имеются весьма ограниченные сведения по степени биодоступности инкапсулированного ингредиента, проявлению заданных физиологически ценных свойств и их теоретическому обоснованию.

Целью данного исследования является теоретическое обоснование направленного транспорта инкапсулированных форм рыбьего жира и фенольных соединений в условиях моделируемого желудочно-кишечного тракта человека на основе комплексного подхода, включающего эмпирические и теоретические методы изучения.

2. Материалы и методы исследований

2.1 Материалы исследования

Для проведения исследований использовали экстракт свекольной ботвы, полученной из *Beta vulgaris* L. сорта Цилиндра, в качестве экстрагента использовали 70-% спирт. В ходе экстракции применяли ультразвуковое воздействие при 35 кГц, 450 Вт 60 мин и выпаривание под вакуумом при 40 °С [6], а также рыбий жир и альгинат натрия (Sigma Aldrich, UK).

2.2 Методы исследования

Для приготовления капсул с рыбьим жиром в водный 1,5% раствор альгината натрия вносили 20% и 40% жира, соответственно. Эмульсию тщательно примешивали, гомогенизировали, а затем капли, сформированные с помощью делительной иглы диаметром 0,5 мм, добавляли в 0,012 М раствор хлорида кальция для образования сфер диаметром 1,5–2 мм. Полученные капсулы хранили в 0,01 М растворе CaCl [3].

Для получения инкапсулированных форм фенольных соединений были использованы три способа приготовления капсул:

1. Раствор альгината капали в раствор, содержащий 0,012 М хлорида кальция и 1% экстракта. Далее капсулы хранили в растворе хлорида кальция 0,012 М при 5 °С.
2. Раствор альгината капали в 0,012 М раствора хлорида кальция, пока не образовались шарики. Шарики оставались в ванне хлорида кальция в течение 30 мин, затем их просеивали и промывали деионизированной водой. Далее капсулы помещали в 1%-й раствор экстракта и оставляли там, на 30 мин, затем переносили в 0,012 М раствор хлорида кальция на 30 мин и промывали деионизированной водой. Капсулы хранили как описано выше.
3. Раствор альгината натрия и экстракта капали в 0,012 М раствор хлорида кальция и хранили при 5 °С.

Высвобождение компонентов из капсул было исследовано в ходе имитации модели переваривания в желудочных и кишечных соках [2].

Модельный «искусственный желудок»: 2%-й раствор NaCl в деионизированной воде, pH 2 (1 М HCl), пепсин 3600 U/мл, температура 37 °С. Образцы инкубировали на водяной бане при постоянном встряхивании в течение заданного периода времени (120 мин).

Модельный «искусственный кишечник»: 0,68% одноосновного фосфата калия; 0,1% солей желчных кислот; 0,4% панкреатина, pH 7,5 (0,5 М NaOH), температура 37 °С. Образцы инкубировали в водяной бане при постоянном встряхивании в течение заданного периода времени (\approx 20 мин).

Кинетика высвобождения эссенциальных масел из их инкапсулированных форм контролировалась методом количественного анализа с помощью UV-VIS-спектроскопии. Данный метод основан на определении оптической плотности растворов в гексане масел при 260–300 нм. Полученные результаты концентраций масел в гексане, в максимуме поглощения $\lambda_{max} = 280,5$ нм при 20 °С, в пределах экспериментального диапазона 0,4–1,2 мг/мл имеют линейную зависимость $R^2 = 0,999$ (закон Ламберта-Бера) [7].

Для определения суммы фенольных соединений анализируемого образца, измеренное светопоглощение пересчитывали в единицы концентрации по градуировочному графику, полученному для стандартного полифенола, например, кверцетина. Полученный результат является усреднённым аналитическим откликом всех фенольных соединений, содержащихся в объекте анализа. Определение общего содержания полифенолов определяли с помощью реактива Фолина-Чокальтеу. В колбе на 25 мл смешивали исследуемый раствор, 0,3 мл реактива, 3 мл 20% мас. Na₂CO₃, доводили объём до метки. Светопоглощение растворов измеряли через 20 минут при 720 нм [8]. Спектры поглощения в УФ и видимой областях измеряли при помощи спектрофотометра СФ-26.

3. Результаты и обсуждение

3.1 Оценка параметров высвобождения

инкапсулированных форм жирных кислот

В настоящее время потребительский интерес значительно возрос в функциональных пищевых продуктах, обогащенных ω -3 жирными кислотами, витаминами, антиоксидантами и пр. Проблема в производстве таких продуктов связана со стабильностью биологически активных компонентов в продукте, а также с поддержанием приемлемых реологических и органолептических показателей. Хорошо известно, что многие функциональные ингредиенты чувствительны к воздействию света, тепла и кислорода, и, таким образом, претерпевают окислительные процессы, что является одной из основных причин ухудшения текстуры, вкуса, аромата, цвета и срока годности продуктов [9,10].

Говоря о влиянии внешних условий среды на биологически активные соединения следует учитывать, что взаимодействия микро- и макронутриентов могут не только

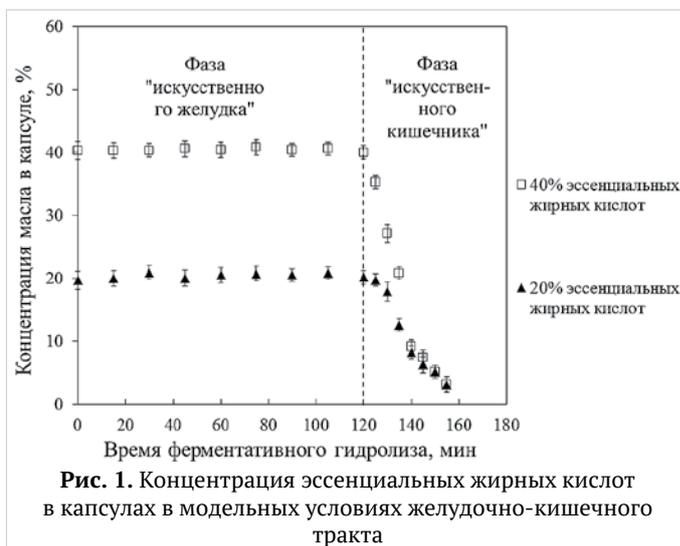


Рис. 1. Концентрация эссенциальных жирных кислот в капсулах в модельных условиях желудочно-кишечного тракта

