

# ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ СЛАДКОГО БЕЛКА

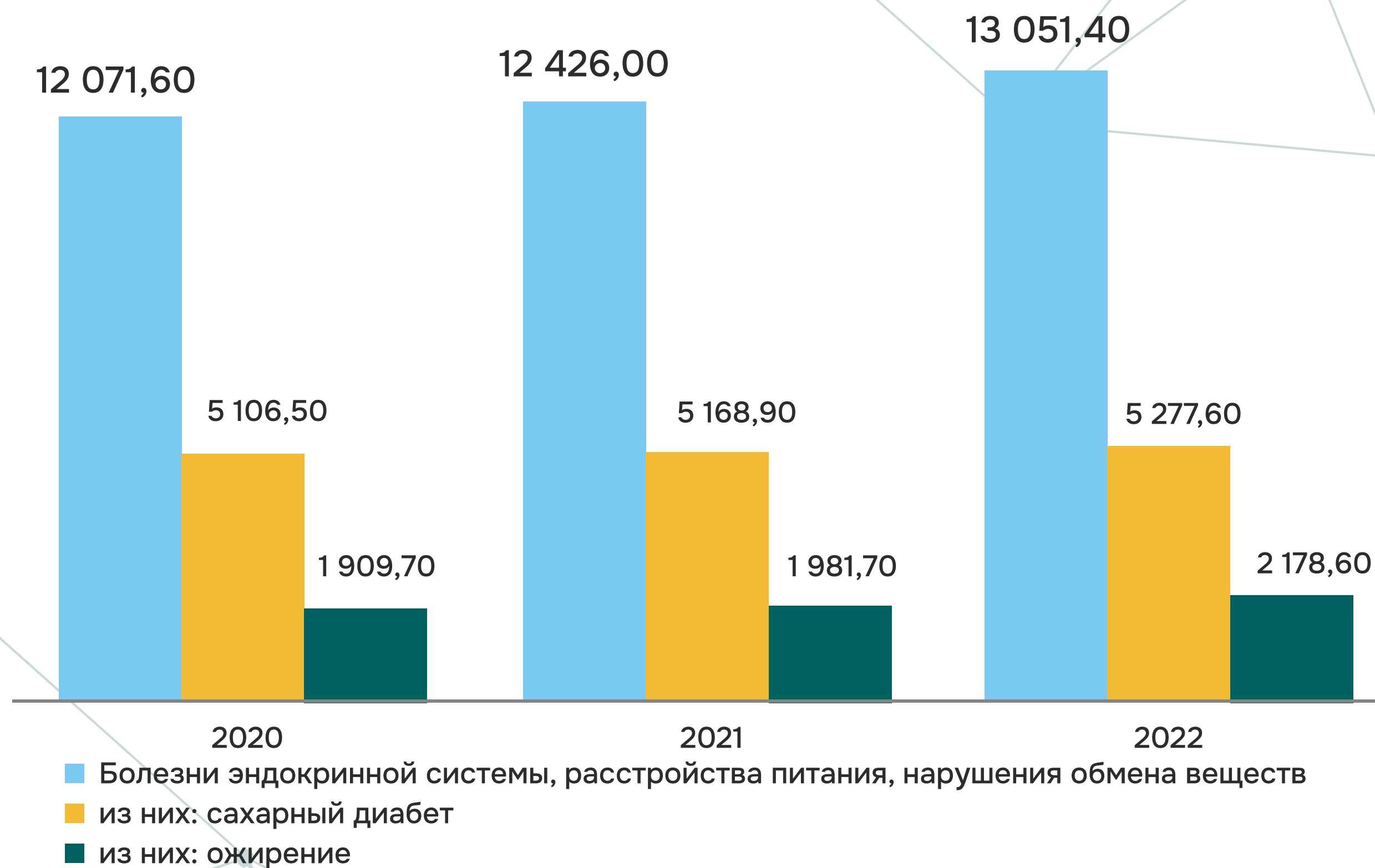
**Ольга  
Донцова**

Академик РАН, заведующая кафедрой химии природных соединений химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова



# ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ ПО ОСНОВНЫМ КЛАССАМ, ГРУППАМ И ОТДЕЛЬНЫМ БОЛЕЗНЯМ ПО ДАННЫМ РОССТАТА

Зарегистрировано заболеваний у пациентов – всего, тыс.





