



Научная статья
4.3.3 – Пищевые системы (технические науки)
УДК664.8.038

doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.03.008

 EDN: ETQXVC

ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОЭМУЛЬСИЙ КАК БИОАКТИВНОГО КОМПОНЕНТА ПИЩЕВЫХ ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Светлана Павловна Меренкова ¹, Оксана Владимировна Зинина ²

^{1, 2} Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия

¹ e-mail: merenkovasp@susu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8795-1065>

² e-mail: zininaov@susu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3729-1692>

Аннотация. Преимущества использования белковых гидролизатов в составе упаковочных материалов – улучшение барьерных и механических свойств. Для формирования антиоксидантных и антимикробных свойств предложено добавлять в композиционный состав биопленок растительное масло в форме микроэмульсии. Целью исследований являлось изучение свойств и структурных характеристик эмульсий на основе конопляного масла и белкового гидролизата. Были получены 3 образца эмульсий, содержащие в качестве функционального компонента гидролизат белка, полученный при микробной ферментации субпродуктов. Для стабилизации образцов эмульсий применяли поверхностно-активные вещества с разной эффективностью: микроцеллюлозу и Tween 80. Результаты микроскопии образцов показывают, что микроэмульсии, стабилизированные Tween 80 и микроцеллюлозой, содержат сферические частицы, равномерно распределенные по размерам, отмечаются более мелкие размеры и равномерное распределение капель эмульсии по форме и размерам. Установлено, что стабилизированные эмульсии характеризуются меньшим диаметром частиц и их равномерным распределением в микродиапазоне. Наименьший гидродинамический диаметр частиц (1,47 мкм) отмечен для эмульсии, стабилизированной Tween 80. Доказана стабильная антирадикальная активность DPPH и высокая концентрация флавоноидов в эмульсионной системе на протяжении 7 суток хранения. Максимальные значения антиоксидантной активности коррелировали с наиболее высокой концентрацией флавоноидов в эмульсии, стабилизированной микроцеллюлозой. При анализе динамической вязкости микроэмульсий установлена способность микроцеллюлозы формировать связанную матрицу и соответственно увеличивать вязкость до значений – 68–92 мПа*s. При применении Tween 80 в качестве стабилизатора установлены минимальные значения вязкости (1,36–2,1 мПа*s), что связано со способностью ПАВ формировать мелкодисперсную липидную фазу при гомогенизации эмульсии. Результаты анализа микроструктуры, дисперсного состава и антиоксидантной активности доказывают возможность применения данных микроэмульсий в составе композиции биоактивных пленочных покрытий.

Ключевые слова: стабильные микроэмульсии, биоактивные компоненты, антиоксидантные свойства, микроструктура, распределение частиц.

Для цитирования: Меренкова С. П., Зинина О. В. Потенциал использования микроэмульсий как биоактивного компонента пищевых пленочных материалов // Ползуновский вестник. 2023. № 3. С. 58–64. doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.03.008. EDN: <https://elibrary.ru/ETQXVC>.

Original article

POTENTIAL OF USING MICROEMULSIONS AS A BIOACTIVE COMPONENT OF FOOD FILM MATERIALS

Svetlana P. Merenkova ¹, Oksana V. Zinina ²

^{1, 2} South Ural State University, Chelyabinsk, Russia

¹ e-mail: merenkovasp@susu.ru <https://orcid.org/0000-0002-8795-1065>

² e-mail: zininaov@susu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3729-1692>

