

ЛИТЕРАТУРА

1. Нехвядович, А. И. Динамика гематологических показателей как критерий функционального состояния и тренированности спортсменов / А. И. Нехвядович, А. Н. Будко // Прикладная спортивная наука. – 2018. – № 1 (7). – С. 105–111.
2. Загородный, Г. М. Медикоментозная коррекция и профилактика иммунодефицитов у спортсменов / Г. М. Загородный, Е. А. Гаврилова // Рецепт. – 2011. – № 4. – С. 107–131.
3. Шведова, Н. В. Использование гемоглибиновой массы для оценки подготовленности спортсменов / Н. В. Шведова, Л. С. Сосна, Н. В. Шераш // Прикладная спортивная наука. – 2018. – № 2 (8). – С. 84–90.
4. Нехвядович, А. И. Гематологический контроль в спорте: методические рекомендации / А. И. Нехвядович. – Минск: НИИ физической культуры и спорта Республики Беларусь, 2000. – 40 с.
5. Анисимов, Е. А. Особенности биохимических показателей крови у высококвалифицированных спортсменов / Е. А. Анисимов [и др.] // Медицина экстремальных ситуаций. – 2017. – № 3 (61). – С. 160–167.
6. Kratz, A. Effect of Marathon Running on Hematologic and Biochemical Laboratory Parameters, Including Cardiac Markers / A. Kratz [et al.] // Clinical Chemistry. – 2002. – № 18. – P. 856–863.
7. Palacios, G. Biomarkers of physical activity and exercise / G. Palacios, R. Pedrero-Chamizo, N. Palacios et al. // Nutricion Hospitalaria. – 2015. – 31. – P. 237–244.
8. Meeusen, R. Prevention, Diagnosis, and Treatment of the Overtraining Syndrome: Joint Consensus Statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine / R. Meeusen [et al.] // Journal of the American College of Sports Medicine. – 2012. – № 13. – P. 186–205.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ МОЛОЧНЫХ СМЕСЕЙ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DAIRY MIXTURES FOR CHILD NUTRITION

М. А. Юшкевич, Е. И. Тарун
M. Yushkevich, E. Tarun

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
ktarun@tut.by
Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus*

Проведено сравнительное изучение антиоксидантной активности молочных смесей для детского питания. Получены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина от логарифма концентрации молочных смесей, из которых графически определены показатели IC_{50} . Наблюдается подавление действия свободных радикалов и возрастание флуоресценции флуоресцеина до 78–96 % при концентрации образцов 0,5 мг/мл. Максимальная антиоксидантная активность (АОА) получена для молочной смеси «NAN Optipro 1+», показатель IC_{50} которой составляет $0,58 \cdot 10^{-2}$ мг(белка)/мл. Минимальные показатели IC_{50} в расчете на сухое вещество ($5,89-6,03 \cdot 10^{-2}$ мг/мл) получены для молочных смесей «NAN Optipro HA 1+», «NAN Optipro 1+» и «ГА гипоаллергенная 3+».

The comparative study of the antioxidant activity of dairy mixtures for child nutrition. Fluorescein fluorescence intensity dependencies are obtained on the logarithm of the concentration of infant formula, from which IC_{50} values are graphically determined. A suppression of the action of free radicals and an increase in fluorescence of fluorescein up to 78–96 % with a concentration of samples of 0,5 mg / ml are observed. The maximum antioxidant activity (AOA) was obtained for the “NAN Optipro 1+” milk formula, with an IC_{50} of $0,58 \cdot 10^{-2}$ mg (protein)/ ml. The minimum IC_{50} based on dry matter ($5,89-6,03 \cdot 10^{-2}$ mg / ml) was obtained for the milk mixtures “NAN Optipro HA 1+”, “NAN Optipro 1+” and “HA hypoallergenic 3+”.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, молочные смеси для детского питания, флуоресцеин.

Keywords: antioxidant activity, dairy mixtures for child nutrition, fluorescein.

