BY-NC-SA

УДК: 612.323: 612.822.2
https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-217-9-56-67

Концепция ферментативной дезинтеграции питательных веществ в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта

Алейник В. А., Бабич С. М.
Андижанский государственный медицинский институт (АГМИ), (ул. Атабекова, д. 1, г. Андижан, 170127, Узбекистан)

Для цитирования: Алейник В. А., Бабич С. М. Концепция ферментативной дезинтеграции питательных веществ в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023;217(9): 56–67. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-217-9-56-67

✉ *Для переписки:*
Бабич Светлана Михайловна
bsm959@mail.ru

Алейник Владимир Алексеевич, д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии
Бабич Светлана Михайловна, к.м.н., доцент, заведующая кафедрой социальной гигиены и управления здравоохранением

Резюме

Целью исследования было изучить влияние слюнной амилазы на улучшение желудочного переваривания белков, а также влияние желудочного гидролиза белков на улучшение переваривания жиров.

Работа состояла из двух частей, в первой части в двух сериях исследовали гидролиз белков под влиянием желудочного сока в присутствии крахмала и влияние амилазы слюны на изменение ОПА желудочного сока при использовании субстратов смеси крахмала с белками. Во второй части работы исследовали липолитическую активность поджелудочного сока с исследуемыми белками в присутствии и отсутствии желчи.

Из полученных данных установлено, что применение смеси крахмала с белками способствует снижению гидролиза белков желудочным соком. Применение слюнной амилазы содействует увеличению гидролиза белков за счет снижения образования крахмально-белковых комплексов, препятствующих перевариванию белков желудочным соком.

Все исследованные белки, кроме желатины, обладают ингибирующим действием на липазу в составе панкреатического сока, степень ингибирующего действия у каждого белка выражена неодинаково. Она зависит от степени переваривания их желудочным соком. Таким образом, предварительный гидролиз белков пепсинами в желудке способствует не только дальнейшему улучшению гидролиза их под влиянием протеолитических ферментов поджелудочного сока, но также и гидролизу жиров под влиянием панкреатической липазы.

Сделано заключение, что последовательность расщепления питательных веществ ферментами слюны, желудка и поджелудочной железы в первую очередь направлена на ферментативную дезинтеграцию между полисахаридами и белками, а также белками и жирами, чтобы снизить их взаимодействие и образование физических комплексов. Тем самым, во вторую очередь, улучшить перевариваемость питательных веществ в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта. Концептуальное предположение ферментативной дезинтеграции питательных веществ в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта позволяет обосновать существующую последовательность начального переваривания полисахаридов слюной, а также начальное переваривание белков желудочным соком.

Ключевые слова: слюна, желудочный сок, поджелудочный сок, амилолитическая активность, протеолитическая активность, липолитическая активность, жиры, белки, полисахариды, жирные кислоты

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

BY-NC-SA

https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-217-9-56-67

The concept of enzymatic disintegration of nutrients in the upper gastrointestinal tract

V. A. Aleynik, S. M. Babich
Andijan State Medical Institute (ASMI), (1, Atabekov st. Andijan, 170127, Uzbekistan)

For citation: Aleynik V. A., Babich S. M. The concept of enzymatic disintegration of nutrients in the upper gastrointestinal tract. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2023;217(9): 56–67. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-217-9-56-67

✉ *Corresponding author:*
Svetlana M. Babich
bsm959@mail.ru

Vladimir A. Aleynik, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Normal Physiology
Svetlana M. Babich, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Social Hygiene and Health Management

Summary

The aim of the study was to study the effect of salivary amylase on improving gastric protein digestion, as well as the effect of gastric protein hydrolysis on improving fat digestion.

The work consisted of two parts, in the first part, in two series, the hydrolysis of proteins under the influence of gastric juice in the presence of starch and the effect of saliva amylase on the change in the total proteolytic activity of gastric juice when using substrates of a mixture of starch and proteins were investigated. In the second part of the work, the lipolytic activity of pancreatic juice with the studied proteins was studied in the presence and absence of bile.

From the data obtained, it was found that the use of a mixture of starch with proteins helps to reduce the hydrolysis of proteins by gastric juice. The use of salivary amylase promotes an increase in protein hydrolysis by reducing the formation of starch-protein complexes that prevent the digestion of proteins by gastric juice.

All the studied proteins, except gelatin, have an inhibitory effect on lipase in the pancreatic juice; the degree of inhibitory effect of each protein is expressed differently. It depends on their degree of digestion in gastric juice. Thus, the preliminary hydrolysis of proteins by pepsins in the stomach contributes not only to the further improvement of their hydrolysis under the influence of proteolytic enzymes of pancreatic juice, but also to the hydrolysis of fats under the influence of pancreatic lipase.

It is concluded that the sequence of nutrient breakdown by enzymes of saliva, stomach and pancreas is primarily aimed at enzymatic disintegration between polysaccharides and proteins, as well as proteins and fats, in order to reduce their interaction and the formation of physical complexes. Thus, secondarily, improve the digestibility of nutrients in the upper gastrointestinal tract. The conceptual assumption of enzymatic disintegration of nutrients in the upper gastrointestinal tract allows us to substantiate the existing sequence of initial digestion of polysaccharides by saliva, as well as the initial digestion of proteins by gastric juice.

Keywords: saliva, gastric juice, pancreatic juice, amylolytic activity, proteolytic activity, lipolytic activity, fats, proteins, polysaccharides, fatty acids

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Актуальность проблемы заключается в том, что к настоящему времени остается неясным вопрос, почему существует такая последовательность ферментативного расщепления питательных веществ: слюной в ротовой полости полисахаридов, далее белков в желудке и в дальнейшем расщепление жиров, а также дополнительно полисахаридов и белков в двенадцатиперстной кишке и в верхнем отделе тонкого кишечника?

Одним из факторов, демонстрирующих роль слюнной амилазы, может являться влияние на перевариваемость белков желудочным соком, взаимодействие полисахаридов и белков. Так как полисахариды за счет электростатической силы могут образовывать различные типы физических комплексов с белками в зависимости от pH, ионной силы и распределения заряда биополимера [1; 2; 3]. Установлена зависимость степени взаимодействия

между полисахаридом и белком от молекулярной массы полисахарида. Чем больше молекулярная масса полисахарида, тем выше взаимосвязь, а при меньшей массе – ниже взаимосвязь [4].

Многие из белков глютена в хлебе могут быть очень устойчивы к перевариванию, оставаясь и после 120 минут искусственного пищеварения в желудке, даже когда использовалась высокая концентрация пепсина [2]. При потреблении хлеба медленно переваривается белок, потому что он плохо доступен для пепсина. Однако скорость расщепления белка в хлебе увеличивается в присутствии слюнной амилазы, что вероятно, является результатом увеличения доступности белков в результате разрушения молекул крахмала [3].

Амилаза слюны представляет собой небольшую часть общей амилазы неясно, почему она существует, и дает ли она эволюционное преимущество при приеме пищи внутрь [5].

При попадании пищи в желудок, слюнные ферменты продолжают процесс пищеварения до тех пор, пока секреция желудочной кислоты не достигнет pH ниже 3,0, что является пределом активности этих ферментов. До того, как пища поступает в желудок, pH обычно составляет от 5,0 до 6,0. У молодых и здоровых взрослых требуется около 45 минут, прежде чем образуется достаточное количество кислоты для снижения pH до 3,0 [6].

В начале 20 века Olaf Bergame обнаружил, что в среднем 59–76% потребляемых углеводов переваривается в течение 15–30 минут после еды. Он пришел к выводу, что слюна может вызвать очень значительное усвоение крахмала, если пища разжевана правильно [7].