© Меренкова С. П., Зинина О. В., 2023

ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОЭМУЛЬСИЙ КАК БИОАКТИВНОГО КОМПОНЕНТА ПИЩЕВЫХ ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Abstract. *The advantages of using protein hydrolysates in the composition of packaging materials are the improvement of barrier and mechanical properties. To form antioxidant and antimicrobial properties, it is proposed to add vegetable oil in the form of microemulsion to the composition of biofilms. The aim of the research was to study the properties and structural characteristics of emulsions based on hemp oil and protein hydrolysate. Three samples of emulsions containing protein hydrolysate obtained by microbial fermentation of by-products as a functional component were studied. To stabilize the emulsion samples, surfactants with different effectivities were used: microcellulose and Tween 80. The results of microscopy of samples show that microemulsions stabilized with Tween 80 and microcellulose contain spherical particles evenly distributed in size, smaller sizes and uniform distribution of emulsion droplets in shape and size are noted. It is established that stabilized emulsions are characterized by a smaller particle diameter and their uniform distribution in the micro-range. The smallest hydrodynamic diameter of the particles (1.47 microns) was noted for the emulsion stabilized by Tween 80. Stable antiradical activity of DPPH and a significant concentration of flavonoids in the emulsion system during 7 days of storage have been proven. The maximum values of antioxidant activity correlated with the highest concentration of flavonoids in the emulsion stabilized with microcellulose. When analyzing the dynamic viscosity of microemulsions, the ability of microcellulose to form a bound matrix and, accordingly, increase the viscosity to values – 68-92 MPa*s was established. When using Tween 80 as a stabilizer, minimum viscosity values (1.36-2.1 MPa*s) were established, which is associated with the ability of surfactants to form a finely dispersed lipid phase during emulsion homogenization. The results of the analysis of microstructure, dispersed composition and antioxidant activity prove the possibility of using these microemulsions in the composition of bioactive film coatings.*

Keywords: *stable microemulsions, bioactive components, antioxidant properties, microstructure, particle size distribution.*

For citation: Merenkova, S.P. & Zinina, O.V. (2023). Potential of using microemulsions as a bioactive component of food film materials. *Polzunovskiy vestnik*, (3), 58-64. (In Russ.). doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.03.008. <https://elibrary.ru/ETQXVC>.

ВВЕДЕНИЕ

Все биоразлагаемые материалы, особенно белок и его производные, обладают пленкообразующими свойствами. Многочисленные гидроксильные группы соединены в белковой пленке, образуя водородные связи и придавая им прочность [1]. Преимущества использования белковых гидролизатов в составе упаковочных материалов – улучшение барьерных и механических свойств [2]. Среди множества биоразлагаемых биополимеров, используемых для формирования пленок, применение белков, и особенно изолята сывороточного протеина (WPI), известно давно [3]. Установлено, что они обладают приемлемыми функциональными и пленкообразующими свойствами, что приводит к образованию прозрачных, гибких, бесцветных и не имеющих запаха пленок. Другим интересным компонентом белковой природы, которому отдают предпочтения зарубежные ученые в связи с подтвержденными функциональными свойствами, являются белковые гидролизаты. При их получении в процессе ферментации сырья образуются биоактивные пептиды, обладающие такими свойствами, как антимикробная и антиоксидантная активность [4].

Для формирования барьерных, в том

числе антимикробных свойств, многие исследователи предлагают добавлять в композиционный состав биопленок растительное масло в форме микроэмульсии [5].

Конопляное масло обладает многочисленными физиологически ценными свойствами, является источником незаменимых жирных кислот – линолевой и альфа-линоленовой. Высокое содержание токоферолов и токотриенолов, фитостеролов, фосфолипидов и каротиноидов придает ему выраженные антиоксидантные свойства, которые важны при использовании его в составе пищевых систем, а также в составе биоактивных пленочных покрытий. В других исследованиях сообщается, что конопляное масло обладает антимикробными свойствами [6]. Для улучшения стабильности липидной фазы и повышения эффективности конопляного масла в состав биопленок рекомендуется вводить его в состав в виде эмульсии.

Включение растительного масла в форме микроэмульсии в биоактивные пленки на основе биополимеров, таких как альгинат, пектин, агар-агар, позволяет придать им уникальные свойства по повышению сохранности продуктов питания от микробиологической и окислительной порчи [7].

