

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ МИКРОНИЗАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ИНГРЕДИЕНТА ФУКОИДАНА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИЯХ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

И.Ю. Потороко<sup>1</sup>, Д.Г. Ускова<sup>1</sup>, А.В. Паймулина<sup>1</sup>, Удей Багале<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Южно-Уральский государственный университет, г. Челябинск, Россия

<sup>2</sup> Национальный технологический институт, Варангал, шт. Телангана, Индия

В статье рассматриваются возможности применения эффектов ультразвукового воздействия для микронизации растительного ингредиента фукоидана, полученного из водорослей дальневосточных океанических вод. Целью работы являлось исследование влияния процесса микронизации сульфатированного гетерополисахарида фукоидана на изменение дисперсного состояния в растворе и обеспечения доступности для проникновения в клеточные системы. В качестве тестовых систем использовались молочнокислые бактерии и дрожжевые клетки. Для микронизации использовали акустический источник упругих колебаний прибор «Волна» модель УЗТА-0,4/22-ОМ (частота колебаний  $(22 \pm 1,65)$  кГц, максимальная мощность 600 Вт/л). Фукоидан обладает широким спектром биологической активности, антиоксидантными и противовирусными свойствами и др. Фукоидан имеет разный молекулярный вес, в зависимости от способа извлечения, как правило, известны 100~1.000 kDa. Учитывая, что фукоидан является гетерополисахаридом сложной структуры, размеры частиц порошка при его растворении в среднем составляют  $(1,7 \pm 1,3)$  мкм, что определяет его низкую биодоступность для активных компонентов, выполняющих важную роль в биохимических процессах. Для решения данной проблемы был применен метод ультразвуковой микронизации пищевого ингредиента фукоидана (ПИФузв) в режиме 240 Вт/л в течение 3 минут, который позволил обеспечить тонкое диспергирование частиц. В результате ультразвукового воздействия размеры частиц переходят в разряд наноуровня и укладываются в следующие параметры пофракционно от  $(376 \pm 3,5)$  нм до  $(1826 \pm 8,3)$  нм. Полученные данные указывают, что ПИФ благоприятствуют течению физиологических процессов, в поле зрения наблюдаются почкующиеся клетки. Процесс микронизации фукоидана обеспечивает накопление в клеточных культурах запасных веществ – гликогена и волютина. Микронизированный ПИФ позволяет сформировать характерную для йогурта микрофлору в достаточно высоком количестве, включающую *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus* (до  $5,4 \times 10^8$  КОЕ/г) и *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* (до  $4,4 \times 10^7$  КОЕ/г). Таким образом, ультразвуковая микронизация повышает эффективность биотехнологических процессов пищевых производств.

**Ключевые слова:** фукоидан, микронизация, ультразвук, биодоступность, пищевой ингредиент.

## Введение

Одним из актуальных направлений в реализации процессов получения органической пищи является применение ингредиентов адаптогенного действия, полученных при переработке растительного и животного сырья. При этом важно сохранить функциональность питания для профилактики нарушений гомеостаза в организме человека [2, 6, 7].

В последнее время в пищевой отрасли активно развивается производство продукции, обогащенной пребиотиками различной природы: ди- и трисахаридами; полисахаридами; многоатомными спиртами; аминокислотами, ферментами, низкомолекулярными и полиненасыщенными жирными кислотами, антиок-

сидантами и другими биологически активными веществами [12, 13, 15].

Обогащение продуктов питания чаще всего осуществляют для компенсации нутриентных недостатков сырья, чаще всего используются нетрадиционные для той или иной отрасли пищевой индустрии ингредиенты. Однако в этих условиях практически не прослеживается механизм встраивания нового компонента в систему пищевой матрицы обогащаемого продукта и его совместимости с нативными макро- и микронутриентами продукта. Разработки последних лет дополнили перечень веществ пребиотического характера ингредиентами, выделенными из гидробионтов. Получение новых фитокомплексов с

высокой антиоксидантной активностью (АОА) из водорослей и другого растительного сырья является активно развивающимся направлением [3].

В мировой науке накоплен обширный материал, свидетельствующий о применении полисахаридов морских водорослей и иглокожих в качестве лечебно-профилактических пребиотиков. Причем ресурсный потенциал этого вида сырья достаточно велик, так, моря Дальнего Востока отличаются богатейшими запасами бурых водорослей, которые оцениваются в 14–16 млн тонн (Суховеева, Подковытова, 2006) [4, 8, 10].

Экстракты бурых фукусовых водорослей перспективны в качестве антиоксидантных биопрепаратов в связи с высоким содержанием в них полифенолов и фукоидана, а также возможной ролью других биологически-активных веществ водорослей (аскорбиновой кислоты, свободных аминокислот и других). Особое внимание уделяется сложному сульфатированному гетерополисахариду бурых водорослей – фукоидану, который содержит редкий моносахарид *α-L*-фукозы.

По данным Института органической химии им. Н.Д.Зелинского РАН, фукоиданы, содержащиеся в разных видах водорослей, отличаются составом и структурой (табл. 1). Учеными института А.И. Усовым, М.И. Биляном и др. проведено комплексное исследование особой группы полисахаридов – фукозиллированных хондроитинсульфатов, найденных в морских огурцах. Установлено, что величина биологического эффекта в отношении антикоагулянтных и антитромботических свойств определяется именно тонкими деталями структуры полимера [14].

А.Б. Хмельковым, Т.Н. Звягинцевой и др. применена ультразвуковая экстракция полисахаридов из бурой водоросли *Fucus evanescens*. Авторами изучена структура и биологическая активность новых фракций фукоидана.

Благодаря ультразвуковой экстракции из бурой водоросли *Fucus evanescens* был получен новый регулярный 1→3; 1→4-*α-L*-фукан. Он сульфатируется при C2 и ацетируется при C3 остатка фукозы и проявляет противоопухолевую активность *in vitro* в отношении клеток карциномы толстой кишки человека, сравнимую с общей фракцией F1 [19].

