

Разработка методики и определение липидсвязывающей способности хитинсодержащих жиропоглотителей

Е.Э. Куприна – ФГУП «Гипрорыбфлот»

Е.В. Осипова, Е.В. Бачице – Государственный Технологический институт (С.-Петербург)

Известно, что изменение рациона питания человека, стрессовые нагрузки, заболевания обмена веществ способствуют развитию гиперлипидемий, которые, в свою очередь, провоцируют такие распространенные заболевания, как атеросклероз, гипертония, сахарный диабет и др.

Одним из наиболее перспективных путей борьбы с гиперлипидемиями является использование энтеросорбентов. В связи с этим на рынке БАД появилось очень много новых сорбентов, способных связывать и выводить липиды из организма. К их числу относятся хитинсодержащие сорбенты, получаемые из ракообразных и грибов электрохимическим (хизитэл) кислотнo-щелочным и ферментативным методами (хитан, олигохит, хитозан альга-плюс, микотон, силэн, каталитин и др.).

В связи с отсутствием общепринятой методики оценки качества и эффективности действия жиропоглотителей по их липидсвязывающей способности *in vitro* распространены фальсифицированная продукция или неэффективные БАД к пище, так как нет возможности их экспресс-контроля.

Сущность известных методик R.A.A. Muzzarelli, K. Sathirakul, J. Wadstein и др. сводится к следующему: порошок энтеросорбента (например, хитозана) добавляли в жирную кислоту или масло в заданном соотношении, далее приливали соляную кислоту, раствор перемешивали и инкубировали при 37° С в течение не менее 2 ч, после этого добавляли фосфатный буфер и перемешивали, центрифугировали, отделяли от осадка, высушивали супернатант при 50° С и взвешивали. Исходя из количества липидов в супернатанте, рассчитывали липидсвязывающую способность.

К недостаткам можно отнести то, что определение липидсвязывающей способности осуществляют по изменению концентрации липидов в супернатанте, а не по величине сорбции непосредственно энтеросорбентом; методики не предполагают перемешивания после добавления буфера; они не учитывают влияние кислотнo-основных и буферных свойств сорбента на величины *pH* суспензии, так как добавляется одинаковое фиксированное количество *HCl* и фосфатного буфера; в них не рассматривается сорбция различных классов липидов; качественный и количественный анализ липидов в супернатанте осложнен необходимостью проведения двукратной экстракции липидов эфиром, что вносит дополнительную погрешность.

Целью настоящей работы была разработка методики по оценке свойств хитинсодержащих (ХСМ) и других энтеросорбентов как жиропоглотителей *in vitro* в отношении триглицеридов и жирных кислот.

В результате анализа литературы и экспериментальных данных была разработана методика по определению липидсвязывающей способности жиропоглотителей, включающая следующие положения:

создание условий, имитирующих переваривание пищи в желудке *in vivo*. Для этого к навеске образца жиропоглотителя необходимо добавить раствор соляной кислоты (0,25М), взятой в том количестве, которое обеспечит создание *pH* = 2-4 с учетом кислотнo-основных и буферных свойств энтеросорбентов, которые могут существенно изменить *pH* суспензии. Следует предварительно осуществить оценку этих свойств, например, потенциометрическим титрованием, и внести коррективу в количество добавляемой кислоты. Затем к смеси жиропоглотителя и соляной кислоты добавить исследуемый липид (триглицерид или жирную кислоту в соотношении липид: соляная кислота 1:2). Полученную смесь инкубировать при температуре 37° С при постоянном перемешивании с частотой 32 об/мин. в течение 2 ч. Несмотря на то, что пища находится в желудке в течение 4-6 ч, время инкубации можно ограничить 2 ч, так как дальнейшее увеличение времени инкубации не оказывало влияния:

на конечный результат сорбции липидов;

создание условий, имитирующих переваривание пищи в кишечнике *in vivo*. Для этого провести нейтрализацию кислоты фосфатным буфером до *pH* = 6.5-7.0, а затем смесь инкубировать при температуре 37° С при постоянном перемешивании с частотой 200 об/мин. в течение 3 ч;

на уменьшение погрешности определения величины липидсвязывающей способности следует вести расчет по количеству липидов, сорбированных жиропоглотителем, а не в супернатанте. Для этого суспензию необходимо центрифугировать при 6000 об/мин. в течение 40 мин. Супернатант слить и осадок высушить до постоянного веса при 50° С в течение 1 сут. и взвесить.