оказывать прямое разрушающее или инактивирующее воздействие, но и косвенное влияние путем снижения биодоступности и степени всасывания микронутриента в кишечнике [2,3]. В этой связи актуальными являются исследования по оценке кинетики высвобождения инкапсулируемого компонента, что в полной мере характеризует процесс усвояемости данных эссенциальных ингредиентов.

Экспериментальные данные свидетельствуют, что созданные инкапсулированные формы эссенциальных жирных кислот защищены от воздействия неблагоприятных факторов и проходят агрессивную среду модельного «желудка» (Рис. 1). Выявлено, что почти 90% от остаточного количества эссенциальных жирных кислот было высвобождено из капсул в модельной фазе «искусственного кишечника». В конце эксперимента капсулы высвобождали все инкапсулированные биологически активные вещества, независимо от содержания в них жира.

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что данная технология перспективна в качестве барьерной технологии, что дополнительно может использоваться в производстве пищевых продуктов профилактической и функциональной направленности. Для определения скорости транспортировки рыбьего жира в рамках этого исследования мы рассмотрели концепции классической теории диффузии, которые разъясняют лежащий в основе механизм переноса и предсказывают полученную кинетику высвобождения в зависимости от геометрии и состава устройства. Теория выражается следующим дифференциальным уравнением с частными производными [11]:

$$\frac{\partial C_k}{\partial t} = \frac{1}{r} \left\{ \frac{\partial}{\partial r} \left(r \cdot D_k \frac{\partial C_k}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\frac{D_k}{r} \cdot \frac{\partial C_k}{\partial \theta} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(r \cdot D_k \frac{\partial C_k}{\partial z} \right) \right\} \quad (1)$$

где C_k и D_k — коэффициент концентрации и диффузии биоактивного компонента в нашем случае, r обозначает радиальную координату, z — осевую координату, θ — угловую координату, t — время.

Уравнение (1) может быть решено аналитически в условиях идеального погружения, однородном начальном распределении лекарственного средства и постоянной диффузии лекарственного средства для сфер с радиусом R_s , что дает ниже математическое выражение [12,13]:

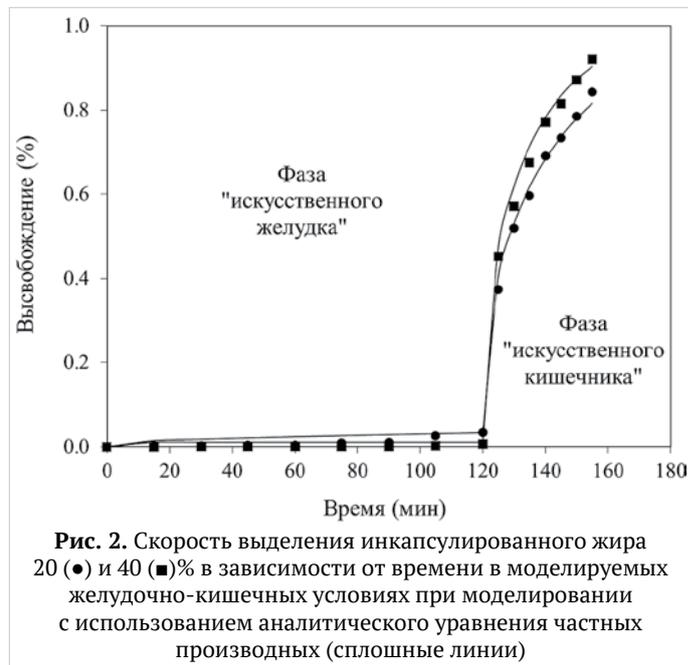
$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{D \cdot n^2 \cdot \pi^2 \cdot t}{R_s^2}\right) \quad (2)$$

где M_t и M_∞ — кумулятивные количества биологически активного вещества, высвобождаемого в момент времени t и $t = \infty$, D — кажущийся коэффициент диффузии, а n — фиктивное число.

На Рис. 2 показаны экспериментальные наблюдения и результаты применения уравнения (2) в предсказании скоростей диффузии при модельных желудочно-кишечных условиях. Экспериментальные скорости высвобождения (M_t / M_∞) оставались стабильными в желудочной среде, но резко возрастали в щелочных условиях, как сообщалось в процентном содержании выделяемого жира на Рис. 1. Данные были смоделированы в зависимости от времени наблюдения в Microsoft Visual Basic и ошибки программирования были сведены к минимуму с очень приемлемыми коэффициентами корреляции ($R^2 = 0,980-0,990$).