Для фукоиданов из водорослей *Fucus vesiculosus*, *F. evanescens*, *F. distichus*,

*Ascophyllum nodosum* характерна цепь, состоящая из чередующихся (1→3)- и (1→4)-связанных-L-фукопиранозных остатков. Фукоза выполняет важные биологические функции в процессах онтогенеза, клеточной дифференциации, а также установлена его роль в формировании иммунитета и в репродуктивных процессах позвоночных. Подтверждена антиоксидантная активность фукоолигосахаридов [16, 20, 22, 23], а также эффективность в отношении профилактики новообразований.

Фукоиданы растворимы в воде, не образуют очень вязких сред. Технология получения может включать в себя экстракцию водой, растворами кислот или солей кальция, дальнейшую обработку ультразвуком или микроволнами. Известно, что фукоидан обладает широким спектром биологической активности, антиоксидантными и противовирусными свойствами и др. [5, 24]. Несмотря на широкую известность этих полисахаридов, не решен вопрос о взаимосвязи биологической активности и химической структуры, так как структуры фукоиданов полностью не установлены. Отсутствует единое мнение о поглощении фукоидана при пероральном введении макромолекул.

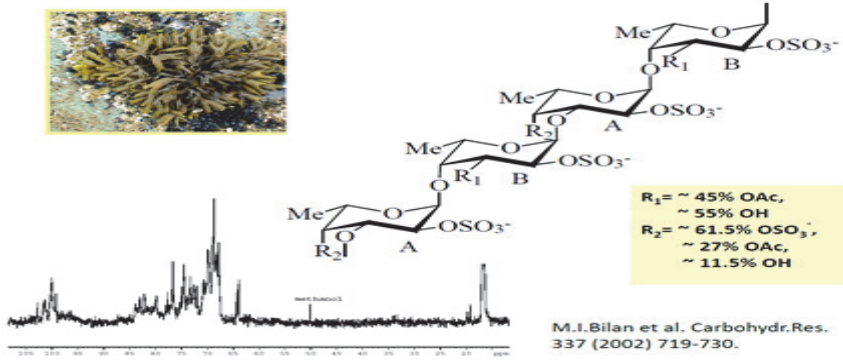
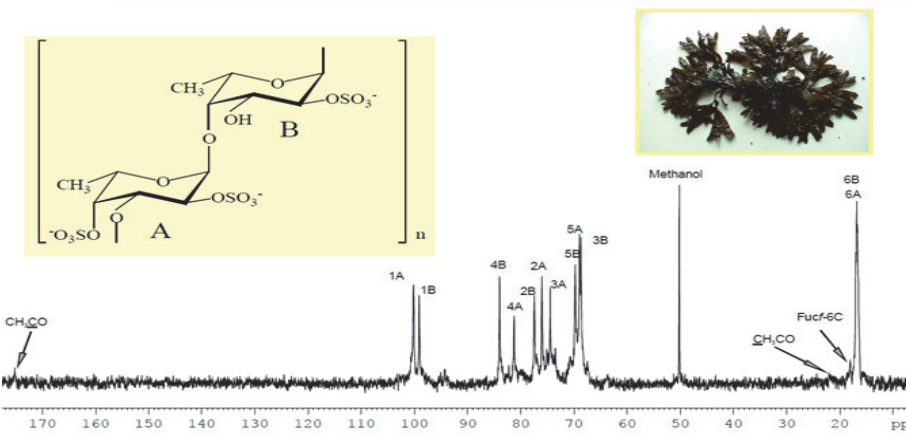
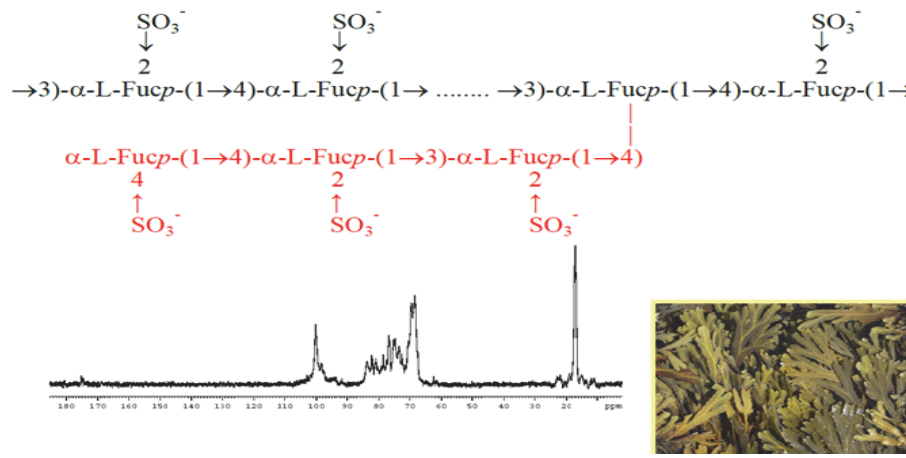
Исследования доктора Ирхимехом и др. показали, что при пероральном введении фукоидана, извлеченного из *Undaria pinnatifida*, у человека произошло увеличение концентрации фукоидана в крови. Особенно когда 3 г 75 % раствора фукоидана, извлеченного из *Undaria pinnatifida*, вводили перорально каждый день, концентрация в крови была приблизительно 13 мг/л. Эти результаты показывают на то, что различные виды фукоидана имеют различные функции поглощения тела при пероральном введении.

Известно, что фукоидан обладает широким спектром биологической активности, антиоксидантными и противовирусными свойствами и др. [19]. Фукоидан имеет разный молекулярный вес, в зависимости от способа извлечения, как правило, известны 100–1.000 kDa. Низкомолекулярный фукоидан (4 кД) лучше гепарина предотвращал артериальный тромбоз. Полученные с помощью перекиси водорода из высокомолекулярных низкомолекулярные фукоиданы (7,8...8,3 кД) проявляют антикоагулянтную активность [5].