# РУКОВОДСТВО ВОЗ ПО ПОТРЕБЛЕНИЮ САХАРОВ ВЗРОСЛЫМИ И ДЕТЬМИ (2015)

## Рекомендации

- ВОЗ рекомендует поддерживать сниженные уровни потребления свободных сахаров на протяжении всей жизни (сильная рекомендация)
- ВОЗ рекомендует снизить уровни потребления свободных сахаров как взрослыми, так и детьми до менее 10% от общей калорийности потребляемых продуктов (сильная рекомендация)
- ВОЗ предлагает дальнейшее снижение уровней потребления свободных сахаров до менее 5% от общей калорийности потребляемых продуктов (условная рекомендация)

## Примечания

- Свободные сахара включают моносахариды и дисахариды, добавляемые в пищевые продукты и напитки изготовителем, поваром или потребителем, и сахара, которые от природы присутствуют в меде, сиропах, фруктовых соках и концентратах фруктовых соков
- Свободные сахара включают моносахариды и Страны с низкими уровнями потребления свободных сахаров не должны повышать уровни их потребления. Повышенные уровни потребления свободных сахаров создают угрозу для питательного качества пищевого рациона путем обеспечения значительного количества калорий при отсутствии конкретных питательных веществ (3)
- Свободные сахара включают моносахариды и Повышение или снижение уровней потребления свободных сахаров связано с параллельными изменениями массы тела, и эта связь наблюдается независимо от уровня потребления свободных сахаров. Избыточная масса тела, связанная с потреблением свободных сахаров, образуется в результате потребления излишних калорий
- Свободные сахара включают моносахариды и Рекомендация в отношении ограничения потребления свободных сахаров на уровне менее 10% от общей калорийности потребляемых продуктов основана на фактических данных среднего качества, полученных в результате проведения обсервационных исследований зубного кариеса

# РАЦИОНАЛЬНЫЕ НОРМЫ ПОТРЕБЛЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ПО ДАННЫМ МЗ РФ (2015)

Наименование пищевых продуктов	Рекомендованные нормы потребления кг/год/чел
Хлебные продукты (хлеб и макаронные изделия в пересчете на муку, мука, крупы, бобовые)	96
Картофель	90
Овощи и бахчевые	140
Фрукты свежие	100
<b>Сахар</b>	<b>24 кг/год/чел</b>
Мясопродукты	76
Рыбопродукты всего	24
Молоко и молокопродукты всего в пересчете на молоко, в том числе:	340
Сыр	6
Яйца (штук)	270
Масло растительное	7
Соль поваренная	4



По данным Росстата за 2021 год

Сахар, включая кондитерские изделия  
в пересчете на сахар в том числе:

• сахар	30,2
• конфеты шоколадные, шоколад	15,0
• другие кондитерские изделия	5,6
• мед пчелиный	4,1
• варенье, джем, повидло	1,0



**30,2 кг на человека в год (83 г в сутки)**

Федеральная служба государственной статистики  
Потребление продуктов питания в домашних хозяйствах  
в 2021 году по итогам Выборочного обследования  
бюджетов домашних хозяйств // Москва, 2022г.