Другим фактором, демонстрирующим роль слюнной амилазы, может являться то, что амилоза, входящая в состав крахмала может взаимодействовать со свободными жирными кислотами и образовывать комплексы, препятствующие гидролизу крахмала амилазой. Так показано, что кукурузное масло и свободные жирные кислоты снижают ферментативный гидролиз крахмала. Доказано, что кукурузное масло, как и другие липиды, образует спиральные комплексы с амилозой. [8].

Изучена чувствительность амилозо-липидных комплексов к ферментам, разлагающим крахмал, была показана обратная зависимость между скоростью и степенью гидролиза амилозо-липидных комплексов и степенью организации спиралей в более крупные домены упорядоченных цепей. Степень организации амилозо-липидных комплексов также была обратно пропорциональна длине, как жирных кислот, так и цепей амилозы [9; 10; 11].

Показано снижение гидролиза на 35%, когда лауриновая, миристиновая, пальмитиновая и олеиновая кислоты образовывали комплексы с амилозой [12; 13]. Также выявлено снижение усвояемости картофельного крахмала *in vitro* в комплексе с жирными кислотами.

В тоже время гидролиз амилопектина не ингибируется жирными кислотами, что согласуется с тем, что жирные кислоты плохо связываются с амилопектином. [14].

Помимо этого, крахмал, белки и жирные кислоты обладают способностью к физико-химическому взаимодействию между собой, и образовывают тройные комплексы [15; 16]. Проведенные исследования показали, что жирные кислоты, а не их сложные эфиры глицерина, могут образовывать комплексы крахмал-липид-белок [17].

Бинарные комплексы крахмала с липидами и тройные комплексы с белками и липидами повышают устойчивость in vitro к ферментативному расщеплению крахмала [18; 19; 20].

Остается не понятной эволюционная необходимость гидролиза белков пепсином в желудке и дальнейшее переваривание их панкреатическими протеазами в двенадцатиперстной кишке, а также возможность влияния белков на переваривание жиров.

Многие белки являются поверхностно активными соединениями на границе вода/жир, и ингибируют липазу поджелудочной железы. Это ингибирование может быть результатом конкурентной адсорбции белков и десорбции белками липазы с поверхности жировых капель. Ингибирование липазы связано со способностью белков взаимодействовать с липидами и изменять качество раздела вода/жир, оно не вызвано прямым взаимодействием белка с ферментом [21; 22; 23].

После гидролиза пепсинами белков в желудке и образовании из них полипептидов со значительно меньшей молекулярной массой, снижается возможность к конкурентной адсорбции на границе вода/жир и способность к ингибированию панкреатической липазы.

Ингибирование активности липазы белками это общее явление, которое проявляется в отсутствии колипазы и солей желчных кислот [21]. Белки с большой молекулярной массой, на границе вода/жир обладают более выраженной склонностью к адсорбции, чем белки с меньшей молекулярной массой. После гидролиза пепсинами белков в желудке и образовании из них полипептидов со значительно меньшей молекулярной массой, теряется возможность к адсорбции на границе вода/жир и способность к ингибированию панкреатической липазы [24].

Также белки могут адсорбировать соли желчных кислот, а переваривание белков пепсином уменьшает связывающую способность их с солями желчных кислот по сравнению с непереваренными образцами [22]. Однако гидролизаты некоторых белков имеют более высокую связывающую способность с солями желчных кислот, чем сам белок [24; 25].

Цель исследования: изучить влияние слюнной амилазы на улучшение желудочного переваривания белков, а также влияние желудочного гидролиза белков на улучшение переваривания жиров.

Материал и методы

В первой части работы были использованы желудочный сок и слюна, полученные у студентов-добровольцев натощак. Забор желудочного сока проводили методом зондирования желудка, сбор слюны при помощи капсулы Лешли-Красногорского.

В первой серии in vitro проводилось изучение изменения влияния взаимодействия крахмала и белков казеина, яичного альбумина (альбумина) и гемоглобина на гидролиз этих белков под влиянием желудочного сока. Исследовалась общая протеолитическая активность (ОПА) желудочного сока [26] с использованием в качестве субстрата каждого из белков после предварительной 30 минутной инкубации их совместно с крахмалом. Применялось различное соотношение белка и крахмала: 1 часть крахмала и 5 частей белка, 1 часть крахмала и 1 часть белка, 5 частей крахмала и 1 часть белка. ОПА исследовалась после 30 и 60 минутного воздействия желудочного сока на смесь крахмала и исследуемого белка.

Во второй серии *in vitro* изучалось влияние амилазы слюны на изменение ОПА желудочного сока при использовании субстратов смеси крахмала+казеина, крахмала+альбумина и крахмала+гемоглобина, при 30 и 60 мин инкубации с желудочным соком. Также при 60 мин инкубации с желудочным соком, смеси крахмала+казеина, крахмала+альбумина и крахмала+гемоглобина, при 30 мин преинкубации со слюной и далее 60 мин инкубации с желудочным соком. Применялось различное соотношение крахмала и белка: 1 часть крахмала и 5 частей белка, 5 частей крахмала и 1 часть белка.

Во второй части работы были использованы желудочный и поджелудочный соки, полученные в хронических экспериментах у собак при тощаковой секреции, а также желчь, взятая у собак после проведения острых экспериментов. В поджелудочном соке определялась активность липазы [27], в присутствии различных белков (казеин, сывороточный альбумин, гемоглобин, желатина, яичный белок, белок мясного порошка) и их гидролизатов под влиянием желудочного сока. В качестве субстрата для панкреатической липазы использовался в 4 серии 1% трибутирин эмульгированный соответствующим белком в нарастающей концентрации от 0,1 до 1%. В 5 серии 1% трибутирин, эмульгированный желчью разведенной 1:5 физиологическим раствором и соответствующим белком в нарастающей концентрации от 1 до 36%.

Исследование липолитической активности поджелудочного сока с исследуемыми белками проводилась в 3 вариантах: 1– без предварительной инкубации с желудочным соком, 2 – с 30 мин предварительной инкубацией с желудочным соком, 3 – с 60 мин предварительной инкубацией с желудочным соком.

Преинкубация белковых субстратов с желудочным соком осуществлялась при pH 2, после этого проводили нейтрализацию pH до 8 раствором NaOH и добавлением фосфатного буфера с pH 8,2, затем в 4 серии проводили инкубацию субстрата с поджелудочным соком, а в 5 серии добавляли разведенную желчь. В исследованиях без инкубации добавляли дистиллированную воду в эквивалентном объёмном количестве с потраченным раствором NaOH и соответствующим добавлением фосфатного буфера. В качестве контроля брались показатели липолитической активности без добавления белков.

Полученные результаты обработаны с использованием стандартного приложения Microsoft Exel 2010 методами вариационной статистики с вычислением средних (M) и относительных (P) величин, а также их средних ошибок (m), достоверность отличий определяли по критерию t Стьюдента.

Результаты

В проведенных исследованиях, было установлено, что при 30 мин воздействии желудочного сока на казеин ОПА составляла 82±7,1 ед/мл. В тоже время с применением крахмала и казеина в соотношении 1:5 и 30 мин влиянии желудочного сока ОПА (51±4,5 ед/мл) была достоверно ниже показателя применения только казеина. С использованием же смеси крахмала и казеина в таком же соотношении и 60 мин воздействии желудочного сока ОПА (73±6,4 ед/мл) была не достоверно ниже результата казеина. По мимо этого применение крахмала и казеина в соотношении 1:5 после предварительной 30 мин инкубации его со слюной и дальнейшей 60 мин инкубацией с желудочным соком ОПА (79±8,3 ед/мл) была недостоверно больше аналогичного показателя без использования слюны. Подобная направленность изменений, при таковых же условиях в соотношении крахмала и казеина 1:5, но с меньшими значениями ОПА отмечалась и при использовании в качестве субстрата крахмала совместно с альбумином, а также совместно с гемоглобином, как без слюны, так и при предварительной инкубации со слюной (*Рис. 1А*).