Молоко является уникальным продуктом, обеспечивающим организм разнообразием необходимых питательных веществ и обладающим антиокислительными свойствами. Ферментативный гидролиз белкового компонента молока направлен на получение продуктов с низким аллергенным потенциалом и высокой питательной ценностью [1; 2]. При изучении механизмов проявления антиоксидантной активности (АОА) молока установлена зависимость ее уровня от конформации и аминокислотной последовательности белков и пептидов. Проведено сравнительное исследование антиоксидантной активности 8 молочных смесей для детского питания разных про-

изводителей: «ГА гипоаллергенная 1+», «ГА гипоаллергенная 2+», «ГА гипоаллергенная 3+», «Иммунис 1+», «Комфорт», «Антирефлюксная» фирмы «Беллакт» (Беларусь), «NAN Optipro HA 1+» (гипоаллергенная), «NAN Optipro 1+» фирмы «Nestle» (Швейцария). Смеси «ГА гипоаллергенная 1+», «ГА гипоаллергенная 2+», «ГА гипоаллергенная 3+», «Комфорт» и «NAN Optipro HA 1+» (гипоаллергенная) содержали частично гидролизованный сывороточный белок молока. Смеси «Иммунис 1+», «Антирефлюксная» и «NAN Optipro 1+» содержали негидролизованный белок молока с преобладанием белков молочной сыворотки.

Метод определения АОА по отношению к активированным формам кислорода (АФК) основан на измерении интенсивности флуоресценции окисляемого соединения и ее уменьшении под воздействием АФК. В настоящей работе для детектирования свободных радикалов использован флуоресцеин, обладающий высоким коэффициентом экстинкции и близким к 1 квантовым выходом флуоресценции. Генерирование свободных радикалов осуществляли, используя систему Фентона, в которой образуются гидроксильные радикалы при взаимодействии комплекса железа (Fe^{2+}) с этилендиаминтетрауксусной кислотой (EDTA) и пероксида водорода [3–5]. При взаимодействии флуоресцеина со свободными радикалами происходит тушение его флуоресценции, восстановить которую можно при добавлении в систему веществ, проявляющих антиоксидантные свойства.

Приготовление раствора молочных смесей. Взвешивали 0,2 г сухого порошка молочной смеси, добавляли 2 мл дистиллированной воды, нагретой до 50°C и перемешивали. Получали раствор молочной смеси с концентрацией 100 мг/мл. Из полученного раствора готовили ряд разведений молочной смеси, соответствующий концентрациям: 0,1–10 мг/мл. Концентрации в пробе уменьшались в 10 раз и составляли: 0,01–1 мг/мл

Методика определения антиоксидантной активности молочных смесей. Общий объем пробы, помещаемый в кювету составлял 2 мл. В кювету вносили 0,02 мл флуоресцеина (10^{-6} М) и 1,98 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера. Прописывали спектр. Полученные значения пика флуоресценции принимали за 100 %.

В кювету вносили 0,02 мл флуоресцеина (10^{-6} М), 0,2 мл Fe^{2+} с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) (10^{-3} М), 1,58 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера и 0,2 мл пероксида водорода (10^{-2} М). При взаимодействии Fe^{2+} с H_2O_2 (реакция Фентона) образующиеся радикалы подавляли свечение флуоресцеина. Полученные значения пика флуоресценции принимали за минимальное.

В кювету вносили 0,02 мл флуоресцеина (10^{-6} М), 0,2 мл Fe^{2+} с ЭДТА (10^{-3} М), 0,2 мл раствора молочной смеси (0,1–10 мг/мл) и 1,38 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера. Реакцию начинали добавлением 0,2 мл пероксида водорода (10^{-2} М).

Конечные концентрации: флуоресцеин – 10^{-8} М, Fe^{2+} – 10^{-4} М, ЭДТА – 10^{-4} М, H_2O_2 – 10^{-3} М, раствор молочной смеси – 0,01–1 мг/мл.

Измерения флуоресценции проводили на флуориметре RF-5301 PC («Shimadzu», Япония). Регистрировали интенсивность флуоресценции на длине волны 514 нм. Длина волны возбуждения – 490 нм.

