

РАЗРАБОТКА МЕТОДА МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Гуцал В.В.

Кыргызский государственный университет, Бишкек, Кыргызстан

Аннотация: Рассмотрены вопросы разработки микрокапсул, изготовленные из биополимера и не содержащие в своем составе запрещенных или опасных веществ.

Ключевые слова: продукт, штамм, микроорганизм, микрофлора, дисбактериоз, бифидобактерия, микрокапсулированные бактерии, желудочно-кишечный тракт.

DEVELOPMENT OF A MICROENCAPSULATION METHOD PROBIOTIC MICROORGANISMS

Gutsal V.V.

Kyrgyz state University, Bishkek, Kyrgyzstan, ekkr.info@gmail.com

Annotation: The issues of developing microcapsules made of biopolymer and not containing prohibited or dangerous substances in their composition are considered.

Key words: product, strain, microorganism, microflora, dysbiosis, gastrointestinal tract, bifidobacteria, microencapsulated bacteria.

Для коррекции болезненных состояний, связанных с дисбактериозом, в медицинской практике широко применяются различные препараты, созданные на основе живых штаммов микроорганизмов, входящих в состав нормальной микрофлоры кишечника человека. Известно, что пробиотики – это бактерии группы *Lactobacillus* (*L.aci-dophilus*, *L.fermentum*, *L.plantarum*, *L.bulgaricum*, *L.rhamnosus*, *L.casei*, *L.thermophilus* и др. различных штаммов), а так же бактерии рода *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, которые являются важными представителями нормальной микрофлоры человека и могут быть использованы в виде лекарственных препаратов перорального введения для лечения различных стадий дисбактериоза.

Дисбактериозы, характеризующиеся значительным снижением, либо полным отсутствием в кишечнике «дружественной микрофлоры» и сопровождающиеся нарушением процессов пищеварения, снижением иммунитета и другими многочисленными нарушениями в деятельности организма, стали повсеместно распространенной патологией. Одним из путей решения этой чрезвычайно актуальной проблемы является массовое и регулярное употребление кисломолочных продуктов, содержащих живую пробиотическую микрофлору, способную заселить кишечник и обеспечить лечебно-профилактическую активность в отношении желудочно-кишечных заболеваний. Самыми активными пробиотиками являются бифидобактерии и ацидофильная палочка, которые явились объектами исследования.

По прогнозам ведущих специалистов, в области питания и медицины, в ближайшие 15-20 лет доля пробиотиков и продуктов функционального питания достигнет 30% соответствующего сегмента мирового рынка. При этом они на 35-50% вытеснят из сферы реализации многие традиционные лекарственные препараты в арсенале профилактической и восстановительной медицины. Хотя для производства пробиотиков и продуктов функционального питания используются представители различных родов микроорганизмов, наиболее распространенными и популярными в настоящее время являются препараты различного назначения на основе лакто- и бифидобактерий.

Однако, применение микрокапсулированных бактерий имеет очень большое преимущество по сравнению со свободными формами. Так доказано, что при использовании микрокапсулированных форм бактерий, выживаемость их в ходе

нахождения в желудочно-кишечном тракте составляет от 50 и более процентов, вплоть до 90%. Обычные пероральные препараты показывают выживаемость инжестируемых микроорганизмов 2-5 и менее процентов [1].

Во-первых, микрокапсулированная форма, полученная с использованием ацидорезистентных полимеров, устойчива к действию соляной кислоты желудочного сока. Это важно для пероральных препаратов микрокапсулированных бактерий, которые должны достичь нижних отделов тонкого кишечника, где происходит разрушение оболочек микрокапсул с последующим заселением бактериями слизистой толстого кишечника.

Во-вторых, микрокапсулированная форма при введении в организм разрушается постепенно и обеспечивает продолжительное поступление бактерий в окружающую среду. Конкуренция за субстрат снижается в точке выхода бактерий и обеспечивается лучшая колонизация слизистых оболочек.

В последнее время различные исследователи уделяют большое внимание использованию микрокапсулированных форм бактериальных препаратов.