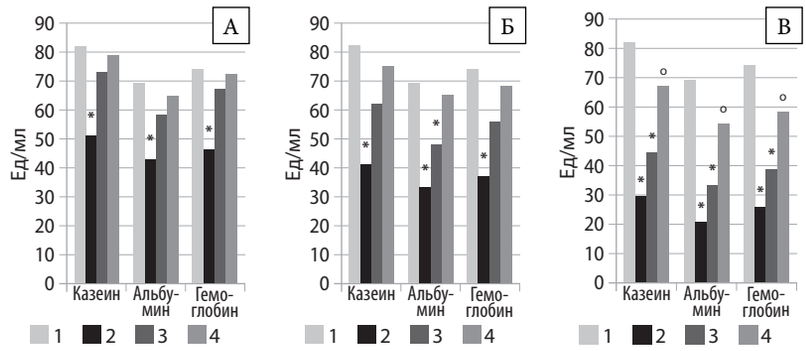
При исследовании воздействия желудочного сока на смесь крахмала и казеина в соотношении 1:1 была выявлена аналогичная динамика изменений ОПА, как на смесь крахмала и казеина в соотношении 1:5. При этом показатели крахмала и казеина в соотношении 1:1 были ниже подобных результатов применения крахмала и казеина в соотношении 1:5 (*Рис. 1Б*).

По результатам исследования применения смеси крахмала и казеина в соотношении 5:1, после 30 мин воздействия желудочного сока ОПА (29±2,5 ед/мл) была существенно и достоверно ниже аналогичных показателей с применением только казеина. Кроме того данный показатель был достоверно ниже подобного результата с применением смеси крахмала и казеина с соотношением как 1:5, так и 1:1. При этом использование смеси крахмала

и казеина в соотношении 5:1 после 60 мин влияния желудочного сока ОПА (44±3,9 ед/мл) была достоверно ниже результата с использованием казеина, а также достоверно ниже аналогичного результата смеси крахмала и казеина с соотношением 1:5 и 1:1. В тоже время применение в качестве субстрата крахмала и казеина в соотношении 5:1 после предварительного 30 мин воздействия слюной и дальнейшем 60 мин влиянием желудочного сока ОПА (67±7,1 ед/мл) была достоверно выше подобного показателя с использованием крахмала и казеина в соотношении 5:1 после 60 мин воздействия

Рисунок 1.
Исследование изменения ОПА желудочного сока при использовании в качестве субстрата смеси крахмала с белками казеин, альбумин и гемоглобин в соотношении крахмала и белка: А – 1:5, Б – 1:1, В –5:1. 1 – использование белков при 30 мин инкубации с желудочным соком. 2 – использование смеси крахмала и белков, при 30 мин инкубации с желудочным соком. 3 – использование смеси крахмала и белков при 60 мин инкубации с желудочным соком. 4 – использование смеси: крахмала с белками при 30 мин преинкубации со слюной и далее 60 мин икубации с желудочным соком.

Figure 1.
Investigation of changes in gastric juice TPA when using as a substrate a mixture of starch with proteins casein, albumin and hemoglobin in the ratio of starch and protein: A – 1:5, B – 1:1, C –5:1. 1 – the use of proteins at 30 min incubation with gastric juice. 2 – the use of a mixture of starch and proteins, with 30 min incubation with gastric juice. 3 – using a mixture of starch and proteins at 60 min incubation with gastric juice. 4 – use of a mixture: starch with proteins at 30 min preincubation with saliva and then 60 min of incubation with gastric juice.

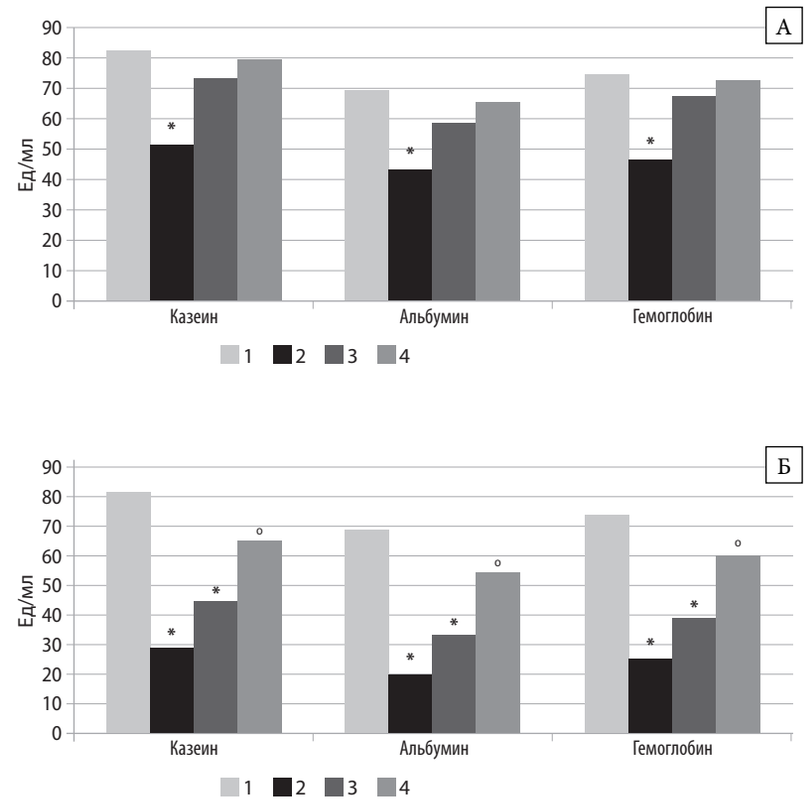


Примечания:
* – достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям использования белков при 30 мин инкубации.
О – достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям использования смеси крахмала и белков, при 30 мин инкубации.

Notes:
* – significantly different values in relation to the indicators of the use of proteins at 30 min of incubation.
O – significantly different values in relation to the indicators of the use of a mixture of starch and proteins, at 30 min of incubation.

Рисунок 2.
Изменение ОПА желудочного сока под влиянием амилазы слюны при использовании в качестве субстрата смеси крахмала с белками казеин, альбумин и гемоглобин в соотношении крахмала и белка: А – 1:5, Б –5:1. 1 – белки при 30 мин инкубации с желудочным соком. 2 – использование смеси: крахмала с белками, при 30 мин инкубации с желудочным соком. 3 – использование смеси: крахмала с белками при 60 мин икубации с желудочным соком. 4 – использование смеси: крахмала с белками при 30 мин преинкубации со слюной и далее 60 мин инкубации с желудочным соком.

Figure 2.
Changes in the gastric juice OPA under the influence of salivary amylase when using as a substrate a mixture of starch with proteins casein, albumin and hemoglobin in the ratio of starch and protein: A – 1:5, B –5:1. 1 – proteins after 30 min incubation with gastric juice. 2 – the use of a mixture: starch with proteins, with 30 minutes of incubation with gastric juice. 3 – use of a mixture: starch with proteins at 60 min of incubation with gastric juice. 4 – use of a mixture: starch with proteins at 30 min of preincubation with saliva and then 60 min of incubation with gastric juice.



Примечание:
* – достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям использования белков при 30 мин инкубации.
О – достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям использования смеси: крахмала+казеина, крахмала+альбумина и крахмала+гемоглобина, при 30 мин инкубации.

Notes:
* – Significantly different values in relation to the indicators of the use of proteins at 30 min of incubation.
O – significantly different values in relation to the indicators of the use of the mixture: starch + casein, starch + albumin and starch + hemoglobin, at 30 min of incubation.