Однако не все полисахариды, используе-

мые в качестве основы биоактивных пленок, способны формировать однородную связанную структуру с добавлением эмульсий. При этом свойства самих эмульсий и их стабильность будут играть решающую роль в формировании барьерных свойств пленочных материалов. Поэтому возникает необходимость изучения аспектов структурообразования эмульсии с введением в масло растворенного белкового компонента.

Целью исследований является изучение свойств и структурных характеристик эмульсий на основе конопляного масла и белкового гидролизата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Приготовление и характеристика микроэмульсий

В качестве функционального компонента эмульсии применяли гидролизат белка, полученный при микробной ферментации желудков цыплят-бройлеров (м.д. сухих веществ – 96 %; м.д. белка – 52 %), который добавляли в количестве 5 % от массы микроэмульсии [8].

Микроэмульсия масло / вода была составлена на основе масла из семян конопли и дистиллированной воды, взятых в соотношении 80:20. Для стабилизации эмульсий применяли два вида поверхностно-активных веществ: неионогенный стабилизатор Tween-80 (HLB-15); микроцеллюлозу (МКЦ, размер частиц 200 мкм). Tween 80 характеризуется низкой молекулярной массой, высоким гидрофильным и липофильным балансом, стабилизирует капли эмульсии посредством стериновой стабилизации. Микрочастицы целлюлозы при набухании в воде формируют стабилизирующую матрицу, ингибирующую коалесценцию капель микроэмульсии.

Микроэмульсию при стабилизации МКЦ получали по следующей схеме: гидролизат белка диспергировали в воде при постоянном перемешивании в магнитной мешалке (400 об/мин); МКЦ предварительно гомогенизировали с водой для получения устойчивой суспензии при 4600 об/мин в течение 5 минут. Раствор гидролизата перемешивали с суспензией МКЦ. Микроэмульсию готовили путем интенсивной гомогенизации двух подготовленных фаз: воды с растворенным белковым гидролизатом и МКЦ и масла при 4600 об/мин в течение 10 минут с использованием лабораторного гомогенизатора STEGLER DG-360 (Китай).

Микроэмульсию при стабилизации Tween 80 получали по схеме: гидролизат белка также диспергировали в воде; Твин-80 диспергировали в масляной фазе 5 минут. Микроэмульсию готовили путем интенсивной гомогенизации двух подготовленных фаз: воды с рас-

творенным белковым гидролизатом и масла с Tween 80 при 4600 об/мин в течение 10 минут. Эксперименты проводили при комнатной температуре.

В качестве контрольного образца использована эмульсия, приготовленная на основе воды с растворенным белковым гидролизатом и конопляного масла, без добавления стабилизатора. Диспергирование и гомогенизацию осуществляли при режимах, описанных ранее.

Методы исследования

Структуру микроэмульсии анализировали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Подготовка образца эмульсии для исследования включала термическую фиксацию жидкой эмульсии под давлением. Образцы покрывали слоем золота толщиной 2–5 нм путем распыления в аппарате для локализации сигнала на поверхности образца и повышения проводимости.

На анализаторе размера частиц Microtrac FLEX оценивали распределение частиц в эмульсиях по размерам с помощью метода DLS. Микроэмульсии разбавляли дистиллированной водой (1:100) для получения однородной суспензии частиц. Эта суспензия устанавливалась на внешний зонд Microtrac, где рассеянный свет, исходящий от образца, использовался для измерения распределения частиц по размерам.

Общую антиоксидантную активность определяли методом DPPH (%). Использовали раствор 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH) (0,025 г DPPH в 100 мл этанола). 0,5 мл эмульсии смешивали с 3,6 мл раствора DPPH, инкубировали в темноте в течение 30 мин. Поглощение измеряли с использованием спектрофотометра при 515 нм [9].

Содержание флавоноидов определяли спектрофотометрически по образованию комплекса флавоноидов с алюминием. Поглощение измеряли при 510,0 нм. Кверцетин использовали в качестве стандарта для построения калибровочной кривой. Содержание флавоноидов рассчитывали и выражали в кверцетиновом эквиваленте, $\mu\text{g EQ/g}$ [10].