Решаемое в данном исследовании дифференциальное уравнение соответствует экспериментальным наблюдениям ($M_t / M_\infty \leq 1,0$) и дает значения D для двух образцов: около $1,0 \times 10^{-10} \text{ см}^2/\text{с}$ в желудочной фазе и $1,5 \times 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$ в кишечной фазе. Ясно, что влияние набухания полимерных сетей в щелочной среде этого исследования демонстрируется высокими значениями кажущегося коэффициента диффузии,

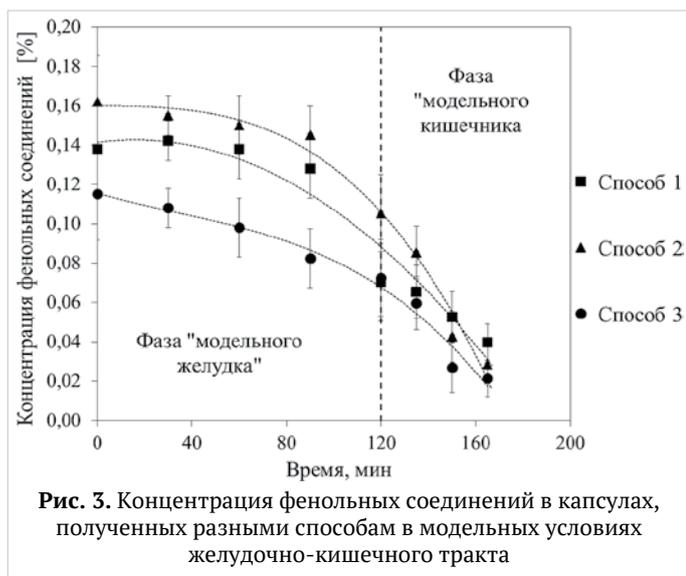
приводящего к быстрым явлениям переноса. Выделение рыбьего жира из «малотвердой системы» альгината натрия также является быстрым по сравнению с явлениями переноса α -линоленовой кислоты, диффундирующими из «конденсированной матрицы» к-каррагинана и полидекстрозы (85% общего содержания твердых веществ) при ее переходе через температуру стеклования ($D = 1,0 \times 10^{-15} \text{ см}^2/\text{с}$) [14].



Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что изменение кислотности среды и концентрации солей во время ферментативного гидролиза приводят к изменениям в полимерной сетке, обеспечивающим биоактивность в модельном тонком кишечнике в связи со значительным набуханием капсул. Структурные свойства оказывают значительное влияние на выживаемость биологически активных веществ для контролируемой диффузии и предполагают, что капсулы могут использоваться в качестве потенциальной системы орального приема в целях уменьшения дефицита витаминов и антиоксидантов в рационе человека. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что капсулы являются наиболее перспективными в целях сохранения функции биоактивного вещества и контролируемым его высвобождением. Дальнейшая работа предполагает изучение высвобождения эссенциальных компонентов в зависимости от времени, что дополнительно может указать на биодоступность растительных экстрактов.

3.2 Изучение диффузии инкапсулированных форм фенольных соединений

Кинетика высвобождения фенольных соединений была охарактеризована с помощью спектрофотометра [15]. Длительность исследования составила 180 минут в модельных растворах желудка и кишечника. На Рис. 3 показана кинетика высвобождения фенольных соединений, при этом из графика видно, что максимальное высвобождение наблюдается из капсул, приготовленных по третьему способу, что указывает на их слабую устойчивость сохранения антиоксиданта внутри матрицы вследствие частично разрушенной природы носителя на стадии получения капсул. Показано, что диффузия биоактивных веществ из капсул, полученных по способу 2, была менее выражена в связи с полислоистым способом их приготовления.



Таким образом, полученные данные подтверждают ранее проведенные исследования, что около 90% остаточного количества инкапсулированных компонентов было высвобождено из капсул в фазе «модельного кишечника» [2,3]. Около 80% инкапсулированных компонентов оставались в нативном виде, теряя в «жесткой» среде искусственного желудка от первоначального состава около 20%. Как и в случае с рыбьим жиром, в конце эксперимента капсулы высвобождали все инкапсулированные биологически активные вещества.

В данном эксперименте для более точного понимания транспорта биоактивных веществ в условиях контролируемого высвобождения в моделируемых желудочно-кишечных условиях использовалась методология, которая рассматривает модель диффузионной релаксации. Данный процесс можно описать следующим образом [16]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 t^m \left[1 + \frac{k_2}{k_1} t^m \right] \quad (3)$$

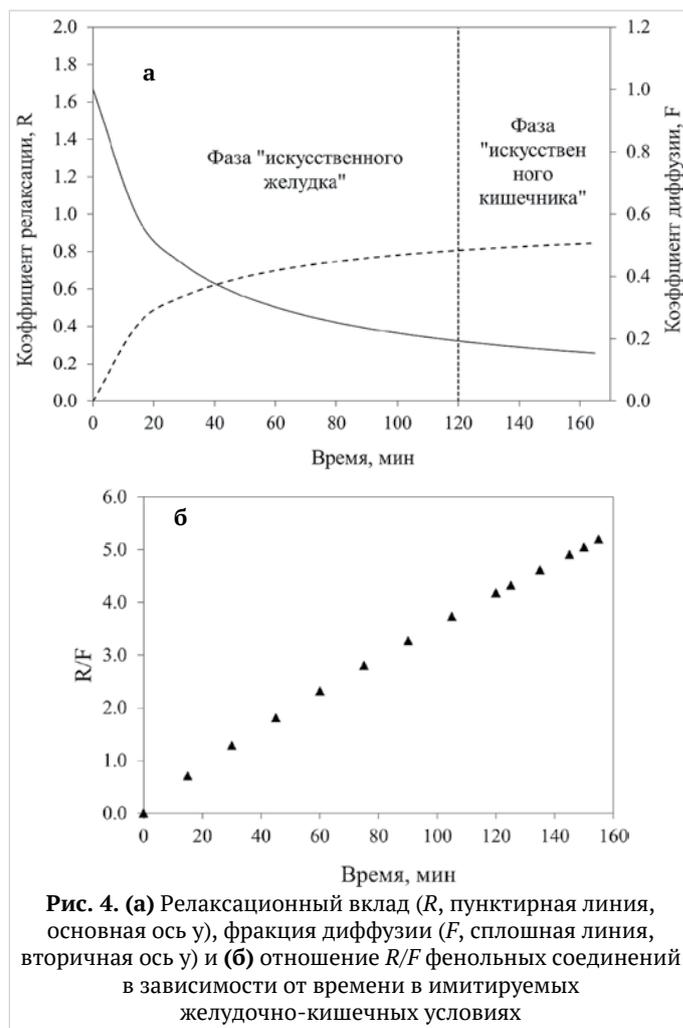
Из уравнения (3) процент высвобождения вещества из-за механизма диффузионной мобильности (F) рассчитывается как:

$$F = \frac{1}{1 + \frac{k_2}{k_1} t^m} \quad (4)$$

что приводит к соотношению релаксации (R) по вкладу диффузионной мобильности как [3]:

$$\frac{R}{F} = \frac{k_2}{k_1} t^m \quad (5)$$

Экспериментальные скорости высвобождения на рис. 3 были низкими в желудочных условиях, но ускорялись в кишечной среде, обеспечивая требуемые данные для использования уравнений. Теоретическая функция проверяется путем установки независимых скоростей высвобождения с очень приемлемыми коэффициентами корреляции ($R_2 = 0,980 - 0,990$). Результаты моделирования высвобождения (фенольных соединений) в обеих системах пищеварения приведены на Рис. 4. Показано, что вклад диффузионной



мобильности является доминирующим в начале выделения биологически активного вещества, но он уменьшается экспоненциально с увеличением времени наблюдения. Однако фракция релаксации становится более линейной со временем (отношение R/F), что говорит о ее преобладании. Преобладание механизма релаксации в конце эксперимента подтверждает предыдущие наблюдения за капсулами в этой работе и возможность распада в кишечной среде.

4. Выводы

В результате проведенных исследований можно сделать вывод о том, что использование полислойных капсул позволяют обеспечить направленный транспорт биологически активных веществ. Таким образом, разработан системный протокол для рационализации технологии получения инкапсулированных форм липидов и фенольных соединений. Прикладное значение исследования заключается, в том, что на основании данной технологии будут разработаны функциональные продукты питания массового спроса, обогащенные веществами с биоактивными свойствами.

5. Выражение признательности

Авторы выражают признательность за финансовую поддержку Гранта Президента РФ МК-3069.2017.11.

1. Introduction

The food industry is characterized by the development of technology of a qualitatively new stage, manifested in the effective use of resources for their production. At the same time,

the quality of products improves, the various kinds of foods on shelves of supermarkets are expanding. Statistical data has long indicated a deficiency of various nutrients in the diet of the population [1]. This problem can be solved by the devel-

opment of a novel products enriched with biologically active substances [2].

At present, many industrial enterprises in our country have started to produce products that have functional properties and enriched with vitamins, minerals and antioxidants. It should be noted that many biologically active compounds decrease their activity depending on environmental conditions, which makes it possible to recommend encapsulation technology that prolongs the action of biologically active substances [3,4].

Microencapsulation can be defined as the process of constructing a functional barrier between the encapsulated material and the wall material in order to avoid chemical and physical reactions and to maintain the biological and functional properties of essential substances. In this regard, their protection and immobilization is a relevant area of research [2,4,5]. A sufficient number of examples on the encapsulation of oils, dyes, flavors, proteins, vitamins and other substances have been described in the literature, but there is a very limited information on the degree of bioavailability of the encapsulated ingredient, the manifestation of predetermined physiologically valuable properties and their theoretical justification.

The purpose of this study is the theoretical justification of the direct transport of encapsulated forms of fish oil and phenolic compounds under the conditions of the simulated gastrointestinal tract of humans on the basis of a complex approach involving empirical and theoretical methods of study.

2. Materials and methods

2.1 Materials

For the study, a beet extract from *Beta vulgaris L.* of the Cylinder variety was used, and 70% alcohol was used as the extractant. During the extraction, ultrasound was applied at 35 kHz, 450 W 60 min and evaporation under vacuum at 40 °C [6]. Also fish oil and sodium alginate were utilized from Sigma Aldrich, UK.

2.2 Methods

For the preparation of fish oil capsules, 20% and 40% fat were added to the aqueous 1.5% sodium alginate solution, respectively. The emulsion was thoroughly mixed, homogenized, and then the drops formed by a 0.5 mm diameter separating needle were added to a 0.012 M calcium chloride solution to form spheres with a diameter of 1.5–2 mm. The resulting capsules were stored in a 0.01 M CaCl solution [3].

Three methods for the preparation of capsules were used to prepare encapsulated forms of phenolic compounds:

1. The alginate solution was dripped into a solution containing 0.012 M calcium chloride and 1% extract. The capsules were then stored in a solution of calcium chloride 0.012 M at 5 °C.
2. The alginate solution was dripped into a 0.012 M calcium chloride solution until the capsules were formed. The beads remained in the calcium chloride bath for 30 minutes, then they were sieved and washed with deionized water. The capsules were then placed in a 1% solution of the extract and left there for 30 minutes, then transferred to a 0.012 M calcium chloride solution for 30 minutes and washed with deionized water. The capsules were stored as described above.
3. A solution of sodium alginate and extract was dripped into a 0.012 M calcium chloride solution and stored at 5 °C.

The release of components from the capsules was examined during the simulation of the digestion model in gastric and intestinal juices [2].

Model «artificial stomach»: 2% NaCl solution in deionized water, pH 2 (1 M HCl), pepsin 3600 U / ml, temperature 37 °C. Samples were incubated in a water bath with constant shaking for a predetermined period of time (120 min).

Model «artificial intestine»: 0.68% of monobasic potassium phosphate; 0.1% of bile salts; 0.4% pancreatin, pH 7.5 (0.5 M NaOH), temperature 37 °C. Samples were incubated in a water bath with constant shaking for a predetermined period of time (≈ 20 min).

The kinetics of the release of essential oils from their encapsulated forms was monitored by quantitative analysis using UV-VIS spectroscopy. This method is based on the determination of the optical density of oils dissolved in hexane at 260–300 nm. The results of the concentrations of oils in hexane, at an absorption maximum of $\lambda_{max} = 280.5$ nm at 20 °C, within the experimental range of 0.4–1.2 mg / ml have a linear dependence $R^2 = 0.999$ (Lambert-Beer law) [7].