желудочного сока. Похожие изменения ОПА, при аналогичных условиях и в соотношении крахмала и казеина 5:1, но с меньшими значениями ОПА отмечались и при использовании в качестве субстрата крахмала совместно с альбумином, крахмала совместно с гемоглобином, как без слюны, так и после предварительной инкубации со слюной (*рис. 1В*).

Кроме того, выявлено, что при использовании в качестве субстрата только казеина и после 30 мин воздействия на него желудочного сока, ОПА составляла 82±7,1 ед/мл. При этом с применением субстрата из крахмала и казеина в соотношении 1:5 после 30 мин влияния желудочного сока этот показатель составлял 51±4,5 ед/мл, что было достоверно ниже аналогичного результата с использованием только казеина (*рис. 2 А*). В тоже время совместное использование в качестве субстрата крахмала и казеина в соотношении 5:1, после 30 мин воздействия желудочного сока вызывало изменение ОПА, которое было достоверно ниже подобного результата с применением только казеина и составляла 29±2,5 ед/мл. Данный результат находился достоверно ниже подобного значения с применением совместно крахмала и казеина в соотношении 1:5 (*рис. 2Б*). Также было обнаружено, что с использованием субстрата из крахмала и казеина в соотношении 1:5 после 60 мин воздействия на него желудочного сока ОПА была равна 73±6,4 ед/мл, что было не достоверно ниже аналогичного показателя с использованием только казеина (*рис. 2А*). При этом применение в качестве субстрата крахмала и казеина в соотношении 5:1 после 60 мин воздействия желудочного сока ОПА была равна 44±3,9 ед/мл, что также было достоверно ниже аналогичного результата использования крахмала и казеина в соотношении 1:5 (*рис. 2Б*). Помимо этого было выявлено, что с применением субстрата из крахмала и казеина в соотношении 1:5 после предварительной 30 мин инкубации его со слюной и дальнейшей 60 мин инкубацией с желудочным соком ОПА составляла 79±8,3 ед/мл, что было недостоверно больше аналогичного показателя с использованием крахмала и казеина в соотношении 1:5 после 60 мин воздействия желудочного сока (*рис. 2А*). Тем не менее, при использовании в качестве субстрата крахмала и казеина в соотношении 5:1 после предварительного 30 мин воздействия слюной и дальнейшем 60 мин воздействием желудочным соком ОПА составляла 65±7,1 ед/мл, что было достоверно выше подобного показателя с использованием крахмала и казеина в соотношении 5:1 после 60 мин воздействия желудочного сока (*рис. 2Б*). Аналогичная направленность изменения показателей была отмечена с использованием в качестве субстрата крахмала и альбумина, а также крахмала и гемоглобина.

Также проведены исследования влияния белков и их гидролизатов желудочным соком на активность липазы поджелудочного сока. Было установлено, что с применением казеина в качестве эмульгатора, липолитическая активность значительно снижается при использовании его в концентрации 0,1% и это снижение продолжалось с увеличением концентрации казеина до 0,4%, когда полностью отсутствовала активность липазы. После 30 мин гидролиза казеина желудочным соком и дальнейшем использовании в качестве эмульгаторов, липолитическая активность значительно, но не достоверно снижается при концентрации 0,1%. Это снижение активности липазы продолжалось с увеличением концентрации казеина до 0,5%, когда полностью отсутствовала липолитическая активность. В тоже время все показатели активности липазы были достоверно выше таковых показателей не гидролизованного казеина желудочным соком (*рис. 3А*).

Подобная направленность изменения активности липазы с использованием в качестве эмульгатора казеина после 60 мин гидролиза желудочным соком. В тоже время снижение активности липазы, до полного её отсутствия проявляется при концентрации казеина 0,6%. При этом все показатели липолитической активности были достоверно выше таковых результатов без гидролиза казеина и выше результатов 30 мин гидролиза казеина желудочным соком (*рис. 3А*).

В исследованиях при использовании сывороточного альбумина и гемоглобина в качестве эмульгаторов отмечалась аналогичная динамика изменений липолитической активности с менее выраженным увеличением этого показателя с применением сывороточного альбумина при 30 мин гидролизе желудочным соком и более выраженным увеличением с использованием гемоглобина при 30 и 60 мин гидролизе желудочным соком (*рис. 3Б* и *3В*).

Активность липазы в исследованиях с применением желатины в качестве эмульгатора, существенно не изменялась, при различных ее концентрациях от 0,1% до 1%, как без гидролиза, так и после 30 и 60 мин гидролиза желудочным соком (*рис. 3Г*).

Применение яичного порошка также как и мясного порошка и их гидролизатов в качестве эмульгаторов, способствовало более значительному снижению липолитической активности по сравнению с применением казеина, сывороточного альбумина и гемоглобина. Это снижение проявлялось при концентрации яичного порошка от 0,1% и до полного отсутствия липолитической активности при 0,3% концентрации (*рис. 3Д* и *3Ж*).

Помимо этого проведены исследования влияния белков различной концентрации совместно с желчью на активность липазы поджелудочного сока, до и после гидролиза белков желудочным соком. Которые показали, что с применением казеина в качестве эмульгатора совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 12% повышалась и затем значительно снижалась при использовании концентрации до 16%, когда полностью отсутствовала липолитическая (*рис. 4А*).

После 30 мин гидролиза казеина желудочным соком и в дальнейшем использовании гидролизата в качестве эмульгатора совместно с желчью липолитическая активность не достоверно увеличивалась по отношению к показателям без гидролиза, но при концентрации свыше 12% показатели значительно снижались и при 24% полностью отсутствовали. При этом все показатели липолитической активности после 30 мин гидролиза казеина при концентрации свыше 10% достоверно отличались от таковых без гидролиза (*рис. 4А*).

Рисунок 3.
Влияние белков различной концентрации после гидролиза желудочным соком на активность липазы поджелудочного сока.
Примечание:
1 – без гидролиза желудочным соком, 2 – после 30 мин гидролиза желудочным соком, 3 – после 60 мин гидролиза желудочным соком.
*- достоверно отличающиеся величина по отношению к показателям без гидролиза желудочным соком.

Figure 3.
Influence of proteins of various concentrations after hydrolysis by gastric juice on the activity of pancreatic juice lipase.
Note:
1 – without hydrolysis with gastric juice, 2 – after 30 min of hydrolysis with gastric juice, 3 – after 60 min of hydrolysis with gastric juice.
* – significantly different value in relation to the indicators without hydrolysis by gastric juice.