Динамическую вязкость образцов определяли с использованием вибрационного анализатора вязкости SV AND камертонного типа. Измерение проводилось в течение 60,0 с при $(22,0 \pm 2,0)^\circ\text{C}$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сканирующую электронную микроскопию при различном увеличении использовали для визуализации размера и морфологии образцов эмульсий. Результаты СЭМ образцов эмульсий при увеличении $\times 500$ и $\times 1000$, представленные на рисунке 2, показывают, что микроэмульсии, стабилизированные

ПОЛЗУНОВСКИЙ ВЕСТНИК № 3 2023

ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОЭМУЛЬСИЙ КАК БИОАКТИВНОГО КОМПОНЕНТА ПИЩЕВЫХ ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Tween 80 и микроцеллюлозой, содержат сферические частицы, равномерно распределенные по размерам. Отмечаются более мелкие размеры и равномерное распределение капель эмульсии по форме и размерам для стабилизированных микроэмульсий. Для эмульсий, содержащих микроцеллюлозу, установлена взаимосвязанная структура, от-

четливо видна матрица, в которую встроены капли масла (рис. 1).

Авторы для формирования наноэмульсии применяли Tween 80 в сочетании с ультразвуковым воздействием, при этом доказана эффективность стабилизатора для получения однородной нано-размерной эмульсии [11].