To determine the amount of phenolic compounds of the sample analyzed, the measured light absorption was converted into units of concentration according to the calibration curve obtained for the standard polyphenol, for example quercetin. The results obtained were averaged to the analytical response of all phenolic compounds in the object of analysis. Determination of the total content of polyphenols was determined with the help of the Folin-Chokalteu reagent. In a 25 ml flask, the test solution was mixed, 0.3 ml of the reagent, 3 ml of 20% wt. Na₂CO₃ was adjusted on the volume to the mark. The light absorption of the solutions was measured after 20 minutes at 720 nm [8]. Absorption spectra in the UV and visible regions were measured using a SF-26 spectrophotometer.

3. Results and discussion

3.1 Estimation of release parameters of encapsulated fatty acid forms

At present, consumer interest has increased significantly in functional food products enriched with ω -3 fatty acids, vitamins, antioxidants, etc. The problem in the production of such products is associated with the stability of biologically active components in the product, and also with the maintenance of acceptable rheological and organoleptic parameters. It is well known that many functional ingredients are sensitive to light, heat and oxygen, and thus undergo oxidative processes, which is one of the main causes of deterioration of texture, taste, flavor, color and shelf life of products [9,10].

Speaking about the influence of external environmental conditions on biologically active compounds, one should take into account that the interactions of micro- and macronutrients can not only exert a direct destructive or inactivating effect, but also indirect influence by decreasing the bioavailability and the de-

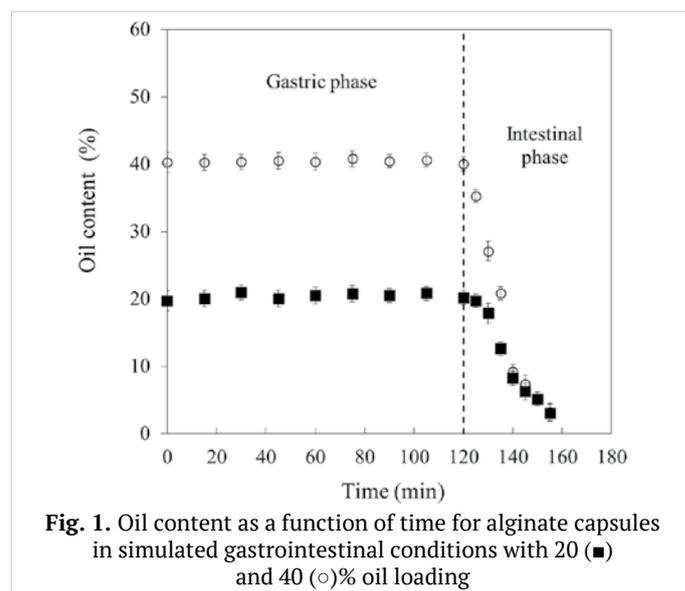


Fig. 1. Oil content as a function of time for alginate capsules in simulated gastrointestinal conditions with 20 (■) and 40 (○)% oil loading

gree of absorption of the micronutrient in the intestine [2,3]. In this connection, studies of the release kinetics of encapsulated component are relevant, which fully characterizes the assimilation of these essential ingredient data.

Experimental data indicate that the encapsulated forms of essential fatty acids are protected from the effects of unfavorable factors and pass through the aggressive environment of the model «stomach» (Fig. 1). It was revealed that almost 90% of the residual quantity of essential fatty acids was released from the capsules in the model phase of the «artificial intestine». At the end of the experiment, the capsules released all encapsulated biologically active substances regardless of their fat content.

Thus, the obtained data suggest that this technology is promising as a barrier technology, which can additionally be used in the production of preventive and functional food products. To determine the rate of transportation of fish oil within the framework of this study, we considered the concepts of classical diffusion theory, which explain the underlying transport mechanism and predict the resulting release kinetics depending on the geometry and composition of the device. The theory is expressed by the following partial differential equation [11]:

$$\frac{\partial C_k}{\partial t} = \frac{1}{r} \left\{ \frac{\partial}{\partial r} \left(r \cdot D_k \frac{\partial C_k}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\frac{D_k}{r} \cdot \frac{\partial C_k}{\partial \theta} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(r \cdot D_k \frac{\partial C_k}{\partial z} \right) \right\} \quad (1)$$

where, C_k and D_k are the concentration and diffusion coefficient of the diffusing species (bioactive component in our case), r denotes the radial coordinate, z is the axial coordinate, θ is the angular coordinate, and t represents time.

Equation (1) can be solved analytically under perfect sink conditions, homogeneous initial drug distribution, and constant drug diffusivity for spheres of radius R_s yielding the below mathematical expression (Siepmann & Siepmann, 2008):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{D \cdot n^2 \cdot \pi^2 \cdot t}{R_s^2}\right) \quad (2)$$

where, M_t and M_∞ are the cumulative amounts of drug released at time t and $t = \infty$, D is the apparent diffusion coefficient, and n is a dummy number.

Fig. 2 reproduces the experimental observations and the outcome of employing equation (7) in the prediction of diffusion rates under model gastrointestinal conditions.