Существует несколько способов корректировки молекулярного веса фукоидана. В полисахариде фукоидан, в его природной

Таблица 1

Характеристика особенностей состава и строения гетерополисахарида фукоидана, выделенного из разных видов водорослей

Результаты исследования структуры фукоиданов, извлеченных из разных видов водорослей	Наименование водорослей и источники информации
1	2
 <p>M.I. Bilan et al. Carbohydr. Res. 337 (2002) 719–730.</p>	<p>Структура фукоидана из <i>Fucus evanescens</i></p> <p>M.I. Bilan et al. Carbohydr. Res. 337 (2002) 719–730</p>
 <p>M.I. Bilan et al. Carbohydr. Res., 339 (2004) 511–517</p>	<p>Структура фукоидана из водоросли <i>Fucus distichus</i></p> <p>M.I. Bilan et al. Carbohydr. Res., 339 (2004) 511–517</p>
 <p>M.I. Bilan et al. Carbohydr. Res. 341 (2006) 238–245</p>	<p>Структура фукоидана из <i>Fucus serratus</i></p> <p>M.I. Bilan et al. Carbohydr. Res. 341 (2006) 238–245</p>





БАД, на основании экспертной оценки Минздрава России, ГУ НИИ питания РАМН рекомендован в качестве дополнительного источника полисахаридов (фукоидан) и растворимых пищевых волокон (альгинат).

– Дрожжи хлебопекарные прессованные (*Saccharomyces cerevisiae*) «Люкс экстра» ТУ 9182-038-48975583-2011, производимые ООО «САФ-НЕВА», г. Санкт-Петербург, Россия.

– Производственная закваска прямого внесения LYOVAC YOYO 82Q. В состав используемой закваски входят: *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*.

В качестве источника УЗВ был использован акустический источник упругих колебаний ультразвуком – прибор «Волна» модель УЗТА-0,4/22-ОМ, работающий на частоте  $(22 \pm 1,65)$  кГц и выходной мощности 180–400 Вт.

Для оценки размера частиц использовали анализатор Nanotrac Ultra и Microtrac S3500 (Microtrac Inc., США). Анализ основан на методе динамического рассеяния света. Минимальный размер частиц, обнаруживаемых прибором Nanotrac Ultra – 0,8 нм, Microtrac S3500 – 0,024...2800 мкм. Результаты измерений имеют высокую точность и воспроизводимость.

Исследование колониеобразующих единиц проводилось с помощью метода MALDI TOF MS. Изоляты микроорганизмов выращивали на поверхности питательной среды агар Рогоза. Анализ масс-пиковых списков спектров рибосомных белков проводили с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Германия). Источники из микробной коллекции DMZS (Германия), отобранные производителем, были использованы для сравнения штаммов. Результаты были интерпретированы с использованием шкалы, предложенной производителем: показатель Score, равный 2 и более, считался надежным для определения вида, в диапазоне от 1,7 до 2 – надежным для определения рода, менее 1,7 считался ненадежным [1, 17].

Для определения качественного состава микрофлоры заквасок использовали метод микроскопических исследований. Для исследования готовили фиксированные препараты сквашенных сгустков йогуртов, окрашенных комбинированным фиксатором [25, 26].

Для изучения морфологии дрожжей готовили неокрашенные препараты типа «раздавленная капля». Количество гликогена в клет-

ках дрожжей оценивали с помощью окрашивания их раствором Люголя. Для окраски включений зерен волютина мазки фиксировали и окрашивали по способу Нейссера.

#### Результаты и их обсуждение

Для изучения влияния ультразвуковой микронизации на дисперсию частиц пищевого ингредиента фукоидана (ПИФ), готовили водные растворы ПИФ 1 %-ной концентрации, которые затем подвергали УЗВ мощностью 240 Вт/л в течение 3 минут. Процесс микронизации вели с использованием охлаждающей рубашки для стабильности температуры на уровне 40 °С. Данный режим УЗВ был определен как рациональный с учетом возможности настройки аппарата в ходе серии прогностических исследований.

Ультразвуковая технология была использована Welti-Chanes J., Knorr D., Villamiel M. и др. в жидких пищевых средах для дегазации, активации окислительно-восстановительных реакций, экстракции ферментов и белков, инактивации ферментов, а также для модификации продуктов. В молочных продуктах ультразвук используется для инактивации патогенных микроорганизмов и ферментов, гомогенизации молока, экстракции ферментов и гидролиза лактозы [21, 27].

Активность бактериальной микрофлоры, используемой в технологиях пищевых производств, напрямую связана со спиртовым и молочнокислым брожениями. Спиртовое брожение – процесс превращения углеводов в результате культивирования дрожжей в этанол и диоксид углерода. Под действием ферментов дрожжей происходит превращение сахара в спирт и углекислый газ. Молочнокислое брожение является основным процессом в производстве кисломолочных продуктов, а также в производстве ржаного хлеба. Достаточно часто возникают проблемы низкой активности дрожжевых культур и микроорганизмов заквасок, в этой связи поиск путей их активизации весьма актуален.

В качестве модельных биологических объектов были определены:

– хлебопекарные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* (эукариоты, растут очень быстро и также быстро синтезируют белок, единственные анаэробы среди эукариот);

– лактобактерии *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* – бактерии для технологии йогуртов. *Lactobacillus delbrueckii subsp.*



## Биохимический и пищевой инжиниринг

*bulgaricus* получают энергию в результате гомоферментативного молочнокислого брожения. Для роста на питательных средах нуждаются в факторах роста и витаминах. *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* продуцирует внеклеточные полисахариды и способна выживать при прохождении через желудочно-кишечный тракт [18].

Учитывая, что фукоидан является гетерополисахаридом сложной структуры, размеры частиц порошка при его растворении в среднем составляют  $(1,7 \pm 1,3)$  мкм, что определяет его низкую биодоступность для активных компонентов, выполняющих важную роль в биохимических процессах. Для решения данной проблемы был применен метод ультразвуковой микронизации ПИФ в режиме 240 Вт/л в течение 3 минут, который позволил обеспечить тонкое диспергирование частиц.