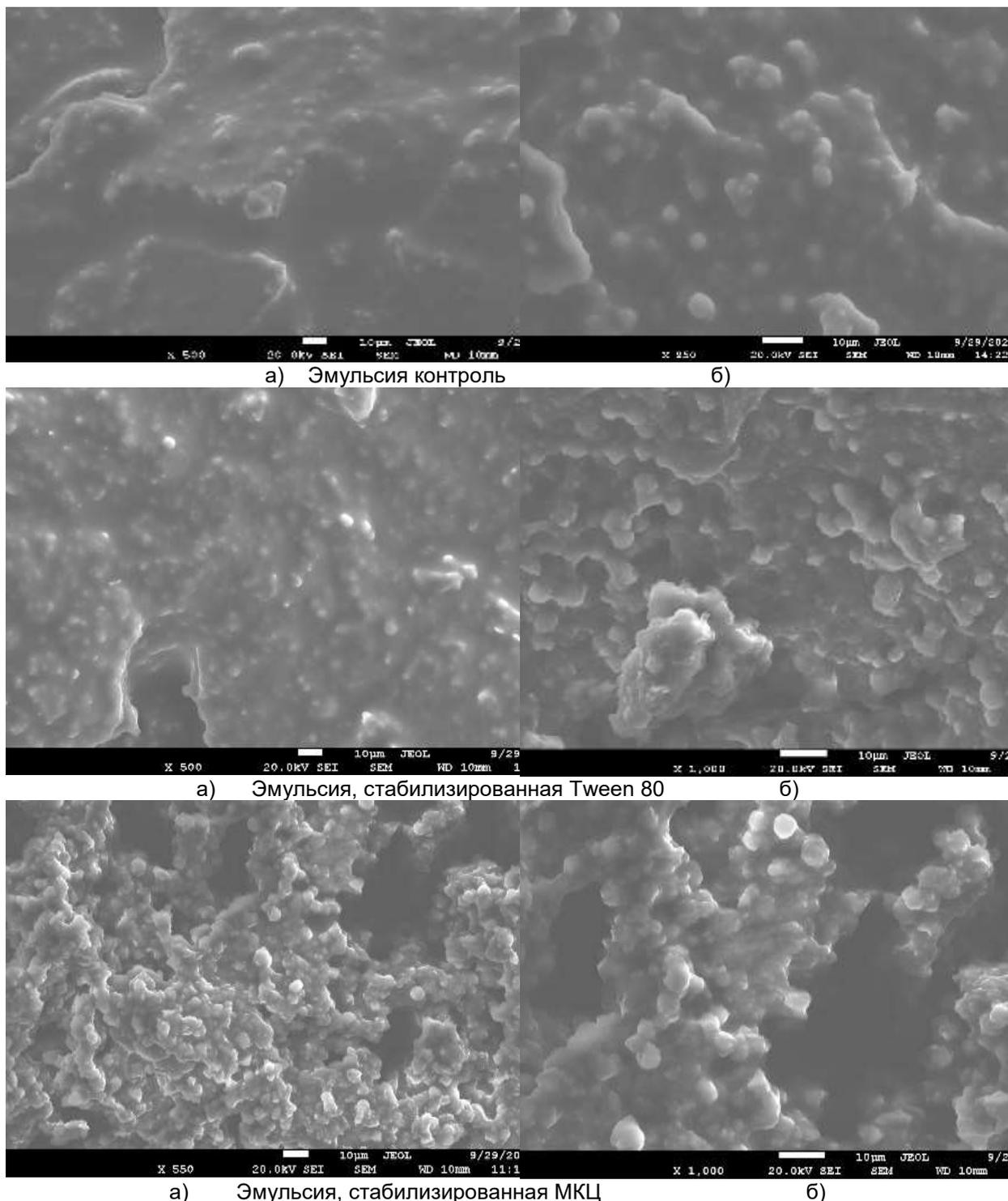


Рисунок 1 – Микроструктура эмульсий методом СЭМ: а) – увеличение $\times 500$; б) – увеличение $\times 1000$)

Figure 1 – Microstructure of emulsions by the SEM method: a) – magnification ×500; b) – magnification ×1000

Размер частиц микроэмульсии является определяющим фактором для обеспечения ее стабильности. Средний гидродинамический диаметр характеризует объемное распределение микрочастиц. Установлено, что эмульсии, стабилизированные поверхностно-активными веществами, характеризуются меньшим диаметром частиц и их равномерным распределением в микродиапазоне. Соответственно, наименьший средний гидродинамический диа-

метр (1,47 мкм) частиц отмечен для эмульсии, стабилизированной Tween 80, установлено распределение частиц в диапазоне 0,9–2,7 мкм (рис. 3). Эмульсия, стабилизированная МКЦ, характеризуется размером частиц 3,36 мкм, наибольшая масса частиц распределена в диапазоне 0,9–7,5 мкм.

Контрольная эмульсия отличается размером частиц 11,7 мкм, отмечено распределение частиц в диапазоне 0,9–37 мкм (рис. 2).