## По данным Роспотребнадзора

### О сахаре в продуктах питания



#### Сколько мы едим сахара

107 г в сутки или 39 кг в год на человека



#### В каких продуктах уже есть сахар

1 столовая ложка кетчупа - 4 грамма (около 1 чайной ложки) сахара  
1 банка сладкой газировки - до 40 граммов (около 10 чайных ложек) сахара



#### Почему сахар вреден для детей

Дети с максимальным потреблением сахаросодержащих напитков чаще страдают избыточным весом или ожирением



#### Сколько можно есть сахара

Менее 10% от суммарного энергопотребления



#### Что такое естественный сахар

- Естественный сахар содержится в цельных фруктах
- Естественный сахар есть в овощах и молочных продуктах, но он не представляет угрозы для здоровья человека
- Сладкие фрукты компенсируют обилие фруктозы и глюкозы клетчаткой, витаминами и минералами и имеют низкую энергетическую плотность



#### Сколько можно есть сахара

- внимательно читайте этикетку
- обращайте внимание на калорийность
- как можно реже питайтесь готовой едой и полуфабрикатами



#### Эквивалентные сахару ингредиенты в продуктах

- ячменный солод
- кукурузный подсластитель
- кристаллическая фруктоза
- мальтодекстрин
- мальтоза

39 кг на человека  
в год (107 г в сутки)

Роспотребнадзор  
РЕКОМЕНДАЦИИ ГРАЖДАНАМ:  
О сахаре в продуктах питания  
[\[Электронный ресурс\]](#)

# СЛАДКИЕ БЕЛКИ – ПОЛЕЗНАЯ АЛЬТЕРНАТИВА САХАРУ

Сладкие белки – белковые молекулы, которые в природе содержатся в небольшом количестве в некоторых фруктах экваториального пояса

Они слаще сахара в 800 - 3 000 раз, но при этом не приводят к повышению уровня глюкозы в крови



## БРАЗЗЕИН

Пентадипландра



## МОНЕЛЛИН

Ягода серендипи



## ТАУМАТИН

Плод катемфе

Экстракция натуральных сладких белков экономически нецелесообразна.

Поэтому компания разработала технологию биотехнологического способа производства





# УЧАСТНИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ СЛАДКИХ БЕЛКОВ

01

Научно-исследовательский  
центр «Фармбиомед»

02

Федеральный научно-клинический  
центр физико-химической медицины  
им. Ю.М. Лопухина ФМБА России

03

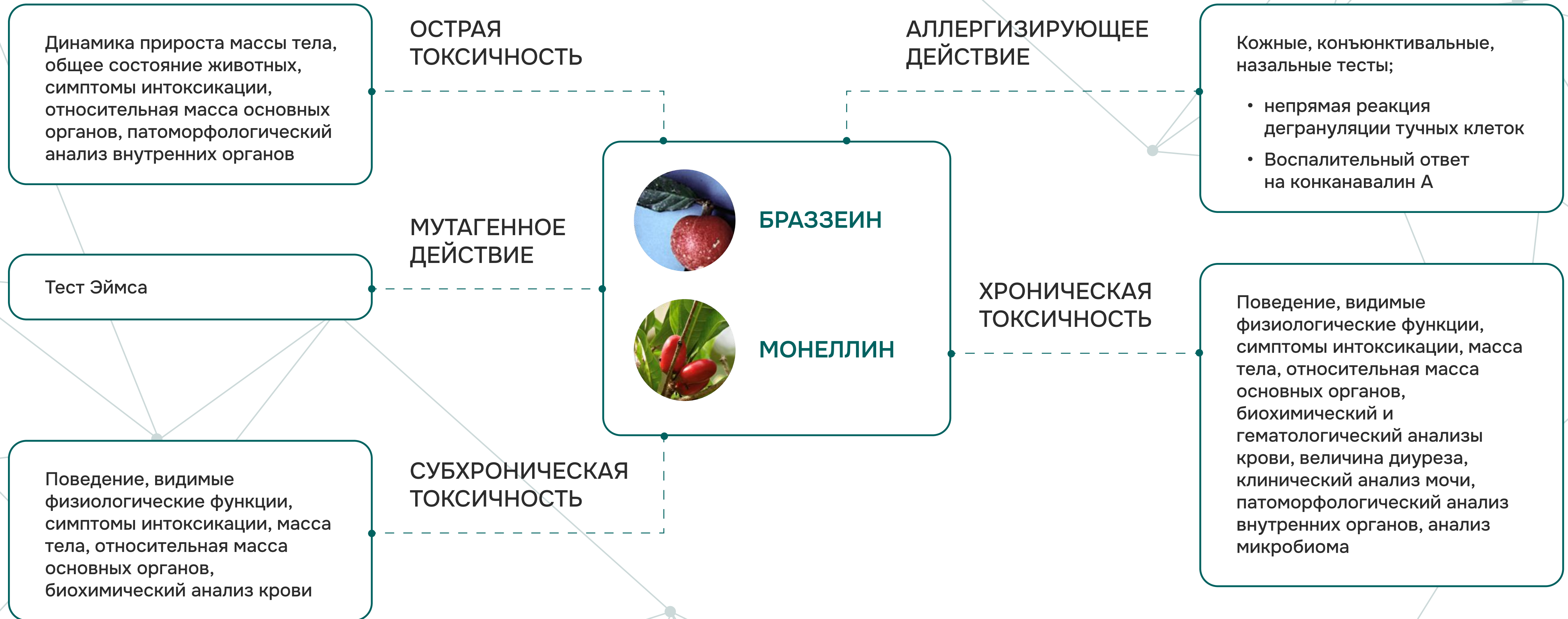
Московский государственный  
медико-стоматологический  
университет имени А.И. Евдокимова