Результаты исследования дисперсного состава растворов фукоиданов после УЗВ по отношению к контролю (табл. 2) указывают на

изменение размерного ряда частиц. Так, контрольные образцы растворов фукоидана имели дисперсию с размером частиц в разряде микрометров 16...104 мкм, причем пищевой ингредиент фукоидан из водоросли *F. Evanescens* содержал фракции частиц наименьших размеров 16,02 мкм (50 %) и 44,44 мкм (50 %). В результате ультразвукового воздействия размеры частиц переходят в разряд наноуровня и укладываются в следующие параметры пофракционно от  $(376 \pm 3,5)$  нм до  $(1826 \pm 8,3)$  нм.

В дальнейших исследованиях был использован пищевой ингредиент фукоидан из водоросли *F. Evanescens* (Россия).

Изучение влияния ПИФ на активность дрожжей показало (табл. 3), что у образцов дрожжевых клеток, полученных при использовании нативного ПИФ и ПИФ микронизованного, по отношению к контролю отмечается увеличение числа дрожжевых клеток и активизация физиологических процессов.

Таблица 2

Результаты исследования дисперсного состава фукоиданов разного происхождения до и после УЗВ

Образец ПИФ	Суммарные пики	Размерный ряд частиц															
Фукоидан из бурых водорослей <i>Kjellmaniella crassifolia</i> , (КНР),	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Dia(nm)</th> <th>Vol%</th> <th>Width</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>41.92</td> <td>100.0</td> <td>77.32</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Dia(nm)	Vol%	Width	41.92	100.0	77.32										
Dia(nm)	Vol%	Width															
41.92	100.0	77.32															
Фукоидан из бурых водорослей <i>Kjellmaniella crassifolia</i> , (КНР) после УЗВ	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Dia(nm)</th> <th>Vol%</th> <th>Width</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1411</td> <td>30.0</td> <td>465.00</td> </tr> <tr> <td>379.0</td> <td>70.0</td> <td>247.20</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Dia(nm)	Vol%	Width	1411	30.0	465.00	379.0	70.0	247.20							
Dia(nm)	Vol%	Width															
1411	30.0	465.00															
379.0	70.0	247.20															
Фукоидан бурых водорослей <i>Undaria pinnatifida</i> и <i>Laminaria japonica</i> (Южная Корея)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Dia(nm)</th> <th>Vol%</th> <th>Width</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>102.2</td> <td>21.7</td> <td>44.35</td> </tr> <tr> <td>31.62</td> <td>78.3</td> <td>39.96</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Dia(nm)	Vol%	Width	102.2	21.7	44.35	31.62	78.3	39.96							
Dia(nm)	Vol%	Width															
102.2	21.7	44.35															
31.62	78.3	39.96															

Окончание табл. 2

Образец ПИФ	Суммарные пики	Размерный ряд частиц															
Фукоидан водорослей <i>Undaria pinnatifida</i> и <i>Laminaria japonica</i> (Южная Корея) После УЗВ	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Dia(nm)</th> <th>Vol%</th> <th>Width</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1794</td> <td>50.8</td> <td>783.00</td> </tr> <tr> <td>893.0</td> <td>25.0</td> <td>367.00</td> </tr> <tr> <td>432.0</td> <td>24.2</td> <td>249.20</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Dia(nm)	Vol%	Width	1794	50.8	783.00	893.0	25.0	367.00	432.0	24.2	249.20				
Dia(nm)	Vol%	Width															
1794	50.8	783.00															
893.0	25.0	367.00															
432.0	24.2	249.20															
Фукоидан из водоросли <i>F. Evanescons</i> (Россия)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Dia(nm)</th> <th>Vol%</th> <th>Width</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>44.44</td> <td>50.0</td> <td>39.69</td> </tr> <tr> <td>16.02</td> <td>50.0</td> <td>12.48</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Dia(nm)	Vol%	Width	44.44	50.0	39.69	16.02	50.0	12.48							
Dia(nm)	Vol%	Width															
44.44	50.0	39.69															
16.02	50.0	12.48															
Фукоидан из водоросли <i>F. Evanescons</i> (Россия) после УЗВ	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Dia(nm)</th> <th>Vol%</th> <th>Width</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1826</td> <td>43.2</td> <td>665.00</td> </tr> <tr> <td>1002</td> <td>28.8</td> <td>375.00</td> </tr> <tr> <td>376.0</td> <td>28.0</td> <td>223.70</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Dia(nm)	Vol%	Width	1826	43.2	665.00	1002	28.8	375.00	376.0	28.0	223.70				
Dia(nm)	Vol%	Width															
1826	43.2	665.00															
1002	28.8	375.00															
376.0	28.0	223.70															

Физиологическую активность дрожжевых клеток определяли по содержанию в них резервного полисахарида – гликогена, а также волютина, обуславливающего рост и размножение дрожжевых клеток. Волютин является резервом полифосфатов в клетке и накапливается как запасное вещество, при голодании его количество уменьшается. Представленные данные указывают, что ПИФ благоприятствуют течению физиологических процессов, в поле зрения наблюдаются почкующиеся клетки. Процесс микронизации фукоидана обеспечивает накопление в клеточных культурах запасных веществ – гликогена и волютина [11].

Для оценки эффективности данного подхода при молочнокислом брожении были по-

лучены опытные образцы ферментированного йогуртовой закваской молока. Идентификацию молочнокислой микрофлоры проводили на основе метода MALDI-TOFMS, результаты представлены в табл. 4.