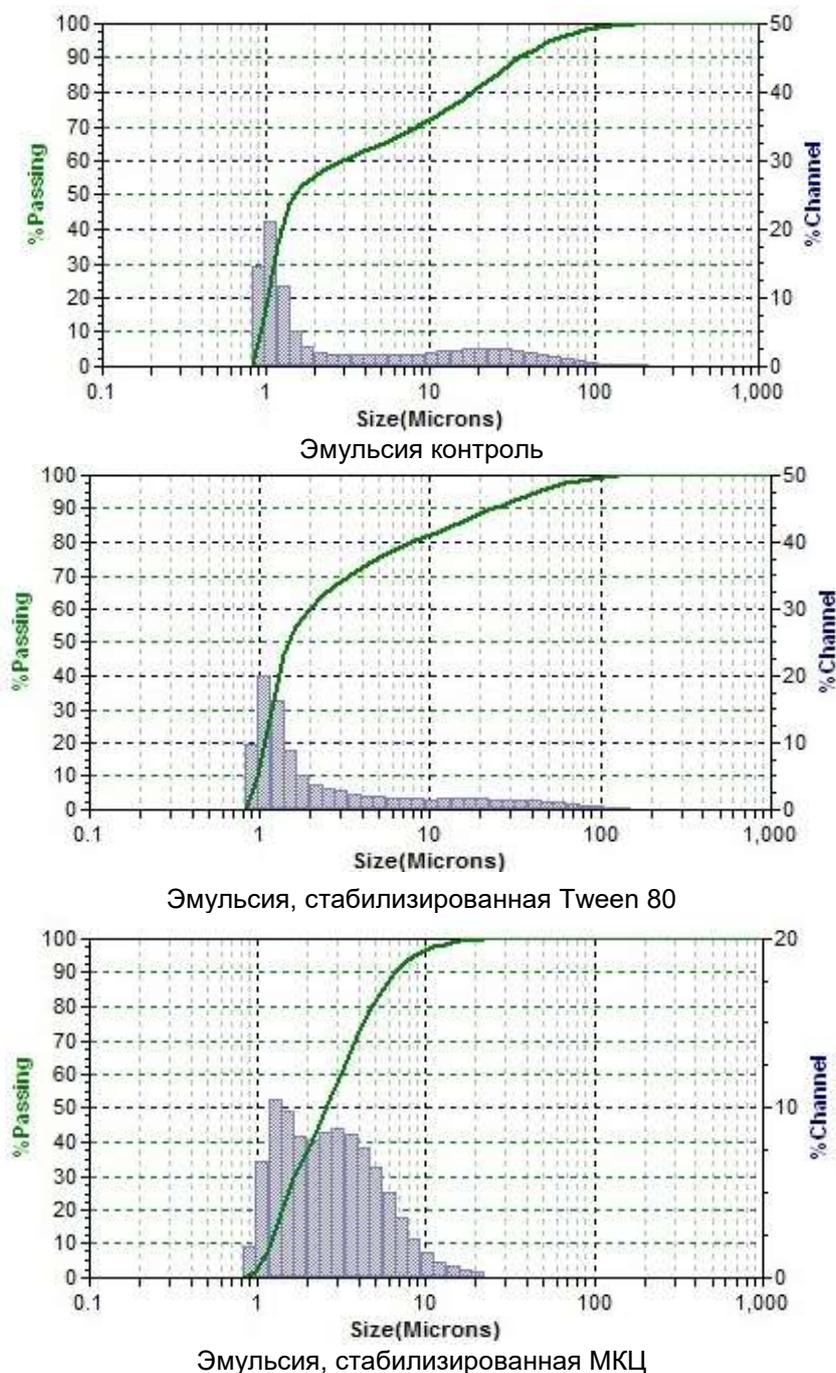


Рисунок 2 – Распределение размера частиц в микроэмульсиях

ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОЭМУЛЬСИЙ КАК БИОАКТИВНОГО КОМПОНЕНТА ПИЩЕВЫХ ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Figure 2 – Particle size distribution in microemulsions

Анализ антиоксидантных свойств микроэмульсий позволил установить стабильность антирадикальной активности DPPH и флавоноидов в эмульсионной системе на протяжении 7 суток хранения (таблица 1).

Высокую активность DPPH в эмульсиях обеспечивает как белковый гидролизат, содержащий биоактивные пептиды и флавоно-

иды, так и конопляное масло, богатое токоферолами, токотриенолами и фитостеролами [12]. Максимальные значения антирадикальной активности в течение 7 суток коррелировали с наиболее высокой концентрацией флавоноидов в эмульсии, стабилизированной микроцеллюлозой.

Таблица 1 – Динамика антиоксидантной активности микроэмульсий в период хранения

Table 1 – Dynamics of antioxidant activity of microemulsions during storage

Наименование образца эмульсии	Показатели			
	1-й день		7-й день	
	Содержание флавоноидов, $\mu\text{g EQ/g}$	DPPH активность, %	Содержание флавоноидов, $\mu\text{g EQ/g}$	DPPH активность, %
Эмульсия Контроль	9.20 ± 0.8^a	47.63 ± 0.6^a	6.50 ± 0.4^a	34.81 ± 0.55^a
Эмульсия, стабилизированная Tween 80	10.68 ± 1.2^b	60.54 ± 1.15^b	7.34 ± 0.6^b	51.98 ± 0.70^b
Эмульсия, стабилизированная МКЦ	18.11 ± 1.4^c	61.72 ± 1.3^b	13.50 ± 1.1^c	54.87 ± 0.72^b

Результаты представлены как среднее значение трех параллельных определений ($S \pm x$), для значений с различными буквами в столбцах установлены статистически достоверные различия при $p \leq 0,05$.