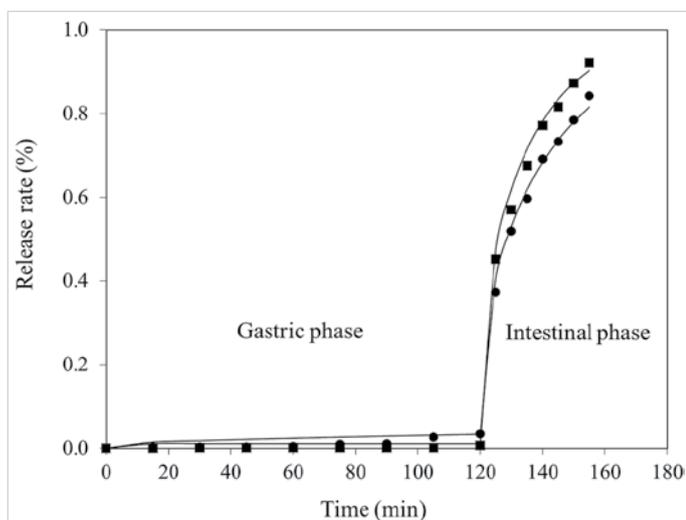


Fig. 2. Release rate of encapsulated oil in simulated gastrointestinal conditions for 20 (●) and 40 (■)% oil loading, and predictions of computerized modeling using a partial differential equation (solid lines)

Experimental release rates (M_t/M_∞) remained stable in the gastric environment but increased sharply in alkaline conditions, as reported for the percentage of released oil in Figure 5. These were modelled as a function of time of observation in Microsoft Visual Basic, and programming errors were minimised by considering a certain number of sequential layers ($n = 50$). The theoretical function is verified by fitting the independent release rates with a very acceptable correlation coefficients ($R^2 = 0.980 - 0.990$).

The differential equation solvable in this study corresponds to experimental observations ($M_t/M_\infty \leq 1.0$) and gives D values for two samples: about $1.0 \times 10^{-10} \text{ cm}^2/\text{s}$ in the gastric phase and $1.5 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ in the intestinal phase. It is clear that the effect of the swelling of polymer networks in the alkaline medium of this study is demonstrated by the high values of the apparent diffusion coefficient, which leads to a rapid transport phenomena. The release of fish oil from the «low solid» system of sodium alginate is also rapid compared to the phenomena of transfer of α -linolenic acid diffusing from the «condensed matrix» of κ -carrageenan and polydextrose (85% of the total solids content) upon its transition through the glass transition temperature ($D = 1.0 \times 10^{-13} \text{ cm}^2/\text{s}$) [14].

Based on the data obtained, it can be concluded that a change in the acidity of the medium and the concentration of salts during enzymatic hydrolysis lead to changes in the polymer network that provides bioactivity in the model small intestine due to a significant swelling of the capsules. Structural properties have a significant effect on the survival of biologically active substances for controlled diffusion and suggest that capsules can be used as a potential oral intake system in order to reduce the deficiency of vitamins and antioxidants in the human diet. Based on the data obtained, it can be concluded that the capsules are the most promising in order to preserve the function of the bioactive substance and its controlled release. Further work involves the study of the release of essential components as a function of time, which may further indicate the bioavailability of plant extracts.

3.2 The study of the diffusion of encapsulated forms of phenolic compounds

The kinetics of the release of phenolic compounds was characterized by a spectrophotometer [15]. The duration of the study was 180 minutes in model solutions of the stomach and intestines. Figure 3 shows the kinetics of release of phenolic com-

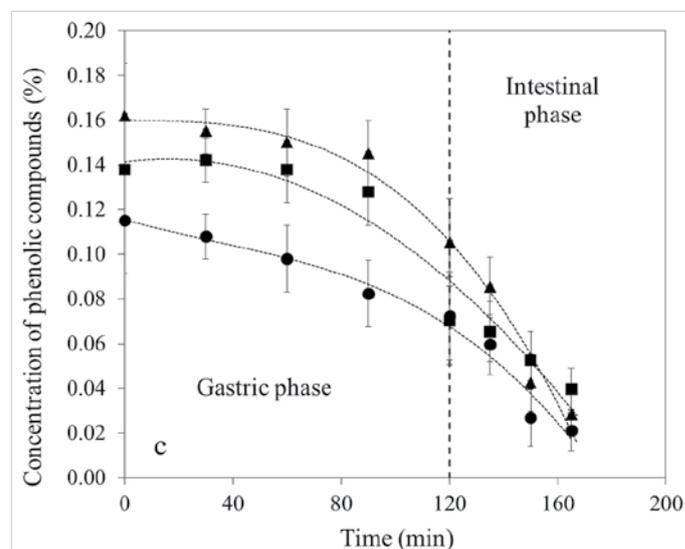


Fig. 3. Amount of phenolic compounds as a function of time in alginate capsules prepared according to Routes 1 (■), 2 (▲) and 3 (●) in simulated gastrointestinal conditions

pounds, while the graph shows that the maximum release is observed from the capsules prepared by the third method, which indicates their weak stability of the antioxidant retention within the matrix due to the partially destroyed nature of the carrier in the capsule preparation step. It was shown that the diffusion of bioactive substances from the capsules obtained by Method 2 was less pronounced in connection with the multilayer method of their preparation.

Thus, the obtained data suggest that this technology is promising as a barrier technology, which can additionally be used in the production of preventive and functional food products. To determine the rate of transportation of fish oil within the framework of this study, we considered the concepts of classical diffusion theory, which explain the underlying transport mechanism and predict the resulting release kinetics depending on the geometry and composition of the device. The theory is expressed by the following partial differential equation [11]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 t^m \left[1 + \frac{k_2}{k_1} t^m \right] \quad (3)$$

and from (6), the percentage of drug release due to the Fickian mechanism, F , is calculated as:

$$F = \frac{1}{1 + \frac{k_2}{k_1} t^m} \quad (4)$$

which leads to the ratio of the relaxation (R) over the Fickian contribution as:

$$\frac{R}{F} = \frac{k_2}{k_1} t^m \quad (5)$$

The experimental release rates in Fig. 3 were low in the stomach conditions, but accelerated in the intestinal environment, providing the required data for the use of the equations. The theoretical function is verified by setting independent release rates with very acceptable correlation coefficients ($R^2 = 0.980 - 0.990$). The results of modeling the release (phenolic compounds) in both digestive systems are shown in Fig. 4. It is shown that the contribution of diffusion mobility is dominant at the beginning of the release of the biologically active substance, but it decreases exponentially with increasing observation time. However, the relaxation fraction becomes more linear with time (ratio R/F), which indicates its predominance. The predominance of the relaxation mechanism at the end of the experiment confirms the previous observations of the capsules in this work and the possibility of disintegration in the intestinal medium.