04

Научно-исследовательский институт  
физико-химической биологии им. А.Н.  
Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова



# ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ СЛАДКИХ БЕЛКОВ







Article

## Sweet-Tasting Natural Proteins Brazzein and Monellin: Safe Sugar Substitutes for the Food Industry

Tamara S. Novik<sup>1</sup>, Elena I. Koveshnikova<sup>1</sup>, Anatoly A. Kotlobay<sup>2</sup>, Lyudmila P. Sycheva<sup>3</sup>, Karine G. Kurochkina<sup>1</sup>, Olga A. Averina<sup>4</sup>, Maria V. Belopolskaya<sup>5</sup>, Petr V. Sergiev<sup>4</sup>, Olga A. Dontsova<sup>4</sup>, Vassili N. Lazarev<sup>2</sup>, Igor V. Maev<sup>6</sup>, Margarita G. Kostyaeva<sup>7</sup>, Artem V. Ereemeev<sup>2</sup>, Svetlana I. Chukina<sup>1</sup> and Maria A. Lagarkova<sup>2,\*</sup>

- Scientific Research Centre Pharmed, Selskohozjajstvennaja Str., 12a, Moscow 129226, Russia; novik.tamara@mail.ru (T.S.N.); koveshnikova.e.i@yandex.ru (E.I.K.); kar.kur.49@yandex.ru (K.G.K.); feruza7491@mail.ru (S.I.C.)
  - Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Malaya Pirogovskaya Str. 1a, Moscow 119435, Russia; an\_kotlobay@rcpcm.org (A.A.K.); lazar@mail.ru (V.N.L.); art-eremeev@yandex.ru (A.V.E.)
  - Bumasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Zhivopisnaya Str., 46, Moscow 123182, Russia; lpsycheva@mail.ru
  - A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1, Moscow 119991, Russia; averina.olga.msu@gmail.com (O.A.A.); petya@genebee.msu.ru (P.V.S.); olga.a.dontsova@gmail.com (O.A.D.)
  - Institute of Mitoengineering MSU, Leninskie Gory 1, Moscow 119991, Russia; belopolskaya@yandex.ru
  - Department of Propaedeutics of Internal Diseases and Gastroenterology, Moscow State University of Medicine and Dentistry, Delegatskaya St. 20/1, Moscow 103473, Russia; igormaev@rambler.ru
  - Faculty of Medicine, Peoples Friendship University of Russia Named after Patrice Lumumba, Miklukho-Maklaya Str.6, Moscow 117198, Russia; kostyaeva.71@mail.ru
- \* Correspondence: lagar@rcpcm.org