Для всех образцов получены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина от логарифма концентрации молочных смесей. Исследования проведены в широком диапазоне концентраций 0,01–1 мг/мл. Образцы молочных смесей начинали проявлять АОА при концентрации 0,01 мг/мл. При последующем увеличении концентрации молочных смесей наблюдается увеличение подавления действия свободных радикалов и возрастание флуоресценции флуоресцеина до 78–96 % при концентрации образцов 0,5 мг/мл (табл. 1). Графически определены показатели IC_{50} – концентрация молочных смесей, при которой достигается 50 % ингибирования свободных радикалов. Известно, что антиоксидантная активность белков молока обусловлена восстанавливающими свойствами аминокислотных радикалов триптофана, тирозина, метионина и гистидина [1]. В связи с этим расчет IC_{50} для молочных смесей осуществляли как на содержание сухого вещества, так и количество белковой фракции (табл. 1) с учетом процентного содержания белка в сухих молочных смесях (табл. 2).

Максимальная АОА получена для молочной смеси «NAN Optipro 1+». Подавление свободных радикалов достигается до 95 %. Показатель IC_{50} составляет $0,58 \cdot 10^{-2}$ мг/мл. Образец молочной смеси «NAN Optipro HA 1+» подавлял действие свободных радикалов на 82 %, тогда как его показатель IC_{50} ($0,57 \cdot 10^{-2}$ мг/мл) несколько ниже аналогичного показателя для молочной смеси «NAN Optipro 1+».

Гипоаллергенные смеси «ГА гипоаллергенная 3+» и «ГА гипоаллергенная 2+» восстанавливали флуоресценцию флуоресцеина на 96 %. Показатель IC_{50} , полученный для молочной смеси «ГА гипоаллергенная 2+» ($0,83 \cdot 10^{-2}$ мг/мл) в 1,1 раза ниже аналогичного показателя для молочной смеси «ГА гипоаллергенная 3+» ($0,94 \cdot 10^{-2}$ мг/мл). Наиболее низкую АОА из гипоаллергенных смесей показал образец «ГА гипоаллергенная 1+». Он восстанавливал флуоресценцию флуоресцеина на 81 %, что сравнимо с образцом молочной смеси «NAN Optipro HA 1+». Показатель IC_{50} , полученный для молочной смеси «ГА гипоаллергенная 1+» ($1,09 \cdot 10^{-2}$ мг/мл) в 1,9; 1,3 и 1,2 раз выше, чем аналогичные показатели для молочных смесей «NAN Optipro HA 1+», «ГА гипоаллергенная 2+» и «ГА гипоаллергенная 3+» соответственно.

Молочная смесь «Антирефлюксная» восстанавливала флуоресценцию флуоресцеина на 93 %, что сравнимо с образцами молочных смесей «NAN Optipro 1+», «ГА гипоаллергенная 3+» и «ГА гипоаллергенная 2+». Показатель IC_{50} ($0,85 \cdot 10^{-2}$ мг/мл) сравним с аналогичным показателем для молочной смеси «ГА гипоаллергенная 2+» и в 1,5 раза выше показателя IC_{50} для молочной смеси «NAN Optipro 1+».

Образцы молочных смесей «Комфорт» и «Иммунис 1+» подавляли действие свободных радикалов до 78 %, что в 1,2 раза ниже аналогичных показателей для молочных смесей «NAN Optipro 1+», «ГА гипоаллергенная 3+» и «ГА гипоаллергенная 2+». Показатель IC_{50} молочной смеси «Комфорт» ($1,17 \cdot 10^{-2}$ мг/мл) сравним с анало-

гичным показателем для молочной смеси «ГА гипоаллергенная 1+». Максимальный показатель IC_{50} получен для молочной смеси «Иммунис 1+» ($1,6 \cdot 10^{-2}$ мг/мл). Он в 1,4 и 2,8 раза превышает показатели IC_{50} молочной смеси «Комфорт» и «NAN Optipro 1+» соответственно. Это свидетельствует о самой низкой АОА образца молочной смеси «Иммунис 1+».