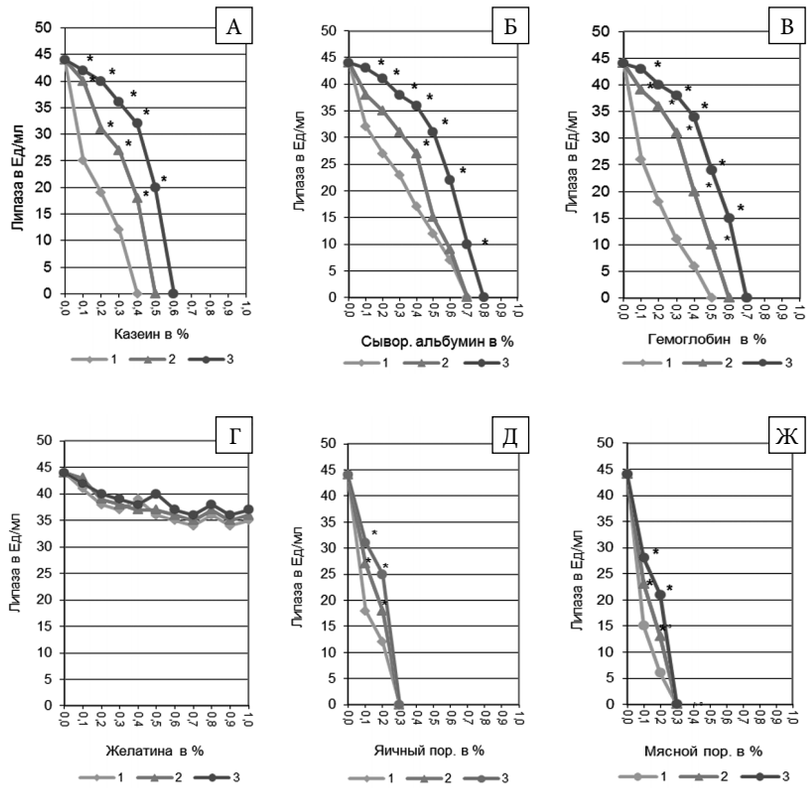
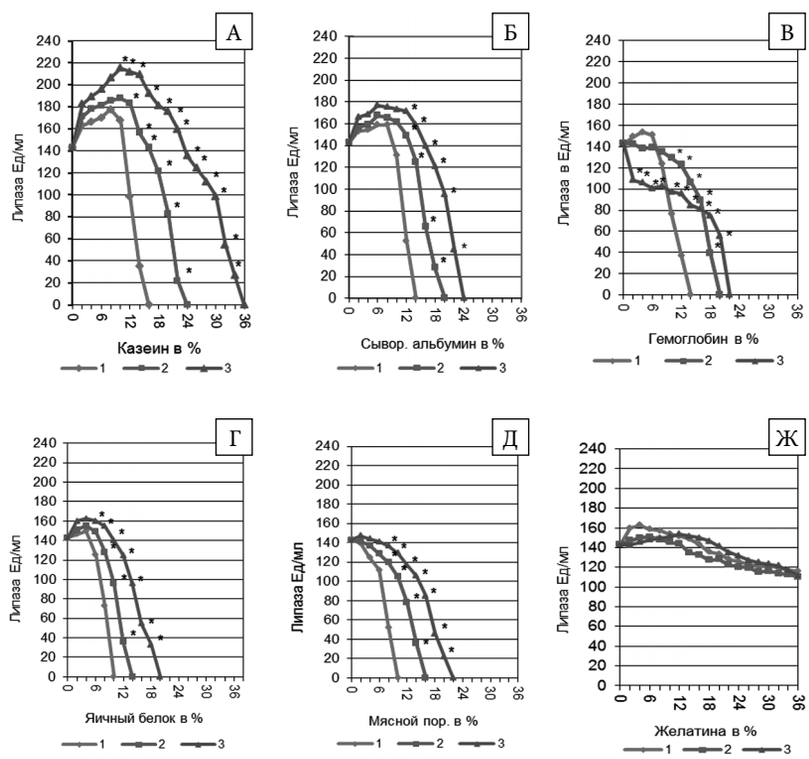


Рисунок 4.
Влияние белков различной концентрации совместно с желчью на активность липазы (x10^3) поджелудочного сока, до и после гидролиза белков желудочным соком
Примечание:
1 – без гидролиза желудочным соком, 2 – после 30 мин. гидролиза желудочным соком, 3 – после 60 мин гидролиза желудочным соком.
*- достоверно отличающиеся величина по отношению к показателям без преинкубации с желудочным соком.

Figure 4.
Influence of proteins of various concentrations together with bile on the activity of lipase (x103) of pancreatic juice, before and after protein hydrolysis by gastric juice
Note:
1 – without hydrolysis by gastric juice, 2 – after 30 min. hydrolysis with gastric juice, 3-after 60 minutes of hydrolysis with gastric juice.
* – significantly different value in relation to the indicators without preincubation with gastric juice.



После 60 мин гидролиза казеина желудочным соком и в дальнейшем использовании в качестве эмульгатора совместно с желчью липолитическая активность при увеличении концентрации гидролизата выраженно, но не достоверно увеличивалась по отношению к показателям без гидролиза и 30 мин гидролиза казеина. Показатели сохраняли эту динамику, но при концентрации свыше 16% значительно снижались, а при концентрации в 36% липолитическая активность полностью отсутствовала. При этом все показатели активности липазы с применением 60 мин гидролизатов казеина при

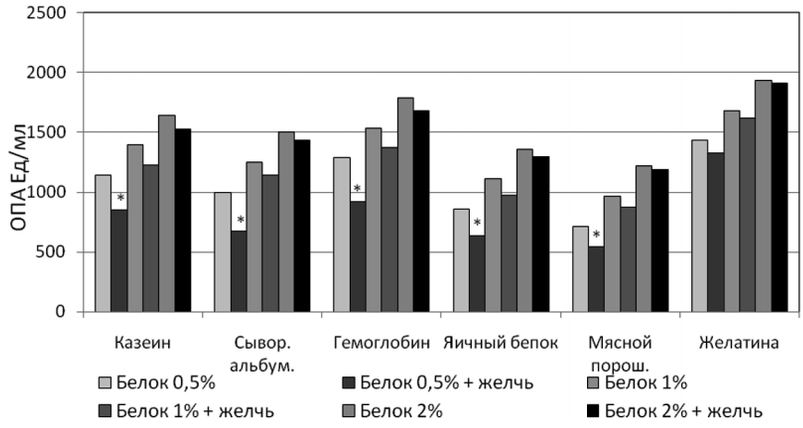


Рисунок 5.
Изменение протеолитической активности (Ед/мл) поджелудочного сока под влиянием желчных кислот с использованием различных белков.
Примечание:
*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям использования в качестве субстрата только белка.

Figure 5.
Changes in the proteolytic activity (U/ml) of pancreatic juice under the influence of bile acids using various proteins.
Note:
* – significantly different values in relation to indicators of the use of only protein as a substrate.

концентрации свыше 10% достоверно отличались от таковых без гидролиза казеина (*рис. 4А*).

В исследованиях с применением сывороточного альбумина совместно с желчью отмечалась аналогичная динамика изменения показателей, но при более низких концентрациях использования сывороточного альбумина (*рис. 4Б*). В тоже время при использовании гемоглобина совместно с желчью наблюдалось, в пределах 10% нарастания этого белка не достоверное снижение активности липазы после 30 мин гидролиза и достоверное после 60 мин гидролиза гемоглобина. При этом дальнейшее увеличение концентрации гемоглобина вызывало резкое снижение активности липазы (*рис. 4В*).

В проведенных исследованиях с применением яичного белка совместно с желчью отмечалась аналогичная динамика изменения активности липазы, но при боле низких концентрациях этого белка (*рис. 4Г*). В тоже время при использовании мясного порошка совместно с желчью направленность эффектов изменения липолитической активности отличалась отсутствием повышения активности липазы при его низких концентрациях (*рис. 4Д*).

В результате применение желатины совместно с желчью было установлено, что липолитическая активность с увеличением концентрации этого белка после 30 и 60 мин гидролиза желудочным соком не существенно отличалась от показателей без гидролиза (*рис. 4Ж*).

При исследовании влияния взаимодействия различных белков с желчью, на ОПА поджелудочного сока, было выявлено, что при использовании казеина 0.5% без желчи ОПА поджелудочного сока составляла 1142.4±97,4 Ед/мл, а при использовании такового казеина совместно с желчью ОПА составляла 851,8±62,7 Ед/мл (P<0,05), что было достоверно ниже, чем без желчи. При этом с применением 1% казеина без желчи ОПА составляла 1393,6 ±117,5 Ед/мл, а с желчью отмечалось не достоверное снижение ОПА до 1223,9±93,6 Ед/мл. В тоже время при использовании 2% казеина без желчи ОПА составляла 1644,8±135,8 Ед/мл. Применение 2% казеина с желчью вызывало не достоверное снижение ОПА поджелудочного сока до 1526,8±127,5 Ед/мл (*Рис. 5*).