Citation: Novik, T.S.; Koveshnikova, E.I.; Kotlobay, A.A.; Sycheva, L.P.; Kurochkina, K.G.; Averina, O.A.; Belopolskaya, M.V.; Sergiev, P.V.; Dontsova, O.A.; Lazarev, V.N.; et al. Sweet-Tasting Natural Proteins Brazzein and Monellin: Safe Sugar Substitutes for the Food Industry. *Foods* 2023, 12, 4065. <https://doi.org/10.3390/foods12224065>

Academic Editor: Jayani Chandrapala

Received: 4 October 2023  
Revised: 1 November 2023  
Accepted: 3 November 2023  
Published: 8 November 2023

**Abstract:** This article presents the results of a comprehensive toxicity assessment of brazzein and monellin, yeast-produced recombinant sweet-tasting proteins. Excessive sugar consumption is one of the leading dietary and nutritional problems in the world, resulting in health complications such as obesity, high blood pressure, and cardiovascular disease. Although artificial small-molecule sweeteners widely replace sugar in food, their safety and long-term health effects remain debatable. Many sweet-tasting proteins, including thaumatin, miraculin, pentadin, curculin, mabinlin, brazzein, and monellin have been found in tropical plants. These proteins, such as brazzein and monellin, are thousands-fold sweeter than sucrose. Multiple reports have presented preparations of recombinant sweet-tasting proteins. A thorough and comprehensive assessment of their toxicity and safety is necessary to introduce and apply sweet-tasting proteins in the food industry. We experimentally assessed acute, subchronic, and chronic toxicity effects, as well as allergenic and mutagenic properties of recombinant brazzein and monellin. Our study was performed on three mammalian species (mice, rats, and guinea pigs). Assessment of animals' physiological, biochemical, hematological, morphological, and behavioral indices allows us to assert that monellin and brazzein are safe and nontoxic for the mammalian organism, which opens vast opportunities for their application in the food industry as sugar alternatives.



TYPE Original Research  
PUBLISHED 21 March 2024  
DOI 10.3389/fnut.2024.1362529



### OPEN ACCESS

EDITED BY  
Pauline M. Anton,  
UnilLaSalle, France

REVIEWED BY  
Aleksandra Maria Kocot,  
University of Gdansk, Poland  
Zhengze Li,  
North Dakota State University, United States

\*CORRESPONDENCE  
Maria A. Lagarkova  
lagar@rcpcm.org

RECEIVED 28 December 2023  
ACCEPTED 11 March 2024  
PUBLISHED 21 March 2024

CITATION  
Veselovsky VA, Boldyreva DI, Olekhovich EI, Klimina KM, Babenko VV, Zakharevich NV, Larin AK, Morozov MD, Zoruk PY, Sergiev PV, Dontsova OA, Maev IV, Novik TS, Kotlobay AA, Lazarev VN and Lagarkova MA (2024) Effect of the consumption of brazzein and monellin, two recombinant sweet-tasting proteins, on rat gut microbiota. *Front. Nutr.* 11:1362529. doi: 10.3389/fnut.2024.1362529

COPYRIGHT  
© 2024 Veselovsky, Boldyreva, Olekhovich, Klimina, Babenko, Zakharevich, Larin, Morozov, Zoruk, Sergiev, Dontsova, Maev, Novik, Kotlobay, Lazarev and Lagarkova. This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

## Effect of the consumption of brazzein and monellin, two recombinant sweet-tasting proteins, on rat gut microbiota

Vladimir A. Veselovsky<sup>1</sup>, Daria I. Boldyreva<sup>1</sup>, Evgenii I. Olekhovich<sup>1</sup>, Ksenia M. Klimina<sup>1</sup>, Vladislav V. Babenko<sup>1</sup>, Natalia V. Zakharevich<sup>1</sup>, Andrey K. Larin<sup>1</sup>, Maxim D. Morozov<sup>1</sup>, Polina Y. Zoruk<sup>1</sup>, Petr V. Sergiev<sup>2</sup>, Olga A. Dontsova<sup>2</sup>, Igor V. Maev<sup>3</sup>, Tamara S. Novik<sup>4</sup>, Anatoly A. Kotlobay<sup>1</sup>, Vassili N. Lazarev<sup>1</sup> and Maria A. Lagarkova<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Lopukhin Federal Research and Clinical Centre of Physical-Chemical Medicine, Moscow, Russia, <sup>2</sup>A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, <sup>3</sup>Department of Propaedeutics of Internal Diseases and Gastroenterology, Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia, <sup>4</sup>Scientific Research Centre Pharmed, Moscow, Russia

