



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **138809** (13) **U**  
(51) МПК (2019.01)  
**A61K 9/50** (2006.01)  
**A61K 35/74** (2015.01)  
A61P 1/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2019 05453</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>21.05.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.12.2019</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.12.2019, Бюл.№ 23</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Юргачова Катерина Георгіївна (UA), Коркач Ганна Володимирівна (UA), Шевцова Діана Павлівна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)</b></p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ МІКРОКАПСУЛ З ЛАКТО- АБО БІФІДОБАКТЕРІЯМИ**

**(57) Реферат:**

Спосіб одержання мікрокапсул з лакто- або біфідобактеріями включає приготування розчину гелеутворюючої речовини, введення мікроорганізмів в розчин гелеутворюючої речовини, додавання до отриманої суміші розчину кальцію хлориду і наступну витримку мікрокапсул, що утворилися. Спочатку окремо готують 2-2,5 мас. % водний розчин низькоетирифікованого пектину та кислотний розчин, який містить 2-2,5 мас. % хітозану і 30-35 мас. % оцтової кислоти. Одержані розчини змішують і до суспензії, що утворилась, додають 3-4 мас. % бактеріального концентрату *Bifidobacterium Bifidum* або *Lactobacillus plantarum* в концентрації  $10^7$ - $10^9$  КУО/г і 22-25 мас. % води. Отриману суміш перемішують протягом 5-15 хв і додають 10 %-ий водний розчин кальцію хлориду. Суміш перемішують 5-15 хв і витримують протягом 30-45 хв. Процес здійснюють при температурі 32-38 °С.

UA 138809 U



Корисна модель належить до мікрокапсулювання і розкриває спосіб одержання мікрокапсул з лакто- або біфідобактеріями в оболонці, яка складається з суміші пектину та хитозану, які можуть використовуватись у харчовій промисловості, зокрема в кондитерській галузі.

Відомо винахід за патентом RU 2598736 C2, МПК А61К 9/50, А61К 35/48, А61Р 3/10, опубл. 27.09.2016) "Способ микроинкапсулирования клеток сертоли, получаемые микрокапсулы и их применение для предотвращения и лечения сахарного диабета 1 типа". Винахід належить до способу отримання мікрокапсул на основі гідрогелю, що містять клітини сертолі, як оболонки яких використовується натрію альгінат в концентрації від 1 до 5 % мас/об. Недоліком даного способу є використання досить високої концентрації клітин сертолі (більше 90 %) в сольовому розчині альгінату натрію, що ускладнює процес мікрокапсулювання і призводить до утворення мікрокапсул неправильної форми і їх злипання.

Відома міжнародна заявка (WO 03018186, МПК А23L 1/00, А23L 1/0532, А23L 1/30, А61К 9/20, А61К 9/50, А61К 47/04, опубл. 2003.03.06) "Stable coated microcapsules", що належить до способу отримання мікрокапсул з Са-альгінатним покриттям, що містять ліпофільні компоненти. Спосіб є досить близьким аналогом винаходу, проте не йдеться про контрольоване вивільнення інкапсульованої ліпофільної речовини в умовах шлунково-кишкового тракту.

Відомо винахід (RU № 2287983, кл. А61К 9/58, А61К 47/36, В01J 2/00, 2006.11.27) "Способ получения оболочки для кишечнорастворимых полимерных капсул". У рішенні пропонується спосіб отримання модифікованої Са-альгінатної матриці і використання її як оболонку капсул, здатної розчинятися в середовищі кишечника, що забезпечує захист інкапсульованої речовини в умовах шлунка. Рішення не передбачає використання модифікуючих добавок (полісахаридів) до матриці, а також пробіотичних мікроорганізмів як інкапсулянту.

Найближчим аналогом корисної моделі, що заявляється, є спосіб іммобілізації мікроорганізмів за допомогою альгінату натрію. У цьому способі використовувалась суміш різних культур мікроорганізмів (*L. acidophilus*, *L. casei*, *B. bifidum*, и *B. Longum*) та альгінату натрію, яка вводилась у 0,1 М розчин  $\text{CaCl}_2$  крізь ігли з діаметром 0,11 мм. Отримані капсули мали розміри 0,5-1 мм у діаметрі. Потім капсули промивалися 0,1 % лептонним розчином і залишалися для зміцнення на 1 год. при 4 °С. [Jamilah M. Lakkis, Ph.D., Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems Blackwell Publishing 2007 p. 173].