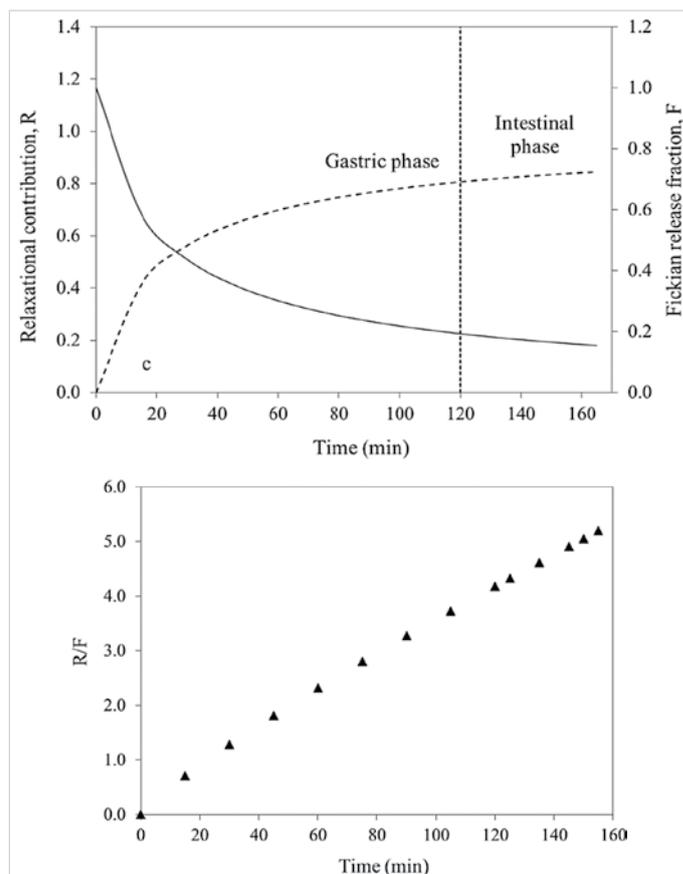


Fig. 4. Relaxation contribution (R , dashed line, primary y-axis), Fickian release fraction (F , solid line, secondary y-axis) and their R/F ratio in the inset of phenolic compounds as a function of time for alginate capsules in simulated gastrointestinal conditions

4. Conclusions

As a result of the study, it can be concluded that the use of poly-capsules allows the provision of targeted transport of biologically active substances. Thus, a system protocol has been developed to rationalize the technology of obtaining encapsulated forms of lipids and phenolic compounds. The applied value of the research is that based on this technology functional foods enriched with substances can be developed with bioactive properties.

5. Acknowledgements

Authors acknowledge the financial support from the President of Russian Federation Grant MK-3069.2017.11.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Горбунова, Н.В., Банникова, А.В. (2016). Совершенствование получения биополимерных матриц адресной доставки инкапсулированных форм биологически активных веществ. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 6(2), 65–70.
- Gorbunova, N., Evteev, A., Evdokimov, I., Bannikova, A. (2016). Kinetics of ascorbic acid transport from alginate beads during in vitro digestion. *Journal of Food and Nutrition Research*, 55(2), 148–158.
- Евтеев, А.В., Крепнева, А.А., Горбунова, Н.В., Разумова, Л.С., Банникова, А.В. (2017). Анализ физических свойств и биодоступности инкапсулированных форм модельных эссенциальных жирных кислот. *Новые технологии*, 1, 11–17.
- Банникова, А.В. (2016). Разработка технологии инкапсулированных форм белков и антиоксидантов. *Современная наука и инновации*, 1(13), 56–60.
- Rayment, P., Wright, P., Hoad, C., Ciampi, E., Haydock, D., Gowland, P., Butler, M.F. (2009). Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 1: In vitro characterization. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 816–822.
- Горбунова, Н.В., Евтеев, А.В., Банникова, А.В., Решетник, Е.И. (2017). Перспективы использования продуктов комплексной переработки растениеводства в качестве источников получения антиоксидантов. *Дальневосточный аграрный вестник*, 2(42), 120–125.
- Chang, C. — P., Leung, T. — K., Lin, S. — M., Hsu, C. — C. (2006). Release properties on gelatin-gum arabic microcapsules containing camphor oil with added polystyrene. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 50(2), 136–140.
- Fuentes, E., Báez, M.E., Bravo, M., Cid, C., Labra, F. (2012). Determination of total phenolic content in olive oil samples by UV-visible spectrometry and multivariate calibration. *Food Analytical Methods*, 5(6), 1311–1319.
- Patel, A. R., Velikov, K. P. (2011). Colloidal delivery systems in foods: a general comparison with oral drugs delivery. *LWT — Food Science and Technology*, 44(9), 1958–1964.
- Martín, A., Varona, S., Navarrete, A., Cocero, M.J. (2010). Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: Applications with essential oils. *Open Chemical Engineering Journal*, 4(1), 31–41.

11. Mady, O. (2013). Mechanisms and percent of drug release of each new mathematic approach. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 3(6), 56–69.

12. Siepman, F. Karrout, Y., Gehrke, M., Penz, F.K., Siepman, J. (2017). Limited drug solubility can be decisive even for freely soluble drugs in highly swollen matrix tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 526(1–2), 280–290.

13. Siepman, J., Siepman, F. (2008). Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 364(2), 328–343.

14. Paramita, V.D., Bannikova, A., Kasapis, S. (2015). Release mechanism of omega-3 fatty acid in κ-carrageenan/polydextrose undergoing glass transition. *Carbohydrate Polymers*, 126, 141–149.