Аналогичная динамика показателей отмечалась с использованием совместно с желчью сывороточного альбумина и гемоглобина. При этом с применением совместно с желчью яичного белка и мясного порошка при такой же динамике показателей они были несколько ниже применения казеина, сывороточного альбумина и гемоглобина (*Рис. 5*).

Использование желатины совместно с желчью существенно не влияло на ОПА поджелудочного сока, хотя имелась тенденция на снижение этого показателя (*Рис. 5*).

На основании полученных результатов влияния взаимодействия различных белков с жирными кислотами, на ОПА поджелудочного сока, было установлено, что при использовании казеина без масляной кислоты, ОПА поджелудочного сока составляла 1134±83,7 Ед/мл. С применением же казеина совместно с 0,5% и 1% масляной кислотой – C_4 отмечалось не значительное снижение ОПА поджелудочного сока, а с применением 2% масляной кислоты – C_4 наблюдалось более выраженное, но не достоверное снижение ОПА которое составляло 979±61,8 Ед/мл. В тоже время с использованием казеина совместно с 0,5% олеиновой кислотой – C_{18} ОПА поджелудочного сока по отношению к показателям без олеиновой кислоты не значительно повышалась. При этом совместно с 1% олеиновой кислотой – C_{18} ОПА поджелудочного сока не достоверно снижалась, а с применением казеина совместно с 2% олеиновой кислотой – C_{18} ОПА поджелудочного сока достоверно снижалась до 831±62,6 Ед/мл (*Табл. 1*).

Так же было обнаружено, что при использовании в нарастающей концентрации масляной кислоты, как с сывороточным альбумином, так и с гемоглобином отмечалось постепенное не достоверное уменьшение ОПА по отношении к таковым показателям без масляной кислоты. В тоже время с применением нарастающей концентрации олеиновой кислоты, как с сывороточным альбумином, так и с гемоглобином отмечалось также постепенное уменьшение ОПА по отношении к таковым показателям без олеиновой кислоты. Тем не менее, при концентрации олеиновой кислоты 1% и 2% показатели ОПА были достоверны по отношению к таковым без олеиновой кислоты (*Табл. 1*).

Аналогичная направленность изменения ОПА была отмечена с применением яичного белка и мясного порошка с масляной и олеиновой кислотами. В тоже время эффекты применение желатины, как

Таблица 1
Изменение протеолитической активности (Ед/мл) поджелудочного сока под влиянием жирных кислот

Table 1
Changes in the proteolytic activity (U/ml) of pancreatic juice under the influence of fatty acids

	Масляная кислота – C_4				Олеиновая кислота – C_{18}			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Казеин	1134± 83,7	1108± 79,5	1117± 67,9	979± 61,8	1134± 83,7	1179± 99,3	917± 76,4	831± 62,6*
Сывороточный альбумин	968± 72,8	914± 65,2	875± 59,7	824± 51,9	968± 72,8	837± 69,4	763± 56,4*	685± 51,9*
Гемоглобин	1073± 88,1	987± 73,5	913± 68,7	875± 57,4	1073± 88,1	876± 68,2	712± 54,7*	622± 48,5*
Яичный белок	854± 76,2	865± 81,3	842± 69,4	811± 72,8	854±76,2	968± 83,7	893± 71,6	653± 41,5*
Мясной порошок	698± 66,9	687± 52,6	671± 48,5	634± 41,7	698± 66,9	583± 43,2	491± 37,5*	407± 34,6*
Желатина	1388± 97,3	1351± 106,1	1396± 91,7	1318± 86,9	1388± 97,3	1372± 121,8	1335± 113,5	1267± 106,9

Примечание:
в качестве субстрата использовались: 1- только белок, 2- белок + жирная кислота 0,5%,3- белок + жирная кислота 1%. 4 – белок + жирная кислота 2%.*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям использования в качестве субстрата только белка.

Note:
the following were used as a substrate: 1- only protein, 2- protein + fatty acid 0.5%, 3- protein + fatty acid 1%. 4 – protein + fatty acid 2%. * – significantly different values in relation to the indicators of using only protein as a substrate.

с масляной кислотой, так и с олеиновой кислотой при различных их концентрациях, в отличие от применения выше описанных белков были менее выражены с не существенным снижением показателей ОПА с применением, как с масляной кислотой, так и с олеиновой кислотой.

Обсуждение результатов

Из полученных результатов исследования роли амилазы в изменении переваривания белков было установлено, что применение смеси крахмала с белками способствует снижению гидролиза белков желудочным соком. В тоже время применение слюнной амилазы содействует увеличению гидролиза белков за счет снижения образования крахмально-белковых комплексов, препятствующих перевариванию белков желудочным соком. Смещение соотношения крахмала и белка в сторону увеличения крахмала, способствует дополнительному снижению гидролиза белка, связанного с уменьшением доступа протеаз желудка к белкам, помимо препятствия к белкам в крахмально-белковом комплексе. Таким образом, можно предположить, что одним из факторов роли слюнной амилазы является препятствием взаимодействию крахмала с белками при образовании крахмально-белковых комплексов, а также снижение количества крахмала, препятствующего доступу протеаз желудка к белкам.

Из этих данных можно допустить, что вторым фактором роли слюнной амилазы является необходимость в препятствии образования комплексов амилозы, входящей в состав крахмала, с жирными кислотами и тройных комплексов амилозы с жирными кислотами и белками. В результате гидролиза амилозы слюнной амилазой в желудке и образовании олигосахаридов, значительно снижается возможность поступления амилозы в двенадцатиперстную кишку и верхний отдел тонкой кишки, где образуются жирные кислоты под влиянием панкреатической липазы, и где могли бы образовываться комплексы, препятствующие гидролизу амилозы.

В целом можно предположить, что с одной стороны эволюционно роль слюнной амилазы заключается в дезинтеграции полисахаридов, в частности крахмала, и белков с целью уменьшения образования полисахаридно-белковых комплексов, препятствующих гидролизу белков и перевариванию их желудочным соком. С другой стороны это может быть связано с дезинтеграцией амилозы, входящей в состав крахмала, и жирных кислот. С целью снижения образования комплексов амилозы и жирных кислот, препятствующих перевариванию амилозы и улучшения переваривания с учетом возможного поступления её в двенадцатиперстную кишку и верхний отдел тонкого кишечника, где могут находиться жирные кислоты после гидролиза жиров панкреатической амилазой.

Полученные данные показывают, что все исследованные белки, кроме желатины, обладают ингибирующим действием на липазу в составе панкреатического сока, степень ингибирующего действия у каждого белка выражена неодинаково. В наибольшей степени ингибирующая способность на липазу выражена у белков яичного и мясного порошка, в меньшей -сывороточного альбумина, а также казеина и гемоголобина. После 30 мин и еще в большей мере после 60 мин гидролиза желудочным соком всех исследуемых белков, липолитическая активность панкреатического сока по сравнению с показателями без гидролиза повышалась достоверно, но не одинаково. При этом динамика изменения зависимости липолитической активности от концентрации белка была различной, то есть индивидуальной для каждого исследуемого белка. Эти результаты показывают, что желудочное переваривание белков снижает

их способность ингибировать панкреатическую липазу в неодинаковой степени для различных белков. Также снижение ингибирования липазы различными белками зависит от степени переваривания их желудочным соком. Таким образом, можно заключить, что предварительный гидролиз белков пепсинами в желудке способствует не только дальнейшему улучшению гидролиза их под влиянием протеолитических ферментов поджелудочного сока, но также и гидролизу жиров под влиянием панкреатической липазы. Этот факт, возможно, является более важным для гидролитической функции желудка и главным эволюционным фактором предварительного переваривания белков в желудке, а также дезинтеграции между белками и жирами.