Найближчий аналог і корисна модель, що заявляється, мають наступні спільні ознаки:

- приготування розчину гелеутворюючої речовини;
- введення мікроорганізмів у розчин гелеутворюючої речовини;
- перемішування отриманої суміші з розчином  $\text{CaCl}_2$ ;
- витримка капсул, що утворилися.

Але спосіб-найближчий аналог має суттєві недоліки, а саме:

- він не придатний до кондитерського виробництва, тому що утворені капсули мають великий розмір (0,5-1,0 мм);
- альгінат натрію має досить високу вартість, що впливає на собівартість технології;
- додатково використовується лептонний розчин, що також впливає на собівартість продукту;
- для вистоювання капсул використовують пониженою температуру 4 °С;
- для здійснення способу необхідне спеціальне обладнання для проведення екструзії.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити удосконалений спосіб одержання мікрокапсул з лакто- або біфідобактеріями, в якому шляхом використання природних, біодеградованих, органічних, нетоксичних полімерів забезпечити скорочення і спрощення технологічного процесу.

Поставлена задача вирішена способом одержання мікрокапсул з лакто- або біфідобактеріями, що включає приготування розчину гелеутворюючої речовини, введення мікроорганізмів в розчин гелеутворюючої речовини, додавання до отриманої суміші розчину кальцію хлориду і наступну витримку мікрокапсул, що утворилися. Згідно з корисною моделлю, спочатку окремо готують 2-2,5 мас. % водний розчин низькоетерифікованого пектину і кислотний розчин, що містить 2-2,5 мас. % хитозану і 30-35 мас. % оцтової кислоти, одержані розчини змішують і до суспензії, що утворилась, додають 3-4 мас. % бактеріального концентрату *B. bifidum* або *L. Plantarum* в концентрації  $10^7$ - $10^9$  КУО/г і 22-25 мас. % води, отриману суміш перемішують протягом 5-15 хв і додають 10 %-ий водний розчин кальцію хлориду, суміш перемішують 5-15 хв і витримують протягом 30-45 хв, при цьому процес здійснюють при температурі 32-38 °С.

Технічним результатом корисної моделі є скорочення і спрощення технологічного циклу, отримання мікрокапсул з природних, біодеградованих, органічних, нетоксичних полімерів, які зберігають структуру мікрокапсули і мають здатність до руйнування відповідно з вимогами до

кишковорозчинних оболонок мікрокапсул. Одержані мікрокапсули здатні доставити мікроорганізми в нижні відділи шлунково-кишкового тракту, де вони найбільш ефективно всмоктуються клітинами слизової, і забезпечити пролонговане, стабільне вивільнення лакто- та біфідобактерій.

5 Скорочення технологічного циклу при здійсненні запропонованого способу досягається за рахунок того, що мікрокапсули утворюються в результаті додавання суспензії мікроорганізмів і полімеру в розчин зшиваючого агента, при цьому операції екструзії не потрібно.

Наявність хітозану та пектину в складі полімерної оболонки мікрокапсул забезпечує формування оболонки поліелектролітичного комплексу на поверхні структури з можливим подальшим поширенням реакції між макромолекулами поліелектролітів углиб ядра, за рахунок цього застосування способу, згідно з корисною моделлю, дозволяє отримати мікрокапсули, які при технологічному процесі зберігають міцність, а також цілісність в моделюючому кислому середовищі шлунка і розчиняються в середовищі, яке моделює рН кишечника.

15 Як ліофілізовану культуру біфідобактерій використовують ліофілізований бактеріальний концентрат *B.Longum* в концентрації  $10^8$  КУО/г або ліофілізований бактеріальний концентрат *B.bifidum* в концентрації  $10^8$  КУО/г, або ліофілізований бактеріальний концентрат *L.plantarum* в концентрації  $10^9$  КУО/г або ліофілізований бактеріальний концентрат *L.fermentum* в концентрації  $10^9$  КУО/г. Спосіб не обмежується застосуванням зазначених в прикладах бактеріальних концентратів або їх сумішей в різних співвідношеннях, а також зазначеного в прикладах фізичного стану лакто- та біфідобактерій: мікроорганізми можуть бути використані як у ліофілізованому стані, так і в рідкій формі бактеріального концентрату.

Перевагами корисної моделі є:

- використання іншого полісахариду як речовини, що утворює захисну оболонку - низькоетирифікованого пектину та хітозану;
- 25 - зміна порядку виконання операцій, а саме - додавання розчину  $CaCl_2$  до суміші мікроорганізмів і гелеутворюючої речовини;
- температурний режим проведення операції 32-38 °С.