Молочные смеси «NAN Optipro HA 1+», «ГА гипоаллергенная 1+», «ГА гипоаллергенная 2+», «ГА гипоаллергенная 1+» и «Комфорт» содержат частично гидролизованный сывороточный белок, тогда как молочные смеси «NAN Optipro 1+», «Антирефлюксная» и «Иммунис 1+» - негидролизованные сывороточные белки. Гидролиз сывороточных белков, а также степень гидролиза оказывают положительное влияние на повышение АОА белков молока [4,5]. Однако, молочная смесь «NAN Optipro 1+», не содержащая гидролизованный белок, показывает более высокую АОА по сравнению с молочной смесью «NAN Optipro HA 1+». Молочная смесь «Антирефлюксная», также не содержащая гидролизованный белок, имеет более высокую АОА, чем молочные смеси «ГА гипоаллергенная 3+», «ГА гипоаллергенная 1+» и «Комфорт».

Таблица 1 – Показатели антиоксидантной активности молочных смесей

Молочные смеси	A_{max} , %	C_{max} , мг(сухого вещества)/мл	$IC_{50} \cdot 10^{-2}$, мг(сухого вещества)/мл	$IC_{50} \cdot 10^{-2}$, мг(белка)/мл
«NAN Optipro HA 1+»	82	0,5	5,89	0,57
«NAN Optipro 1+»	95	0,5	6,03	0,58
«ГА гипоаллергенная 3+»	96	0,5	6,03	0,94
«ГА гипоаллергенная 2+»	96	0,5	7,08	0,83
«ГА гипоаллергенная 1+»	81	0,5	10	1,09
«Антирефлюксная»	93	0,5	7,76	0,85
«Комфорт»	78	0,5	10	1,17
«Иммунис 1+»	78	0,5	14,7	1,6

Таблица 2 – Содержание белка в молочных смесях

Молочные смеси	Содержание белка, г/100 г сухой смеси
«NAN Optipro HA 1+»	9,72
«NAN Optipro 1+»	9,6
«ГА гипоаллергенная 3+»	15,5
«ГА гипоаллергенная 2+»	11,7
«ГА гипоаллергенная 1+»	10,9
«Антирефлюксная»	10,9
«Комфорт»	11,7
«Иммунис 1+»	10,9

Молочные смеси имеют достаточно сложный набор компонентов. В частности, в их состав входят смесь ненасыщенных жирных кислот, углеводы (сахара лактоза и мальтодекстрин), микроэлементы (цинк, железо, медь, селен) и витамины (А, Е и С), способные оказать влияние на антиоксидантную активность. Каждая из молочных смесей имеет различия в содержании по нескольким из перечисленных компонентов, что усложняет анализ их влияния на АОА.

Максимальное количество сахаров (58–59 %) содержится в молочных смесях «NAN Optipro HA 1+», «NAN Optipro 1+», «ГА гипоаллергенная 3+» и «Антирефлюксная» (табл. 3).

Максимальное количество линолевой кислоты содержится в молочных смесях «Иммунис 1+» (4,55 %), «NAN Optipro HA 1+» и «NAN Optipro 1+» (4,1 %) (табл. 3).

Таблица 3 – Содержание углеводов и линолевой кислоты в молочных смесях

Молочные смеси	Содержание углеводов, г/100 г сухой смеси	Содержание линолевой кислоты, г/100 г сухой смеси
«NAN Optipro HA 1+»	59,35	4,1
«NAN Optipro 1+»	57,8	4,1
«ГА гипоаллергенная 3+»	58,2	3,5
«ГА гипоаллергенная 2+»	54,3	3,36
«ГА гипоаллергенная 1+»	53	3,8
«Антирефлюксная»	58,1	3,8
«Комфорт»	51,3	3,8
«Иммунис 1+»	51,6	4,55

Содержание витамина А в молочных смесях фирмы «Беллакт» выше, чем в смесях «Nestle» (табл. 4). Содержание витамина Е выше в молочных смесях фирмы «Nestle». Максимальное количество витамина С содержится в молочных смесях «ГА гипоаллергенная 3+» (0,0907 %) и «NAN Optipro 1+» (0,087 %).