Микронизированный ПИФ вносился в количестве 0,02 % к массе, что было установлено в процессе прогностических исследований, для активации заквасочной микрофлоры. На основании полученных результатов можно утверждать, что микронизация ПИФ позволяет сформировать характерную для йогурта микрофлору в достаточно высоком количестве, включающую *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus* (до  $5,4 \times 10^8$  КОЕ/г) и *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* (до  $4,4 \times 10^7$



Таблица 3

Физиологические характеристики дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* при культивировании в среде с разным составом

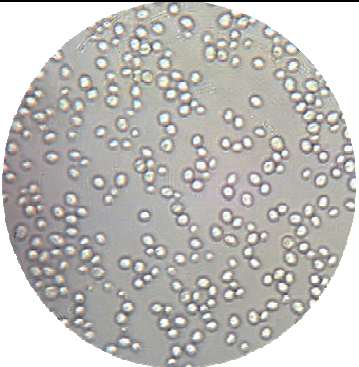
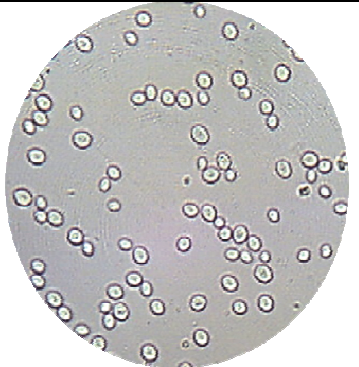
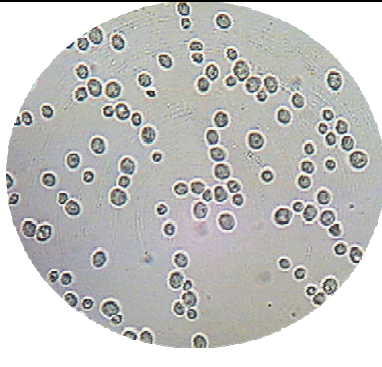
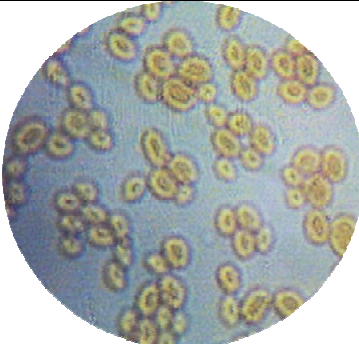
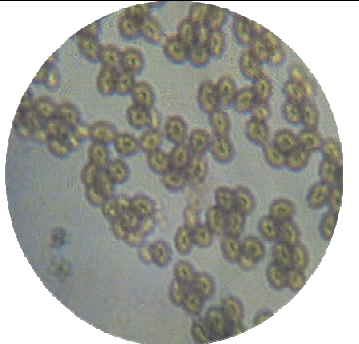

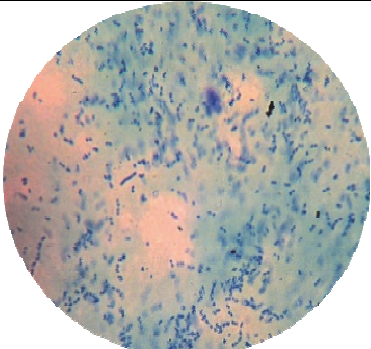
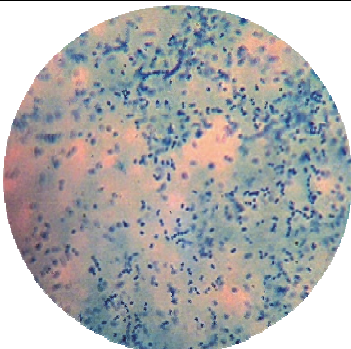
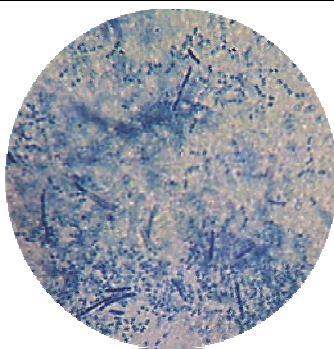
Контроль (без ПИФ)	Дрожжевая культура в присутствии ПИФ	Дрожжевая культура в присутствии ПИФ после УЗВ
Определение включений гликогена в клетках дрожжей (окрашивание йодом)		
		
Определение включений зерен волютина (окрашивание по методу Нейссера)		
		
Количество дрожжевых клеток с зернами волютина, %		
Не установлены	11...12 %	96...97%

Таблица 4

Микрофотографии микрофлоры исследуемых образцов (увеличение x1350) и результаты идентификации методом MALDI-TOFMS

Образец 1 (контроль)	Образец 2 (ПИФ нативный)	Образец 3 (ПИФ после УЗВ)
		
<i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>Thermophilus</i> <b>скор 2,008</b>	<i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>Thermophilus</i> <b>скор 2,010</b>	<i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>Thermophilus</i> <b>скор 2,054</b>
<i>Lactobacillus delbruecki</i> issp. <i>Bulgaricus</i> <b>скор 1,950</b>	<i>Lactobacillus delbruecki</i> issp. <i>Bulgaricus</i> <b>скор 1,948</b>	<i>Lactobacillus delbruecki</i> issp. <i>Bulgaricus</i> <b>скор 2,225</b>

КОЕ/г). Микронизация ПИФ обеспечивает активацию заквасочной микрофлоры, на что указывает высокий скор *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus* (2,054) и *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* (2,225).

Таким образом, использование ультразвуковой микронизации растительного пищевого ингредиента фукоидана обеспечивает возможность его применения в технологиях пищевых производств для активирования биотехнологических процессов. Для подтверждения эффективности данного подхода необходимо дополнительное исследование в отношении оценки потребительских свойств пищевой продукции, полученной с применением микронизованных растительных ингредиентов.