15. Yuliani, S. Torley, P.J. D'Arcy, B. Nicholson, T. Bhandari, B. (2006). Extrusion of mixtures of starch and D-limonene encapsulated with β-cyclodextrin: Flavour retention and physical properties. *Food Research International*, 39(3), 318–331.

16. Peppas, N.A., Sahlin, J.J. (1989). A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. *International Journal of Pharmaceutics*, 57(2), 169–172.

REFERENCES

1. Gorbunova, NV, Bannikova, A.V. (2016). Development and improvement of biopolymer matrices for the controlled delivery of encapsulated biologically active substances. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya*, 6(2), 65–70. (in Russian)

2. Gorbunova, N., Evteev, A., Evdokimov, I., Bannikova, A. (2016). Kinetics of ascorbic acid from alginate beads during vitro digestion. *Journal of Food and Nutrition Research*, 55(2), 148–158.

3. Evteev, A.V., Gorbunova, N.V., Razumova, L.S., Krepneva, A.A., Bannikova, A.V. (2017). Analysis of physical properties and bioavailability of encapsulated forms of model essential fatty acids. *New technologies*, 1, 11–16. (in Russian)

4. Bannikova, A.V. (2016). Development of the technology the encapsulated forms of proteins and antioxidants. *Sovremennaa nauka i innovacii*, 1(13), 56–60. (in Russian)

5. Rayment, P., Wright, P., Hoad, C., Ciampi, E., Haydock, D., Gowland, P., Butler, M.F. (2009). Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 1: In vitro characterization. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 816–822.

6. Gorbunova, N.V., Evteev, A.V., Bannikova, A.V., Reshetnik, E.I. (2017). Prospects of using complex processing products of crop production as sources of obtaining antioxidants. *Far East Agrarian Bulletin*, 2(42), 120–125. (in Russian)

7. Chang, C. — P., Leung, T. — K., Lin, S. — M., Hsu, C. — C. (2006). Release properties on gelatin-gum arabic microcapsules containing camphor oil with added polystyrene. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 50(2), 136–140.

8. Fuentes, E., Báez, M.E., Bravo, M., Cid, C., Labra, F. (2012). Determination of total phenolic content in olive oil samples by UV-visible spectrometry and multivariate calibration. *Food Analytical Methods*, 5(6), 1311–1319.

9. Patel, A. R., Velikov, K. P. (2011). Colloidal delivery systems in foods: a general comparison with oral drugs delivery. *LWT — Food Science and Technology*, 44(9), 1958–1964.

10. Martín, A., Varona, S., Navarrete, A., Cocero, M.J. (2010). Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: Applications with essential oils. *Open Chemical Engineering Journal*, 4(1), 31–41.

11. Mady, O. (2013). Mechanisms and percentages of drug release of each new mathematic approach. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 3(6), 56–69.

12. Siepman, F. Karrout, Y., Gehrke, M., Penz, F.K., Siepman, J. (2017). Limited drug solubility can be decisive for soluble drugs in highly swollen matrix tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 526(1–2), 280–290.

13. Siepman, J., Siepman, F. (2008). Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 364(2), 328–343.

14. Paramita, V.D., Bannikova, A., Kasapis, S. (2015). Release mechanism of omega-3 fatty acid in κ-carrageenan/polydextrose undergoing glass transition. *Carbohydrate Polymers*, 126, 141–149.

15. Yuliani, S. Torley, P.J. D'Arcy, B. Nicholson, T. Bhandari, B. (2006). Extrusion of mixtures of starch and D-limonene encapsulated with β-cyclodextrin: Flavour retention and physical properties. *Food Research International*, 39(3), 318–331.

16. Peppas, N.A., Sahlin, J.J. (1989). A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. *International Journal of Pharmaceutics*, 57(2), 169–172.



СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Евтеев Александр Викторович — ведущий специалист учебно-научно-испытательной лабораторией по определению качества пищевой и сельскохозяйственной продукции, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова 410005, г. Саратов, ул. Б. Садовая, 220 Тел.: +7-987-838-19-65 E-mail: ewteew@gmail.com	Aleksandr V. Evteev — Head Researcher of the Laboratory of Quality Determination of Foods and Agricultural Products, Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov 410005, Saratov, str. B. Sadovaya, 220 Tel.: +7-987-838-19-65 E-mail: ewteew@gmail.com
Горбунова Наталья Владимировна — аспирант кафедры «Технологии продуктов питания», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335 Тел.: +7-917-029-79-81 E-mail: gelladriel@gmail.com	Natalya V. Gorbunova — Post-graduate Student of the department «Technologies of Foodstuffs», Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov 410005, Saratov, str. Sokolovaya, 335 Tel.: +7-917-029-79-81 E-mail: gelladriel@gmail.com
Ларионова Ольга Сергеевна — доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой микробиологии, биотехнологии и химии, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова 410012, г. Саратов, Театральная площадь, 1 Тел.: +7-962-622-33-76 e-mail: larionova1@mail.ru	Olga S. Larionova — Doctor of Biological Sciences, Head of the department of microbiology, biotechnology and chemistry Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov 410012, Saratov, Teatralnaya square, 1 Tel.: +7-962-622-33-76 e-mail: larionova1@mail.ru
Банникова Анна Владимировна — доктор технических наук, директор Института международных образовательных программ, доцент кафедры «Технологии продуктов питания», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова 410012, г. Саратов, Театральная площадь, 1 Тел.: +7-937-245-12-20 E-mail: annbannikova@gmail.com *автор для контактов	Anna V. Bannikova — Doctor of Technical Sciences, Director of the Institute of International Educational Programs, Docent of the department «Technologies of Foodstuffs», Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov 410012, Saratov, Teatralnaya square, 1 Tel.: +7-937-245-12-20 E-mail: annbannikova@gmail.com *corresponding author

Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 12.06.2018	Received 12.06.2018