Таблица 4 – Содержание витаминов А, Е и С в молочных смесях

Молочные смеси	Витамин А, мкг/100 г сухой смеси	Витамин Е, мг/100 г сухой смеси	Витамин С, мг/100 г сухой смеси
«NAN Optipro HA 1+»	510	8,7	78
«NAN Optipro 1+»	527	8,5	87
«ГА гипоаллергенная 3+»	547	7,1	90,7
«ГА гипоаллергенная 2+»	547	7,03	78
«ГА гипоаллергенная 1+»	547	6,25	78
«Антирефлюксная»	547	6,25	78
«Комфорт»	547	6,25	78
«Иммунис 1+»	547	6,25	78

Максимальное количество цинка ($5-5,5 \times 10^{-3}$ %) содержится в молочных смесях «ГА гипоаллергенная 2+», «ГА гипоаллергенная 3+», «NAN Optipro HA 1+» и «NAN Optipro 1+» (таблица 5).

Максимальное количество железа (0,01 %) содержится в молочных смесях «ГА гипоаллергенная 2+», «ГА гипоаллергенная 3+».

Максимальное количество меди ($0,54 \times 10^{-3}$ %) содержится в молочных смесях «ГА гипоаллергенная 2+», «ГА гипоаллергенная 3+».

Максимальное количество селена ($19,5 \times 10^{-6}$ %) содержится в молочных смесях фирмы «Беллакт».

Таблица 5 – Содержание микроэлементов в молочных смесях

Молочные смеси	Цинк (Zn), мг/100 г сухой смеси	Железо (Fe), мг/100 г сухой смеси	Медь (Cu), мкг/100 г сухой смеси	Селен (Se), мкг/100 г сухой смеси
«NAN Optipro HA 1+»	5	5,3	400	16
«NAN Optipro 1+»	5,4	4,6	400	11
«ГА гипоаллергенная 3+»	5,43	10	542,6	–
«ГА гипоаллергенная 2+»	5,5	10,85	547	19,5
«ГА гипоаллергенная 1+»	3,12	6,25	312	19,5
«Антирефлюксная»	3,12	6,25	312	19,5
«Комфорт»	3,12	6,25	312	19,5
«Иммунис 1+»	3,12	6,25	312	19,5

Минимальный показатель IC_{50} в расчете на сухое вещество получен для молочных смесей «NAN Optipro HA 1+», «NAN Optipro 1+» и «ГА гипоаллергенная 3+». Эти смеси содержат более высокое количество углеводов и витаминов Е и С по сравнению с другими молочными смесями, что, возможно, оказывает влияние на повышение их антиоксидантной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zulueta, A. Antioxidant capacity of cow milk, whey and deproteinized milk / A. Zulueta [et al.] // Int. Dairy J. 2009. – Vol. 19. – № 6–7. – P. 380–185.
2. Halavach, T. M. Enzymatic hydrolysis of milk proteins as a basis of specialized food products biotechnology / T. M. Halavach, V. P. Kurchenko, A. I. Albulov // Nauka i studia. – 2016. – Vol. 3. – P. 1196–1207.
3. Cao, G. H. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants / G. H. Cao, H. M Alessio, R. G. Cutler // Free Radic. Biol. Med. – 1993. – Vol. 3. – № 14. – P. 303–311.
4. Тарун, Е. И. Ингибирование свободных радикалов, генерируемых в системе Фентона, под действием флавоноидов / Е. И. Тарун, Е. В. Чудновская // Труды БГУ. – 2014. – Т. 9. – Ч. 1. – С. 114–121.
5. Тарун, Е. И. Влияние пептидов сывороточных белков молока на восстановление уровня флуоресценции в системе с активированными формами кислорода / Е. И. Тарун, М. В. Зайцева, О. И. Кравцова, В. П. Курченко, Т. Н. Головач // Труды БГУ. – 2016. – Т. 11. – Ч. 1. – С. 231–236.