Известные методы покрытия микроорганизмов искусственными полимерами медицинского назначения обладают одним важным недостатком – использованием в технологическом процессе органических растворителей, токсичных для микроорганизмов [2]. Проблема недостаточного потребления населением продуктов с пробиотическими культурами, актуальна для стран СНГ, в том числе и для Кыргызстана. В развитых странах СМИ и государственные службы активно пропагандируют включение в питание населения как можно большего количества продуктов питания, содержащих полезную микрофлору. Причем уже сейчас доля микрокапсулированных форм лактокультур на общем рынке составляет более 50%, что еще раз доказывает большую эффективность данной лекарственной формы. Доля микрокапсулированных форм пробиотиков на рынке неуклонно растет, подсчитано, что через 5-6 лет их доля составит более 90% от общего объема рынка. В вопросе потребления продуктов питания, содержащих про-биотические микроорганизмы, Кыргызстан далеко отстал от стран Европы и США. Для укрепления и поддержания здоровья нации необходимо увеличить потребление пробиотиков населением. Проблему увеличения количества продуктов с пробиотиками можно решить лишь всеобщей фортификацией продуктов питания. Для осуществления успешной работы по фортификации необходима доступная и дешевая технология введения микрокапсулированной формы пробиотиков в продукты питания. До настоящего времени такая технология в нашей стране отсутствовала в виду необходимости использования дорогостоящего оборудования и специальных материалов для создания микрокапсул и сложных устройств, позволяющих разместить пробиотические микроорганизмы в них.

Целью данной работы была разработка надежного, дешевого и удобного метода микрокапсулирования пробиотических микроорганизмов без использования химически опасных соединений и сложных технологических приемов. Биополимер, который образует оболочку микрокапсулы, не имеет предельно допустимого количества потребления и по пищевой классификации государств ЕС может быть потреблен в неограниченном количестве. Разработанный способ позволяет получать микрокапсулы с различным диаметром. Аппарат для получения микрокапсул может настраиваться и производить микрокапсулы размером от $1,4 \cdot 10^4$ до $4 \cdot 10^6$ нм, в количестве, достаточном для внедрения его в будущем на технологических линиях по производству продуктов питания. На рис.1 изображены микрокапсулы, полученные с помощью микрокапсулирующего аппарата. Как видно из рисунка, аппарат дает возможность получения микрокапсул различного диаметра. Диаметр получаемых микрокапсул определяется видом продукта, куда они вводятся. Сейчас разрабатываются рецептуры различных молочных продуктов, в состав которых будут входить микро-капсулированные пробиотики. Новые продукты будут чрезвычайно полезными вследствие синергетического эффекта пробиотиков с входящими в состав продукта различными ребиотиками.

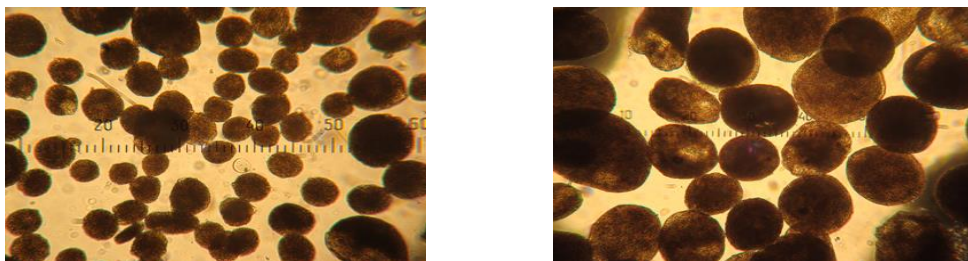


Рис.1. Микрокапсулы из ацидореzистентного биополимера с бифидобактериями (цена деления 30мкм)

Стойкость ацидореzистентного полимера определялась по его способности растворяться в среде с различным уровнем рН. Так, проводились исследования полученных микрокапсул на способность растворяться в течение 30 минут при различных значениях рН. Т.к. полученные микрокапсулы – полупрозрачны, то для облегчения наблюдения за их растворимостью в средах, в их состав был введен краситель, который окрасил микрокапсулу в контрастный цвет. В ходе растворения в среде, микрокапсула образовывала окрашенное пятно, диаметр которого был прямо пропорционален степени и скорости растворения микрокапсулы в среде с заданным значением рН. По полученным данным установлена зависимость растворимости микрокапсул от значения рН (рис. 2).



Рис. 2. Растворимость микрокапсул в средах с различными значениями рН в течении 30 минут

Как видно из рис. 2, биополимер проявляет стойкость в средах со значением рН меньше 7. Это свойство является очень важным, т.к. микрокапсулы должны быть стойкими в среде желудка с низким значением рН для защиты инкапсулированных микроорганизмов от кислоты.

Для кишечника человека в среднем характерно значение рН=7.5, поэтому скорость высвобождения содержимого микрокапсулы была исследована при данном значении рН в течение определенного отрезка времени (Рис. 3.).