### Литература

1. Бондаренко, В.М. Препараты пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков в терапии и профилактике кишечных дисбактериозов / В.М. Бондаренко, Н.М. Грачева // Фарматека. – 2003. – № 7. – С. 56–63.
2. Быков, А.Т. Микробиота кишечника: вклад в здоровье, развитие и профилактику заболеваний человека / А.Т. Быков, А.В. Шапошников, Т.Н. Маляренко // Медицинский журнал. – 2016. – № 4 (58). – С. 16–26.
3. Гажса А.К. Биологически активные добавки к пище (БАД) Приморского края (пособие для врачей и фармацевтов) / А.К. Гажса и др. – Владивосток, 2006. – 118 с.
4. Головкова, Е.В. Молочный напиток «Приморский» – продукт нового поколения / Е.В. Головкова, Е.В. Медведева, Т.К. Каленик // Технические науки – от теории к практике. – 2013. – № 21. – С. 153–159.
5. Дрозд, Н.Н. Антикоагулянтная активность сульфатированных полисахаридов / Н.Н. Дрозд, Г.Е. Банникова, В.А. Макаров // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Том 69, №6. – С. 51–60.
6. Кохан, С.Т. Протекторное действие биологически активных добавок «Астрагал» и «Женьшень с астрагалом» при гипоксии и стрессе / С.Т. Кохан, А.В. Патеюк, А.Г. Мондодоев // Вестник фармации. – 2012. – № 4 (58). – С. 59–63.
7. Кочеткова, А.А. Функциональные продукты в концепции здорового питания / А.А. Кочеткова // Пищевая промышленность. – 1999. – № 3. – С. 4–5.
8. Кузнецова, Т.А. Исследование пребиотического потенциала биологически активных

веществ из морских гидробионтов и разработка новых продуктов функционального питания / Т.А. Кузнецова, Т.С. Запорожец, Н.Н. Беседнова и др. // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 2011. – № 2 (156). – С. 147–150.

9. Кусайкин, М.И. Ферменты морского моллюска *Littorina kurila*, катализирующие трансформацию фукоиданов / М.И. Кусайкин, Ю.В. Бурцева и др. // Биохимия. – 2003. – Т. 68, № 3. – С. 384–392.

10. Лобуцкая Н.В. Биотехнологические аспекты производства комбинированных напитков с использованием каррагинанов водорослей российского Тихоокеанского шельфа: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.23 / Лобуцкая Наталья Викторовна. – Владивосток, 2003. – 215 с.

11. Потороко, И.Ю. Разработка технологии хлеба с лечебно-профилактическими свойствами на основе применения комплексной растительной добавки / И.Ю. Потороко, А.В. Паймулина, Д.Г. Ускова // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2016. – Т. 4, № 3. – С. 39–46. DOI: 10.14529/food160305

12. Синельников Б.М. Лактоза и ее производные / Б.М. Синельников, А.Г. Храмов, И.А. Евдокимов и др.; науч. ред. акад. РАНХН А.Г. Храмов. – СПб.: Профессия, 2007. – 768 с.

13. Ускова, Д.Г. Формирование улучшенных потребительских свойств йогуртов на основе ультразвукового воздействия и использования полисахарида фукоидана / Д.Г. Ускова, И.Ю. Потороко, Н.В. Попова // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2016. – Т. 4, № 3. – С. 80–88. DOI: 10.14529/food160310

14. Усов, А.И. Полисахаридный состав некоторых бурых водорослей Камчатки / А.И. Усов, Г.П. Смирнова, Н.Г. Ключкова // Биоорганическая химия. – 2001. – Т. 27, № 6. – С. 444–448.

15. Храмов, А.Г. Феномен молочной сыворотки / А.Г. Храмов. – СПб.: Профессия, 2011. – 804 с.

16. Becker, D.J. Fucose: biosynthesis and biological function in mammals / D.J. Becker, J.B. Lowe // Glycobiology. – 2003. – V. 13. – P. 41–53.

17. Cheftel, J.C. Review: high-pressure, microbial inactivation and food preservation / J.C. Cheftel // Food Science and Technology International. – 1995. – Vol. 1. – P. 75–90.

18. Elli, M. Survival of Yogurt Bacteria in the Human Gut / M. Elli, M. Luisa Callegari, S. Ferrari et al. // Applied and Environmental Microbiology. – 2006. – V. 72, № 7. – P. 5113–5117.

19. Hmelkov, A.B. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from brown alga *Fucus evanescens*. Structure and biological activity of the

*new fucoidan fractions / A.B. Hmelkov, T.N. Zvyagintseva, N.M. Shevchenko et al. // Journal of Applied Phycology. – 2018. – V. 30, Iss. 3. – P. 2039–2046.*

20. Intra, J. An  $\alpha$ -L-fucosidase potentially involved in fertilization is present on drosophila spermatozoa surface / J. Intra, F. Cenni, M.-E. Perotti // *Molecular reproduction and development.* – 2006. – V. 73. – P. 1149–1158.

21. Knorr, D. Applications and potential of ultrasonics in food processing / D. Knorr, M. Zenker at al. // *Trends in Food Science & Technology.* – 2004. – V. 15. – P. 261–266.

22. Maeda, H. Effects of an exopolysaccharide (kefiran) from *Lactobacillus kefiranofaciens* on blood glucose in KKАy mice and constipation in SD rats induced by lowfiber diet / H. Maeda, X. Zhu, T. Mitsuoka // *Bioscience and Microflora.* – 2004. – V. 23, № 4. – P. 149–153.

23. Patankar, M.S. A revised structure for Fucoidan may explain some of its biological activities

/ M.S. Patankar, S. Oehninger, T. Barnett et al. // *Journal of Biological Chemistry.* – 1993. – Vol. 268. – P. 770–776.

24. Qiukuan, W. Structural characterization and antitumor effects of fucoidans from brown algae *Kjellmaniella crassifolia* farmed in northern China / W. Qiukuan, H. Yunhai, R. Dandan at el. // *International Journal of Biological Macromolecules.* – 2018. – V. 119. – P. 125–133.

25. Rodrigues, K.L. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract / K.L. Rodrigues et al. // *International Journal of Antimicrobial Agents.* – 2005. – V. 25. – P. 404–408.

26. Shiomi, M. Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from kefir grain / M. Shiomi et al. // *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* – 1982. – V. 35, № 2. – P. 75–80.

27. Villamiel, M. Review: effect of ultrasound processing on the quality of dairy products / M. Villamiel, E.H. van Hamersveld, P. de Jong // *Milchwissenschaft.* – 1999. – V. 54. – P. 69–73.