Полученные данные также показали, что исследованные белки, используемые в качестве эмульгаторов, совместно с желчью, при увеличении их концентрации вызывали повышение активности панкреатической липазы, возможно за счет увеличения эмульгируемости смешанного субстрата. Затем при достижении концентрации белка до определенного уровня, отмечалось значительное снижение активности липазы, которое доходило до нуля. Объяснить такую динамику снижения активности липазы можно тем, что при невысокой концентрации белка, часть желчи связывается белками, а другая её часть десорбирует белки с поверхности жировых капель и активность липазы выражена. Это происходит тогда, когда концентрационное соотношение белка к желчным кислотам смещено в сторону более высокой концентрации желчных кислот. При высоких концентрациях белков, когда соотношение их к желчным кислотам смещается в сторону увеличения концентрации белков, происходит связывание белками большей части желчных кислот, а оставшиеся белки адсорбируются на поверхности жировых капель. Так как белки обладают более выраженной адсорбционной способностью, на поверхности жировых капель возникает конкурентная адсорбция белков и десорбция липазы.

Кроме того установлено, что способность белков связывать желчные кислоты и ингибировать активность липазы зависит от их физико-химических свойств и способности белков к гидролизу желудочным соком. В связи с этим наименьшая способность к связыванию желчных кислот и ингибированию активности липазы отмечена у казеина. Так же связывающая способность казеина с желчными кислотами, наименее выражена, после его 30 и 60 мин гидролиза желудочным соком. Это связано с наибольшей способностью к гидролизу казеина желудочным соком.

У сывороточного альбумина связывающая способность с желчными кислотами выражена в большей степени, по сравнению с казеином. Также связывающая способность у него более выражена после 30 и 60 мин гидролиза желудочным соком, за счет более низкой способности к гидролизу сывороточного альбумина желудочным соком.

Использование гемоглобина совместно с желчью в качестве эмульгированного субстрата при определении активности липазы также показало более выраженную способность связывать желчные кислоты. При этом связывающая способность у гемоглобина более выражена после 30 и еще больше после 60 мин гидролиза его желудочным соком. Это может быть обусловлено связыванием продуктами гидролиза, как липазы, так и желчных кислот.

Применение яичного белка и мясного порошка совместно с желчью показало, что связывающая способность с желчными кислотами выражена в большей степени, по сравнению с казеином. Также связывающая способность у этих белков более выражена после 30 и 60 мин гидролиза желудочным соком, за счет более низкой способности их к гидролизу желудочным соком.

Из всех исследуемых белков использование желатины совместно с желчью показало, что способность связываться с желчными кислотами и ингибировать липазу практически отсутствовала, как без гидролиза, так и после 30 и 60 мин гидролиза желатины желудочным соком.

Полученные данные показывают, что ОПА поджелудочного сока при низкой концентрации белкового субстрата достоверно снижается. Эти изменения проявляются со всеми исследуемыми белками, кроме желатины, где эта способность менее выражена. Объяснить механизм снижения ОПА протеаз поджелудочного сока можно тем, что желчные кислоты связываются с белками и тем самым препятствуют действию протеаз на белковые молекулы. С увеличением концентрации белка эффект снижения ОПА уменьшается. Это можно объяснить тем, что желчные кислоты связывают определенное количество белка, а с увеличением концентрации белка, повышается количество белка, не связанного с желчными кислотами. Увеличение свободных белков, которые подвергаются действию протеаз, способствует увеличению продуктов гидролиза белка, по которым мы судим об увеличении активности протеаз. В тоже время менее выраженные эффекты с желатиной по сравнению с другими белками можно объяснить меньшим связыванием желчных кислот с этим белком.

Таким образом, можно заключить, что желчные кислоты, входящие в состав желчи, могут связываться с белками. Так было показано изменение вторичной структуры белка из-за положительного кооперативного эффекта связывания желчных солей с белком [28, 29]. Кроме того, желчные кислоты могут создавать препятствие в переваривании белков в двенадцатиперстной кишке. Предполагается, что связывание белками желчных кислот, может оказывать критическое влияние на концентрацию желчных кислот у некоторых пациентов с пониженной общей концентрацией желчных кислот, как при илектомии, стеаторее, так и у пациентов с нарушенным липолизом, и при панкреатической недостаточности. Это может служить дополнительным обоснованием для использования элементарных диет у тяжелобольных пациентов со стеатореей [30].

Результаты этих исследований демонстрируют, что ОПА поджелудочного сока не одинаково изменяется в меньшую сторону с участием различных белков при низкой концентрации жирных кислот. Однако у всех белков при увеличении до 2% концентрации жирных кислот отмечается снижение

ОПА. Эти эффекты снижения ОПА с применением высоких концентраций жирных кислот в меньшей степени выявлялись при использовании масляной кислоты – C_4. Где у всех белков отмечалось однонаправленное не достоверное снижение ОПА поджелудочного сока. В тоже время, с использованием олеиновой кислоты – C_{18}, с увеличением её концентрации, отмечалось выраженное и достоверное снижение ОПА с применением ряда белков, таких как сывороточный альбумин, гемоглобин и мясной порошок, при концентрации олеиновой кислоты – C_{18} в 1%. При этом при всех использованных белках, кроме желатины отмечалось более выраженное и достоверное снижение ОПА при концентрации до 2%. Из полученных данных видно, что, чем больше молекулярная масса или длина цепи жирной кислоты, тем в большей мере может проявляться взаимодействие их с белками, и это может оказывать препятствие в переваривании белков в двенадцатиперстной кишке.

Таким образом, можно предположить, что предварительное переваривание белков желудочным соком, способствует препятствию взаимодействия между белками и жирами, а также желчными и жирными кислотами или дезинтеграции между белками и жирами, желчными и жирными кислотами.

Не понятным остается вопрос, последовательность расщепления питательных веществ, ферментами слюны, желудка и поджелудочной железы является ли основным фактором, направленным на улучшение перевариваемости их в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта. Или она в первую очередь направлена на ферментативную дезинтеграцию между полисахаридами, белками и жирами, чтобы снизить их взаимодействие и образование физических комплексов, тем самым во вторую очередь улучшить перевариваемость питательных веществ в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта.

Концептуальное предположение ферментативной дезинтеграции питательных веществ в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта позволяет обосновать существующую последовательность начального переваривания полисахаридов слюной, а также начальное переваривание белков желудочным соком. В тоже время можно предположить, что эта последовательность составляет физиологический градиент ферментативной дезинтеграции питательных веществ, нарушение которого может способствовать патологии желудка, поджелудочной железы и двенадцатиперстной кишки.

Выводы

Последовательность расщепления питательных веществ, ферментами слюны, желудка и поджелудочной железы в первую очередь направлена на ферментативную дезинтеграцию между полисахаридами, белками и жирами, чтобы снизить их взаимодействие и образование физических комплексов, тем самым во вторую очередь улучшить перевариваемость питательных веществ в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта. Концептуальное предположение ферментативной дезинтеграции питательных веществ в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта позволяет обосновать существующую последовательность начального переваривания полисахаридов слюной, а также начальное переваривание белков желудочным соком.

Литература | References

1. Antipova A.S. [Thermodynamic aspects of the influence of low molecular weight carbohydrates and polysaccharides on the functional properties of proteins. Diss… Candidate Chim. sci.]. Moscow, 2008. 25. (in Russ.)

   Антипова А. С. Термодинамические аспекты влияния низкомолекулярных углеводов и полисахаридов на функциональные свойства белков: автореф. дис. канд.хим. наук – Москва, 2008. 25.