Перелічені відмітні ознаки дозволили забезпечити рівномірний розподіл полісахаридів та мікробних клітин до введення осаджуючої речовини -  $CaCl_2$ . Температурний режим способу підібрано експериментально. При зниженні температури <32 °С в'язкість розчину полісахаридів висока, що негативно впливає на хід рівномірного розподілення мікроорганізмів по всьому об'єму, а температура більше 40 °С негативно впливає на життєдіяльність біфідобактерій, тому була вибрана межа в 38 °С.

35 Спосіб здійснюється у наступному порядку: низькоетирифікований пектин у кількості 2-2,5 % до кінцевої маси суміші, завантажується у ємність мішалки з високими обертами робочого органа, до нього додається 30-35 % води та здійснюється перемішування протягом 5-15 хв. Паралельно готується розчин хітозану: хітозан у кількості 2-2,5 % до кінцевої маси суміші завантажується у ємність мішалки з високими обертами робочого органа, до нього додається 30-35 % 2%-ої оцтової кислоти, здійснюється перемішування протягом 5-15 хв. Одержані розчини з'єднуються і до одержаної суспензії вводиться біомаса мікроорганізмів в кількості 3-4 % до кінцевої маси суміші та додається 22-25 % води, після чого здійснюється перемішування суміші протягом 5-15 хв. В отриману суміш вводиться  $CaCl_2$  у вигляді водного розчину в кількості 3-4 % та води 29-33 %. Потім суміш перемішується протягом 5-15 хв, а в кінці процесу - витримується 30-45 хв для зміцнення захисних оболонок. Температура проведення процесу становить 32-38 °С.

45 Приклад 1. Одержали мікрокапсули з біфідобактеріями, як наведено вище. Для цього наважку низькоетирифікованого пектину 0,2 г перенесли у стакан магнітної мішалки і додавали 5 мл води. Отриману суміш перемішували протягом 10 хв. Паралельно готували розчин хітозану: наважку хітозану 0,2 г перенесли у стакан магнітної мішалки і додавали 5 мл 2 % оцтової кислоти. Суміш перемішували протягом 10 хв. В одержану суспензію внесли 1,5 г біомаси мікроорганізмів *Bifidobacterium Bifidum* і 10 мл води. Отриману суміш знову перемішували 10 хв, після чого вносили 10 мл 10 % розчину  $CaCl_2$  та продовжували перемішування протягом 10 хв. Після закінчення цих операцій суміш залишали на 30 хв у спокої для зміцнення мікрокапсул. Протягом всього процесу температуру суміші підтримували в межах 36±0,5 °С.

В отриманій суміші знаходяться мікрокапсули з мікроорганізмами та невелика кількість мікроорганізмів, які не були включені у мікрокапсули.

Приклад 2. Одержали мікрокапсули, як наведено у прикладі 1, але використовували суспензію *L.plantarum*.

Експериментальним підтвердженням утворення мікрокапсули є виживання мікроорганізмів в умовах впливу зовнішніх агресивних чинників. Природні полімери, які входять до складу оболонки мікрокапсули, є нетоксичними, біодеградованими матеріалами. Крім того, і пектин, і хітозан належать до пребіотиків. Застосування мікрокапсул для трансферу біфідобактерій через агресивні середовища шлунково-кишкового тракту людини у складі кондитерських виробів дозволить значною мірою підвищити ефективність їх застосування з метою профілактики дисбактеріозу кишечника людини.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання мікрокапсул з лакто- або біфідобактеріями, що включає приготування розчину гелеутворюючої речовини, введення мікроорганізмів в розчин гелеутворюючої речовини, додавання до отриманої суміші розчину кальцію хлориду і наступну витримку мікрокапсул, що утворилися, який **відрізняється** тим, що спочатку окремо готують 2-2,5 мас. % водний розчин низькоетирифікованого пектину і кислотний розчин, який містить 2-2,5 мас. % хітозану і 30-35 мас. % оцтової кислоти, одержані розчини змішують і до суспензії, що утворилась, додають 3-4 мас. % бактеріального концентрату *Bifidobacterium Bifidum* або *Lactobacillus plantarum* в концентрації  $10^7$ - $10^9$  КУО/г і 22-25 мас. % води, отриману суміш перемішують протягом 5-15 хв і додають 10 %-ий водний розчин кальцію хлориду, суміш перемішують 5-15 хв і витримують протягом 30-45 хв, при цьому процес здійснюють при температурі 32-38 °С.

---

Комп'ютерна верстка О. Рябко

---

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601