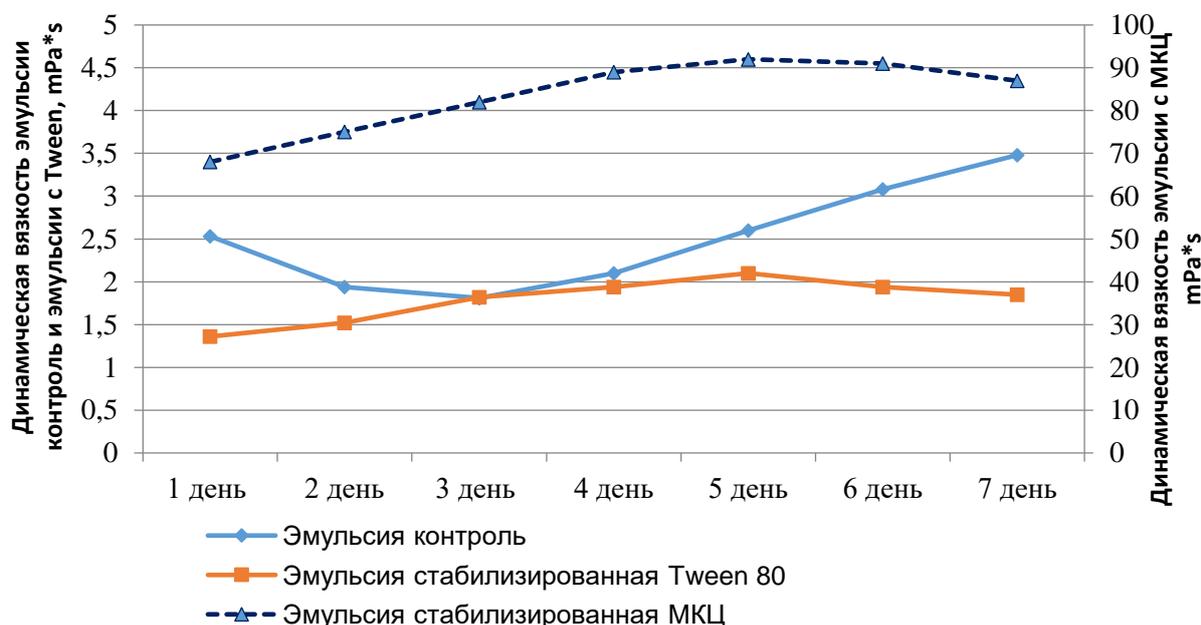


Рисунок 3 – Динамика вязкости микроэмульсий в период хранения

Figure 3 – Dynamics of viscosity of microemulsions during storage

При анализе динамической вязкости эмульсий установлена способность микроцеллюлозы формировать связанную матрицу и соответственно увеличивать вязкость микроэмульсии до значений 68–92 $\text{mPa}\cdot\text{s}$. Тогда как при применении Твин 80 в качестве стабилизатора установлены минимальные значения вязкости (1,36 – 2,1 $\text{mPa}\cdot\text{s}$), что связано

со способностью ПАВ формировать мелкодисперсную липидную фазу при гомогенизации эмульсии. Отмечена способность стабилизированных микроэмульсий сохранять постоянную вязкость на протяжении 7 суток хранения. Тогда как для микроэмульсии без применения стабилизатора доказана тенденция возрастания вязкости, что обусловлено

коалесценцией липидных капель (рис 3).