Sweet-tasting proteins (SPs) are proteins of plant origin initially isolated from tropical fruits. They are thousands of times sweeter than sucrose and most artificial sweeteners. SPs are a class of proteins capable of causing a sweet taste sensation in humans when interacting with the T1R2/T1R3 receptor. SP thaumatin has already been introduced in the food industry in some countries. Other SPs, such as monellin and brazzein, are promising products. An important stage in researching SPs, in addition to confirming the absence of toxicity, mutagenicity, oncogenicity, and allergenic effects, is studying their influence on gut microbiota. In this paper we describe changes in the composition of rat gut microbiota after six months of consuming one of two recombinant SPs—brazzein or monellin. A full length 16S gene sequencing method was used for DNA library barcoding. The MaAsLin2 analysis results showed noticeable fluctuations in the relative abundances of *Anaerocella delicata* in brazzein-fed rat microbiota, and of *Anaerotruncus rubiinfantis* in monellin-fed rat microbiota, which, however, did not exceed the standard deviation. The sucrose-fed group was associated with an increase in the relative abundance of *Faecalibaculum rodentium*, which may contribute to obesity. Overall, prolonged



# ЧТО БУДЕТ, ЕСЛИ ЖИВОТНЫЕ СЪЕДЯТ СРАЗУ ОЧЕНЬ МНОГО СЛАДКОГО БЕЛКА?

Группа	Вид, пол животных	Кол-во животных в группе на каждую дозу	Препарат	Дозы	Режим введения
1	крысы-самцы и крысы-самки массой 180-210 г	6	Браззеин/монелин	несколько доз	внутрижелудочно, однократно
2	мыши-самцы и мыши-самки массой 18-21 г	10	Браззеин/монелин	несколько доз	внутрижелудочно, однократно
3	крысы-самцы и крысы-самки массой 180-210 г	6	дистиллированная вода	в максимальном сравнимом объеме	внутрижелудочно, однократно
4	мыши-самцы и мыши-самки массой 18-21 г	10	дистиллированная вода	в максимальном сравнимом объеме	внутрижелудочно, однократно

При оценке острой токсичности животные находились под непрерывным наблюдением первые 30 мин, затем ежедневно до 4 часов, далее через 24 часа. Затем наблюдения проводили раз в сутки. Длительность наблюдений в остром опыте составляет 14 суток

**Примечание:** было еще две группы из 6 крыс и 10 мышей, которым вводилась сахароза в эквивалентной дозе для сравнения динамики прироста массы тела и массовых коэффициентов с соответствующими опытными и контроль-ными группами

# ВЫВОДЫ ИЗ ЭКСПЕРИМЕНТА ПО ОЦЕНКЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ СЛАДКИХ БЕЛКОВ:

01

Доза 5000 мг/кг для животных двух видов была максимальной испытанной дозировкой

02

Она приближалась к дозе, максимально возможной для внутрижелудочного введения животным

03

При введении дозы 5000 мг/кг крысам и мышам обоего пола отсутствовала не только гибель, но и какие-либо симптомы интоксикации



# ВЫВОДЫ ИЗ ЭКСПЕРИМЕНТА ПО ОЦЕНКЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ СЛАДКИХ БЕЛКОВ:

С учетом отсутствия гибели крыс и симптомов интоксикации, данных по динамике прироста массы тела, результатов определения массовых коэффициентов органов, гематологических и биохимических показателей, показателей диуреза и анализа мочи, постановки поведенческих тестов, а также макро- и микроскопического исследования органов и тканей можно прийти к заключению, что препараты сладких белков монелина и браззеина при ежедневном внутрижелудочном введении в течение 150 суток в дозах ЭДкрысы и 10ЭД крысы не оказывают токсических эффектов на крыс.