**Потороко Ирина Юрьевна**, доктор технических наук, профессор кафедры «Пищевые и биотехнологии», Южно-Уральский государственный университет (г. Челябинск), [irina\\_potoroko@mail.ru](mailto:irina_potoroko@mail.ru)

**Ускова Дарья Геннадьевна**, магистрант кафедры «Пищевые и биотехнологии», Южно-Уральский государственный университет (г. Челябинск), [twins.23@mail.ru](mailto:twins.23@mail.ru)

**Паймулина Анастасия Валерияновна**, аспирант кафедры «Пищевые и биотехнологии», Южно-Уральский государственный университет (г. Челябинск), [aaaminaaa@mail.ru](mailto:aaaminaaa@mail.ru)

**Удей Багале**, Ph.D, кафедра химической инженерии, Национальный технологический институт (Варангал, шт. Телангана, Индия), [uday\\_bagale@yahoo.co.in](mailto:uday_bagale@yahoo.co.in)

Поступила в редакцию 20 декабря 2018 г.

DOI: 10.14529/food190107

## ULTRASOUND MICRONIZATION OF FUCOIDAN VEGETABLE INGREDIENT FOR THE USE IN FOOD PRODUCTION TECHNOLOGY

**I.Yu. Potoroko<sup>1</sup>, D. G. Uskova<sup>1</sup>, A.V. Paymulina<sup>1</sup>, Uday Bagale<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation

<sup>2</sup> National Institute of Technology, Warangal, Telangana State, India

The article considers the possibility of using the effects of ultrasound exposure to micronization of the fucoidan vegetable ingredient, obtained from algae of the Far Eastern ocean waters. Studying the effect of the micronization process of fucoidan sulfated heteropolysaccharide on the change in the dispersed state in solution and to accessibility for penetration into cellular systems became the aim of the work. Lactic acid bacteria and yeast cells were used as test systems. Volna device, model UZTA-0.4/22-OM (oscillation frequency  $(22 \pm 1.65)$  kHz, maximum power 600W/l), an acoustic source of elastic oscillations, was used for micronisation. Fucoidan possesses a broad spectrum of biological activity, antioxidant and antiviral properties, etc. Fucoidan has a different molecular weight, depending on the method of extraction, as a rule, 100 ~ 1.000 kDa are known. Taking into account that fucoidan is a heteropolysaccharide of complex structure, the size

of the powder particles upon its dissolution is on average  $(1.7 \pm 1.3) \mu\text{m}$ , what determines its low bioavailability for active components that play an important role in biochemical processes. To solve this problem, there was used the method of ultrasonic micronisation of fucoidan food ingredient in the mode of 240 W/l during three minutes, which allowed for the fine dispersion of particles. As a result of the ultrasonic action, the particle sizes go over to the nanoscale level and fit into the following parameters fractionally from  $(376 \pm 3.5) \text{ nm}$  to  $(1826 \pm 8.3) \text{ nm}$ . The data obtained indicate that fucoidan food ingredients favour the flow of physiological processes, budding cells are observed in the visual field. The process of micronization of fucoidan ensures the accumulation in cell cultures of reserve substances, glycogen, and volutin. Micronized fucoidan food ingredient allows to form a characteristic for yogurt microflora in a sufficiently high amount, including *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus* (up to  $5.4 \times 10^8$  CFU/g) and *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* (up to  $4.4 \times 10^7$  CFU/g). Thus, ultrasonic micronization increases the efficiency of biotechnological processes in food production.

**Keywords:** fucoidan, micronization, ultrasound, bioavailability, food ingredient.

### References

1. Bondarenko V.M., Gracheva N.M. [Probiotics, Prebiotics and Synbiotics in the Treatment and Prevention of Intestinal Dysbacteriosis]. *Farmateka* [Pharmateca], 2003, no. 7, pp. 56–63. (in Russ.)
2. Bykov A.T., Shaposhnikov A.V., Malyarenko T.N. [Intestinal Microbiota: Contribution to the Health, Development, and Prevention of Human Diseases]. *Meditinskii zhurnal* [Medical Journal], 2016, no. 4 (58), pp. 16–26. (in Russ.)
3. Gazha A.K. et al. *Biologicheski aktivnye dobavki k pishche (BAD) Primorskogo kraya (posobie dlya vrachey i farmatsevtov)* [Biologically Active Dietary Supplements of the Primorsky Territory (Manual for Doctors and Pharmacists)]. Vladivostok, 2006. 118 p.
4. Golovkova E.V., Medvedeva E.V., Kalenik T.K. [Primorsky Milk Drink, a Product of a New Generation]. *Tekhnicheskie nauki – ot teorii k praktike* [Technical Sciences - from Theory to Practice], 2013, no. 21, pp. 153–159. (in Russ.)
5. Drozd N.N., Bannikova G.E., Makarov V.A. [Anticoagulant Activity of Sulfated Polysaccharides]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* [Experimental and Clinical Pharmacology (Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya)], 2006, vol. 69, no. 6, pp. 51–60. (in Russ.)
6. Kokhan S.T., Pateyuk A.V., Mondodoev A.G. [Protective Effect of Astragal and Ginseng with Astragal dietary supplements during hypoxia and stress]. *Vestnik farmatsii* [Vestnik Farmatsii], 2012, no. 4 (58), pp. 59–63. (in Russ.)
7. Kochetkova A.A. [Functional Foods in a Healthy Eating Concept]. *Pishchevaya promyshlennost'* [Food Industry], 1999, no. 3, pp. 4–5. (in Russ.)
8. Kuznetsova T.A., Zaporozhets T.S., Besednova N.N. et al. [Investigation of the Prebiotic Potential of Biologically Active Substances from Marine Hydrobionts and the Development of New Functional Food Products]. *Vestnik Dal'nevostochnogo otdeleniya Rossiyskoy akademii nauk* [Vestnik of Far East Branch of the Russian Academy of Sciences], 2011, no. 2 (156), pp. 147–150. (in Russ.)
9. Kusaykin M.I., Burtseva Yu.V. et al. [Enzymes of *Littorina kurila* Marine Mollusk, Catalyzing the Transformation of Fucoidans]. *Biokhimiya* [Biochemistry], 2003, vol. 68, no. 3, pp. 384–392. (in Russ.)
10. Lobutskaya N.V. *Biotechnologicheskie aspekty proizvodstva kombinirovannykh napitkov s ispol'zovaniy karraginanov vodorosley rossiyskogo Tikhookeanskogo shel'fa* [Biotechnological Aspects of the Production of Combined Drinks with the Use of Carrageenans of Algae of the Russian Pacific shelf: Thesis of a Candidate of Sciences (Biology)]. Vladivostok, 2003. 215 p.
11. Potoroko I.Yu., Paymulina A.V., Uskova D.G. The Technology of Bread with Health-Promoting Properties Based on the Use of a Complex Herbal Supplement. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2016, vol. 4, no. 3, pp. 39–46. (in Russ.) DOI: 10.14529/food160305
12. Sinel'nikov B.M., Khramtsov A.G., Evdokimov I.A., Ryabtseva S.A., Serov A.V. *Laktoza i ee proizvodnye* [Lactose and its Derivatives]. St. Petersburg, Professiya Publ., 2007. 768 p.
13. Uskova D.G., Potoroko I.Yu., Popova N.V. The Formation of Improved Consumer Properties of Yoghurts Based on Ultrasonic Exposure and the Use of Fucoidan Polysaccharide. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2016, vol. 4, no. 3, pp. 80–88. (in Russ.) DOI: 10.14529/food160310
14. Usov A.I., Smirnova G.P., Klochkova N.G. [Polysaccharide Composition of Some Kamchatka Brown Algae]. *Bioorganicheskaya khimiya* [Russian Journal of Bioorganic Chemistry], 2001, vol. 27, no. 6, pp. 444–448. (in Russ.)