ВЫВОДЫ

При выполнении экспериментальных исследований проанализировано влияние поверхностно-активных веществ на стабильность и свойства эмульсий, содержащих биоактивный компонент – гидролизат белка. Так, микроэмульсии, стабилизированные Tween 80 и микроцеллюлозой, являются мелкодисперсной стабильной системой, с установленной антирадикальной активностью и значительным содержанием флавоноидов. Результаты анализа микроструктуры, дисперсного состава и антиоксидантной активности доказывают возможность применения данных микроэмульсий в составе композиции биоактивных пленочных покрытий.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда № 23-26-00153 <https://rscf.ru/project/23-26-00153/>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Calva-Estrada S.J., Jiménez-Fernández M., Lugo-Cervantes, E. Protein-based films: Advances in the development of biomaterials applicable to food packaging // *Food Engineering Reviews*. 2019. P. 78–92. <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09189-w>.
2. Ultrasound-assisted synthesis of nanoemulsion/protein blend for packaging application. / F. Benimana, I.Y. Potoroko, P. Pathak [et al.] // *Food Science & Nutrition*. 2022.10. P. 1537–1547. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2776>.
3. Ghadetaj A., Almasi H., Mehryar, L. Development and characterization of whey protein isolate active films containing nanoemulsions of *Grammosciadiumptrocarpum Bloss* // *Food Packaging and Shelf Life*. 2018. 16. P. 31–40. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.01>.
4. Physicochemical, Functional, and Technological Properties of Protein Hydrolysates Obtained by Microbial Fermentation of Broiler Chicken Gizzards / O. Zinina, S. Merenkova, M. Rebezov [et al.] // *Fermentation*. 2022. 8(7). <https://doi.org/10.3390/fermentation8070317>.
5. Advances in biopolymeric active films incorporated with emulsified lipophilic compounds: A review / I. Dammak, C.G. Luciano, L.J. Pérez-Córdoba // *RSC*

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare that there is no conflict of interest.*

Статья поступила в редакцию 28.03.2023; одобрена после рецензирования 13.08.2023; принята к публикации 11.09.2023.

The article was received by the editorial board on 28 Mar 2023; approved after editing on 13 Aug 2023; accepted for publication on 11 Sep 2023.

Advances. 2021. 11(45). P. 28148–28168.

6. Formulation, Characterization and Properties of Hemp Seed Oil and Its Emulsions / V. Mikulcová, V. Kašpárková, P. Humpolíček, L. Buňková // *Molecules*. 2017. 22–700. doi:10.3390/molecules22050700.

7. Gelatin-based films reinforced with montmorillonite and activated with nanoemulsion of ginger essential oil for food packaging applications / E.M.C. Alexandre, R.V. Lourenço, A.M.Q.B. Bittante // *Food Packaging and Shelf Life*. 2016. 10. P. 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.10.004>.

8. Зинина О.В., Ребезов М.Б., Меренкова С.П. Оптимизация процесса получения белковых обогащений из субпродуктов на основе микробной ферментации сырья. // *Все о мясе*. 2022. № 2. С. 14–17. DOI 10.21323/2071-2499-2022-2-14-17.

9. Sui X., Bary S., Zhou W. Changes in the color, chemical stability and antioxidant capacity of thermally treated anthocyanin aqueous solution over storage // *Food Chemistry*. 2016. Vol. 192. P. 516–524.

10. Blueberry leaves from 73 different cultivars in southeastern China as nutraceutical supplements rich in antioxidants / Wu H., Chai Z., Hutabarat R.P. [et al.] // *Food Research International*. 2019. 122. P. 548–560.

11. Sonochemical approach for the synthesis of safflower oil based low fat emulsion: Effect of ultrasonic parameters / Potdar S., Bagale U., Potoroko I. [et al.] // *Materials Today: Proceedings*. 2022. 57. P. 1619–1625. doi:10.1016/j.matpr.2021.12.232.

12. Callaway, J.C. Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica* 2004, 140, 65–72. <https://doi.org/10.1007/s10681-004-4811-6>.

Информация об авторах

С. П. Меренкова – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Пищевые и биотехнологии».

О. В. Зинина – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Пищевые и биотехнологии».

Information about the authors

S.P. Merenkova - candidate of Veterinary Sciences, associate Professor of Department of Food and Biotechnology.

O.V. Zinina - candidate of Agricultural Sciences, associate Professor of Department of Food and Biotechnology.