Крысы не проявили половой чувствительности к испытываемому препарату при многократном и длительном внутрижелудочном введении.

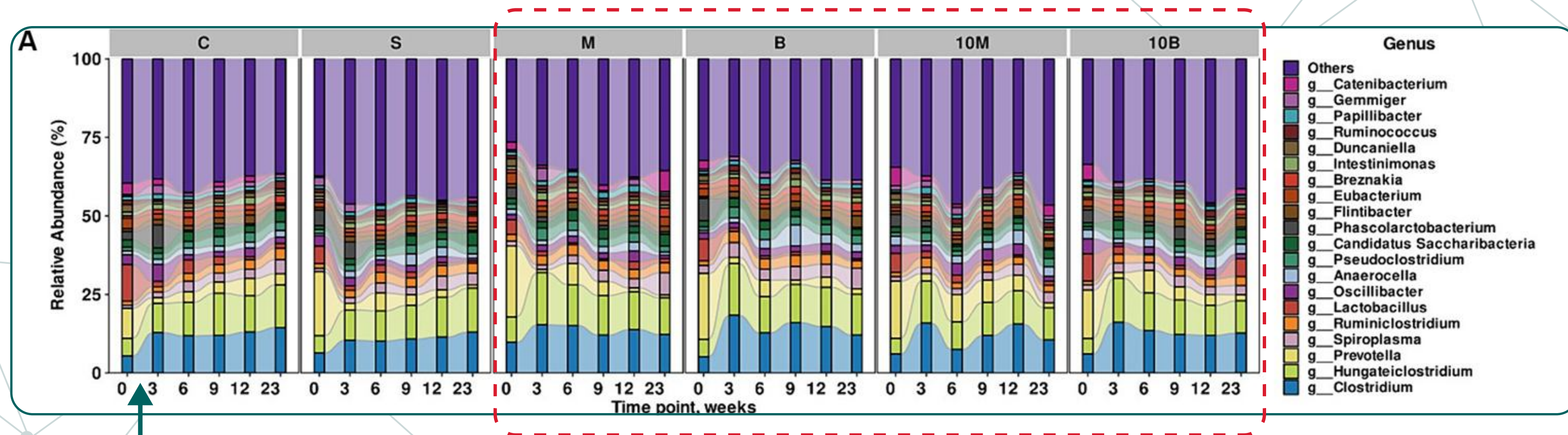
Сладкие белки не оказали отрицательного влияния на морфологические показатели состояния сперматогенеза и оогенеза у крыс.

Сладкие белки в двух тестированных дозах не оказали местно-раздражающего действия при многократном пероральном введении на слизистые желудочно-кишечного тракта.