2. Smith F., Pan X., Bellido V. et al. Digestibility of gluten proteins is reduced by baking and enhanced by starch digestion. *Molecular nutrition & food research*. 2015 Jul 23; 59(10): 2034–2043. doi: 10.1002/mnfr.201500262

3. Koutina G., Ray C. A., Lametsch, R. & Ipsen R. The effect of protein-to-alginate ratio on in vitro gastric digestion of nanoparticulated whey protein. *International dairy journal*. 2018 Feb; 77: 10–18. doi: 10.1016/j.idairyj.2017.09.001

4. Kurchenko V.P., Alieva L. R., Butkevich T. V. & Gavrilenko N. V. [The mechanism of interaction of chitosan with whey proteins]. *Proceedings of the Belarusian State University. Series: Physiological, biochemical and molecular bases of functioning of biosystems*. 2013, no. 8 (1), pp. 45–51. (in Russ.)

   Курченко В. П., Алиева Л. Р., Буткевич Т. В., Гавриленко Н. В. Механизм взаимодействия хитозана с белками молочной сыворотки. Труды Белорусского государственного университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. 2013; Т. 8(1): 45–51.

5. Butterworth P.J., Warren F. J., Ellis P. R. Human α-amylase and starch digestion: An interesting marriage. *Starch-Stärke*. 2011 Feb 23; 63(7): 395–405. doi: 10.1002/star.201000150.

6. Freitas D., Le Feunteun S., Panouillé M., & Souchon I. The important role of salivary α-amylase in the gastric digestion of wheat bread starch. *Food & function*. 2018 Sep 25; 9(1): 200–208. doi: 10.1039/C7FO01484H.

7. Freitas D., Le Feunteun S. Oro-gastro-intestinal digestion of starch in white bread, wheat-based and gluten-free pasta: unveiling the contribution of human salivary α-amylase. *Food chemistry*. 2019 Feb 15; 274: 566–573. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.09.025.

8. Ai Y., Hasjim J., Jane J. Effects of lipids on enzymatic hydrolysis and physical properties of starch. *Carbohydrate Polymers*. 2013 Jan 30; 92(1):120–127. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.08.092.

9. Seneviratne H.D., Biliaderis C. G. Action of α-amylases on amylose-lipid complex superstructures. *Journal of Cereal Science*. 1991 Mar; 13(2): 129–143. doi: 10.1016/S0733–5210(09)80030–1.
10. Godet M.C., Bouchet B., Colonna P. et al. Crystalline amylose-fatty acid complexes: Morphology and crystal thickness. *Journal of Food Science*. 1996 Nov; 61(6): 1196–1201. doi: 10.1111/j.1365–2621.1996.tb10959.x.
11. Tufvesson F., Eliasson A. C. Formation and crystallization of amylose–monoglyceride complex in a starch matrix. *Carbohydrate polymers*. 2000 Dec 1; 43(4) 359–365. doi: 10.1016/S0144–8617(00)00179-X.
12. Crowe T.C., Seligman S. A., Copeland L. Inhibition of enzymic digestion of amylose by free fatty acids in vitro contributes to resistant starch formation. *The Journal of nutrition*. 2000 Aug 1; 130(8): 2006–2008. doi: 10.1093/jn/130.8.2006.
13. Kawai K., Takato S., Sasaki T., & Kajiwara, K. Complex formation, thermal properties, and in-vitro digestibility of gelatinized potato starch–fatty acid mixtures. *Food Hydrocolloids*. 2012 May; 27(1): 228–234. doi: 10.1016/j.foodhyd.2011.07.003.
14. Guraya H.S., Kadan R. S., Champagne E. T. Effect of rice starch-lipid complexes on in vitro digestibility, complexing index, and viscosity. *Cereal Chemistry*.1997Sep15;74(5)561–565.doi: 10.1094/CCHEM.1997.74.5. 561.
15. Zhang G., Hamaker B. R. Sorghum (Sorghum bicolor L. Moench) flour pasting properties influenced by free fatty acids and protein. *Cereal chemistry*. 2005 Sep 15; 82(5): 534–540. doi: 10.1094/CC-82–0534.
16. Zhang G., Maladen M. D., Hamaker B. R. Detection of a novel three component complex consisting of starch, protein, and free fatty acids. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2003 Mar 21; 51(9): 2801–2805. doi: 10.1021/jf030035t.
17. Chao C., Cai J., Yu J. et al. Toward a better understanding of starch–monoglyceride–protein interactions. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2018 Nov 28; 66(50): 13253–13259. doi: 10.1021/acs.jafc.8b04742.
18. Zheng M., Chao C., Yu J. et al. Effects of chain length and degree of unsaturation of fatty acids on structure and in vitro digestibility of starch–protein–fatty acid complexes. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2018 Feb 12; 66(8): 1872–1880. doi: 10.1021/acs.jafc.7b04779.
19. Chen B., Jia X., Miao S. et al. Slowly digestible properties of lotus seed starch-glycerine monostearin complexes formed by high pressure homogenization. *Food chemistry*. 2018 Jun 30; 252: 115–125. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.01.054.
20. Meng S., Ma Y., Cui J., & Sun, D. W. Preparation of corn starch–fatty acid complexes by high-pressure homogenization. *Starch-Stärke*. 2014 May 8; 66(9–10): 809–817. doi: 10.1002/star.201400022.
21. Gargouri Y., Julien R., Sugihara A. et al. Inhibition of pancreatic and microbial lipases by proteins. *Biochim Biophys Acta*. 1984 Sep 12;795(2):326–31. doi: 10.1016/0005–2760(84)90082–1.
22. Gargouri Y., Pieroni G., Rivière C. et al. Inhibition of lipases by proteins. A kinetic study with dicaprin monolayers. *J Biol Chem*. 1985 Feb 25; 260(4): 2268–73. doi: 10.1016/S0021–9258(18)89549–7.
23. Vinarov Z., Petkova Y., Tcholakova S. et al. Effects of emulsifier charge and concentration on pancreatic lipolysis. 1. In the absence of bile salts. Langmuir. 2012 May 2; 28 (21): 8127–8139. doi: 10.1021/la300366m.
24. Hosomi R, Fukunaga K, Nishiyama T, Yoshida M. Effects of porcine hemoglobin on serum lipid content and fecal lipid excretion in rats. *J. Med. Food*. 2014;17(3):302–9. doi: 10.1089/jmf.2013.2843.
25. Jauricque Ursulla Kongo-Dia-Moukala, Hui Zhang and Irakoze Pierre Claver In Vitro Binding Capacity of Bile Acids by Defatted Corn Protein Hydrolysate Int. *J. Mol. Sci*. 2011 Feb 2; (12): 1066–1080. doi: 10.3390/ijms12021066
26. Andreeva Yu.V. [The effect of fasting and resumption of feeding on the secretory function of the stomach. Diss… Candidate biol. sci.]. St. Petersburg, 2007, 140 p. (in Russ.)

    Андреева Ю. В. Влияние голодания и возобновления кормления на секреторную функцию желудка/ Дисс., канд. биол. наук, Санкт-Петербург, 2007; 140 с.
27. Kurzanov A.N. [Method for determining the lipolytic activity of biological fluids]. *Lab. case*. 1975, no.12, pp.746–747. (in Russ.)

    Курзанов А. Н. Метод определения липолитической активности биологических жидкостей. *Лаб.дело*. 1975;12: 746–747.
28. De S., Das S., Girigoswami A. Spectroscopic probing of bile salt–albumin interaction. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2007 Jan 15; 54(1): 74–81. doi: 10.1016/j.colsurfb.2006.09.015.
29. Yasujima T., Saito K., Moore R., & Negishi, M. Phenobarbital and insulin reciprocate activation of the nuclear receptor constitutive androstane receptor through the insulin receptor. *J Pharmacol Exp Ther*. 2016 May;357(2):367–74. doi: 10.1124/jpet.116.232140.
30. Lentle R.G., Janssen P. W.M. Colloidal dynamics and lipid digestive efficiency. *The Physical Processes of Digestion*. Springer, New York, NY. 2011 03 Jun; 63–90. doi: 10.1007/978–1–4419–9449–3_5.