15. Khramtsov A.G. *Fenomen molochnoy syvorotki* [Milk Whey Phenomenon]. St. Petersburg, Professiya Publ., 2011. 804 p.
16. Becker D.J., Lowe J.B. Fucose: biosynthesis and biological function in mammals. *Glycobiology*, 2003, vol. 13, pp. 41–53. DOI: 10.1093/glycob/cwg054
17. Cheftel J.C. Review: high-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*, 1995, vol. 1, pp. 75–90. DOI: 10.1177/108201329500100203
18. Elli M., Callegari Luisa M., Ferrari S. et al. Survival of Yogurt Bacteria in the Human Gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, vol. 72, no. 7, pp. 5113–5117. DOI: 10.1128/AEM.02950-05
19. Hmelkov A.B., Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M. et al. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from brown alga *Fucus evanescens*. Structure and biological activity of the new fucoidan fractions. *Journal of Applied Phycology*, 2018, vol. 30, iss. 3, pp. 2039–2046. DOI: 10.1007/s10811-017-1342-9
20. Intra J., Cenni F., Perotti M.-E. An  $\alpha$ -L-fucosidase potentially involved in fertilization is present on drosophila spermatozoa surface. *Molecular reproduction and development*, 2006, vol. 73, pp. 1149–1158. DOI: 10.1002/mrd.20425
21. Knorr D., Zenker M. et al. Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology*, 2004, vol. 15, pp. 261–266. DOI: 10.1016/j.tifs.2003.12.001
22. Maeda H., Zhu X., Mitsuoka T. Effects of an exopolysaccharide (kefiran) from *Lactobacillus kefiranofaciens* on blood glucose in KKAY mice and constipation in SD rats induced by low fiber diet. *Bio-science and Microflora*, 2004, vol. 23, no. 4, pp. 149–153. DOI: 10.12938/bifidus.23.149
23. Patankar M.S., Oehninger S., Barnett T. et al. A revised structure for Fucoidan may explain some of its biological activities. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, vol. 268, pp. 770–776.
24. Qiukuan W., Yunhai H., Dandan R. et al. Structural characterization and antitumor effects of fucoidans from brown algae *Kjellmaniella crassifolia* farmed in northern China. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 119, pp. 125–133. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.126
25. Rodrigues K.L. et al. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2005, vol. 25, pp. 404–408. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2004.09.020
26. Shiomi M. et al. Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from kefir grain. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 1982, vol. 35, no. 2, pp. 75–80. DOI: 10.7883/yoken1952.35.75
27. Villamiel M., van Hamersveld E.H., de Jong P. Review: effect of ultrasound processing on the quality of dairy products. *Milchwissenschaft*, 1999, vol. 54, pp. 69–73.

**Irina Yu. Potoroko**, Doctor of Sciences (Engineering), Professor of the Department of Food Technology and Biotechnology, South Ural State University, Chelyabinsk, irina\_potoroko@mail.ru

**Dariya G. Uskova**, Master's Degree Student of the Department of Food Technology and Biotechnology, South Ural State University (Chelyabinsk), twins.23@mail.ru

**Anastasia V. Paymulina**, Postgraduate Student of the Department of Food Technology and Biotechnology, South Ural State University (Chelyabinsk), aaaminaaa@mail.ru

**Uday Bagale**, Doctor of Philosophy, Department of Chemical Engineering, National Institute of Technology (Warangal, Telangana State, India), uday\_bagale@yahoo.co.in

*Received December 20, 2018*

---

### ОБРАЗЕЦ ЦИТИРОВАНИЯ

Использование ультразвуковой микронизации растительного ингредиента фукоидана для применения в технологиях пищевых производств / И.Ю. Потороко, Д.Г. Ускова, А.В. Паймулина, Удей Багале // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2019. – Т. 7, № 1. – С. 58–70. DOI: 10.14529/food190107

### FOR CITATION

Potoroko I.Yu., Uskova D.G., Paymulina A.V., Uday Bagale. Ultrasound Micronization of Fucoidan Vegetable Ingredient for the Use in Food Production Technology. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2019, vol. 7, no. 1, pp. 58–70. (in Russ.) DOI: 10.14529/food190107