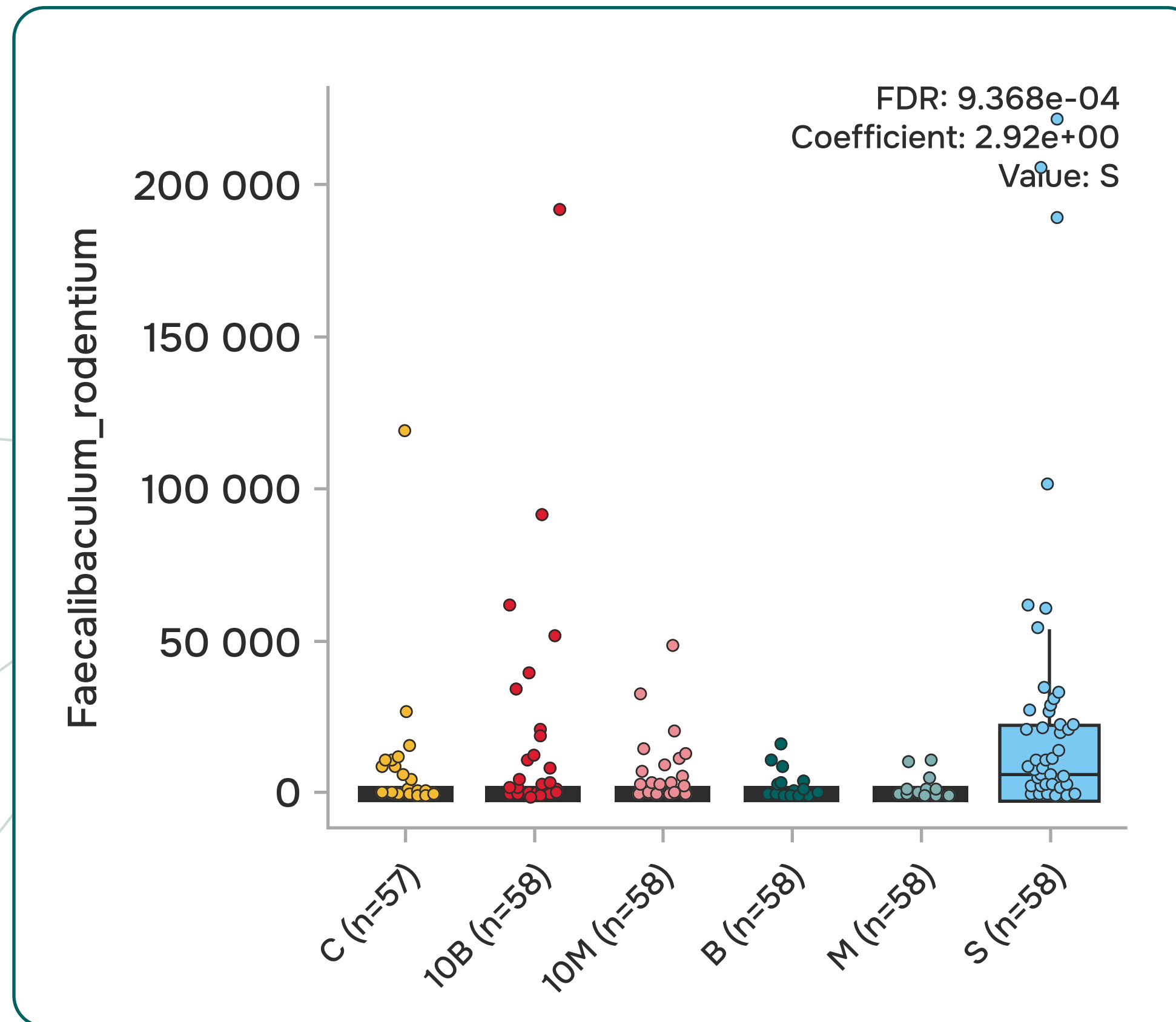
# ВЛИЯЕТ ЛИ УПОТРЕБЛЕНИЕ СЛАДКИХ БЕЛКОВ НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА?



Наибольшее изменение бактериального состава связано с изменением условий содержания животных, независимо от потребления целевых веществ



# ВЛИЯЕТ ЛИ УПОТРЕБЛЕНИЕ СЛАДКИХ БЕЛКОВ НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА?



В микробиоме группы крыс, получавших сахарозу, наблюдалось увеличение относительной численности *Faecalibaculum rodentium* – бактерии, ассоциированной с ожирением

# ВЫВОД ИЗ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ (ВСЕХ МИКРООРГАНИЗМОВ) КИШЕЧНИКА КРЫС, КОТОРЫЕ ПОЛУЧАЛИ СЛАДКИЕ БЕЛКИ

Длительное употребление сладких белков браззеина и монелина не привели к существенному изменению микробиоты или к появлению условно-патогенной микрофлоры. Это является дополнительным доказательством безопасности этих потенциальных подсластителей