Расчет следует вести по формуле определения величины липидсвязывающей способности энтеросорбентов к жирным кислотам и триглицеридам:

$$E_L = (m_1 - m_0)/m_0,$$

где E_L – величина липидсвязывающей способности, г/г;

m_0 – масса навески сухого материала, г;

m_1 – масса осадка после центрифугирования и высушивания, г.

За окончательный результат следует принимать среднее арифметическое трех параллельных определений, относительное расхождение между которыми не должно превышать 5 % при доверительной вероятности 0,95.

В соответствии с разработанной методикой были определены липидсвязывающие свойства хитинсодержащих энтеросорбентов-жиропоглотителей в отношении триглицеридов и жирных кислот в сравнении с энтеросорбентами на основе целлюлозы и лигнина, представленные в таблице.

Исследование липидсвязывающей способности энтеросорбентов

Наименование образца	Липидсвязывающая способность, г/г					
	По триглицеридам (льняное масло)			По жирным кислотам (линоленовая кислота)		
	<i>pH</i> = 2	<i>pH</i> = 4	<i>pH</i> = 6-7	<i>pH</i> = 2	<i>pH</i> = 4	<i>pH</i> = 6-7
Хизитэл № 4	7,67±0,08	4,70±0,05	4,68±0,09	4,46±0,09	3,58±0,07	3,27±0,07
Хитан	3,50±0,10	3,41±0,10	3,26±0,10	2,20±0,09	4,44±0,13	7,22±0,14
МКЦ	0,57±0,01	-	-	1,81±0,09	-	-
Полифепам	3,93±0,05	-	2,20±0,64	2,08±0,04	-	-
Хитин	-	-	-	-	-	1,64±0,03

Из данных таблицы следует, что липидсвязывающая способность хизитэла, полученного электрохимическим способом, превышает липидсвязывающую способность представленных выше энтеросорбентов, особенно при *pH* = 2. Хитан показал себя жиропоглотителем, действие которого направлено на сорбцию жирных кислот в условиях кишечника, так как его липидсвязывающая способность по жирным кислотам составляет 7,22 г/г, а по триглицеридам – 3,26 г/г. МКЦ, хитин, полифепам показали низкую способность к сорбции как триглицеридов, так и жирных кислот.

Выводы

Разработана методика оценки липидсвязывающей способности жиропоглотителей *in vitro*, учитывающая особенности переваривания пищи в ЖКТ и кислотнo-основные свойства самих сорбентов.

С использованием этой методики определены сорбционные свойства некоторых пищевых волокон; по экспериментальным данным установлено, что у хизитэла сорбционная емкость по отношению к триглицеридам в условиях, наиболее приближенных к условиям переваривания пищи в организме человека, составляет 7,67 г/г (при *pH* = 2) и 4,68 г/г (при *pH* = 6), по отношению к жирным кислотам – 4,46 г/г при *pH* = 2 и 3,27 г/г при *pH* = 6. Хитан показал высокую сорбционную способность в отношении жирных кислот при *pH* = 6, которая составила 7,22 г/г.

Установлено, что не все из исследованных и имеющихся на рынке энтеросорбентов-жиропоглотителей, относящихся к группе пищевых волокон, обеспечивают удовлетворительный уровень сорбции липидов в диапазоне *pH*, соответствующем условиям переваривания в ЖКТ.