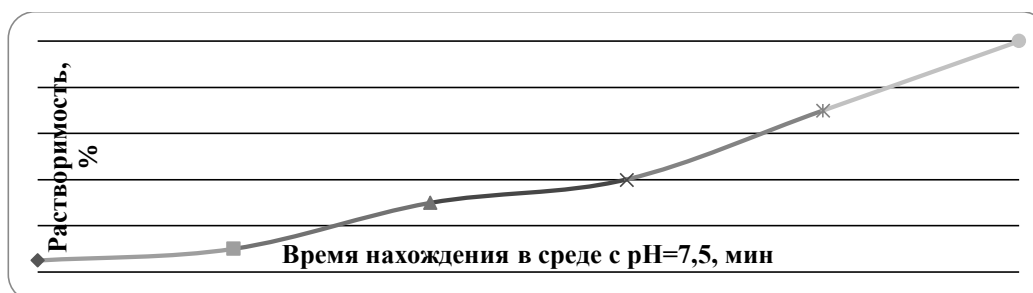


Рис. 3. Динамика изменения растворимости микрокапсул при заданном значении рН

Из рис.3 видно, что микрокапсулы хорошо растворяются при $pH=7.5$. В течение первых 30-ти минут, биополимер набухает и восстанавливает свою гидратную оболочку. За последующие 30 минут, происходит полная десорбция молекул полимера, и превращение их под действием щелочи в водорастворимые соединения. Для производства микрокапсул с пробиотическими микроорганизмами в качестве пробиотика были выбраны бифидобактерии (*Bifidobacterium animalis subsp. lactis*) коммерческого пробиотического средства – «Бифидум-бактерин». Также в качестве инкапсулируемых бактерий были взяты различные виды молочнокислых бактерий. Лактобактерии также являются пробиотическими, поэтому инкапсулирование их как индикаторных микроорганизмов можно считать полностью целесообразным. Для создания условий схожих с условиями в желудке человека, микроорганизмы подвергались обработке соляной кислотой при постоянном перемешивании в течение 30 минут при кислотности среды $pH=1,5$ (средняя кислотность желудка человека). Для выявления жизнеспособности микроорганизмов в микрокапсулированной и свободной формах, количество микроорганизмов в исходном образце (контроле), не подвергнутом обработке соляной кислотой, было принято за 100% (89 колоний). Обработанные кислотой образцы были нейтрализованы до $pH=7,5$ и высеяны на питательную среду с последующим подсчетом выращенных колоний. В результате посева на питательную среду (агар с гидролизированным молоком и мелом), подсчитанное количество колоний в микрокапсулированном образце составило 72 шт. или 84,7% от общего количества колоний, выращенных в контрольном образце. Образец со свободными лактобактериями показал результат выживаемости только 10,1% (9 колоний, рис.4.).

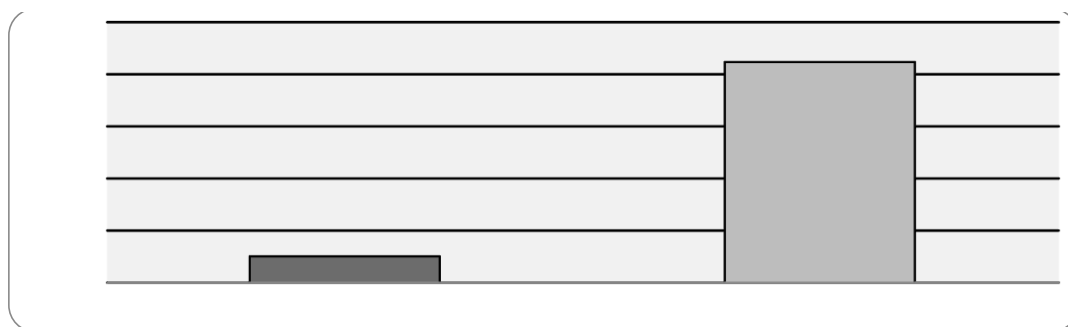


Рис. 4. Выживаемость свободных (1) и микрокапсулированных (2) микроорганизмов в условиях желудка человека

Экспериментальные данные, представленные на рис. 4, подтверждают, что микрокапсулирование является очень эффективным способом защиты пробиотических микроорганизмов от губительного воздействия на них желудочного сока.

Разработан новый, эффективный способ инкапсулирования пробиотических микроорганизмов, с целью надежной защиты их в условиях желудка человека. Микрокапсулы легко растворяются в среде кишечника, высвобождая бактерии, которые адсорбируются на его стенках, тем самым улучшая состав микрофлоры, предотвращая дисбактериоз и его проявления.

Использованная литература

1. A.M. Liserre, Maria Ines Re, Bernandette D.G.M. Franco. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions//Food Biotechnology. 2007. – Vol.21, – N1. –P.1-16.
2. Солодовник В.Д. Микрокапсулирование. – М., 1980. – С.201-203.

