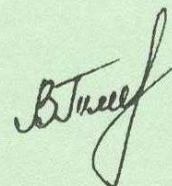


Автореферат
В 68

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

ВОЛОВИК ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА



УДК 602.4:[577.15:579.22]

**РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ІНКАПСУЛЮВАННЯ
ПРОБІОТИЧНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ**

Спеціальність 03.00.20 – біотехнологія (технічні науки)

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата технічних наук

Одеса – 2012

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеській національній академії харчових технологій
Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України.

Науковий керівник – доктор технічних наук, професор,
лауреат Державної премії України,
заслужений діяч науки і техніки України
Капрельянц Леонід Вікторович,
Одеська національна академія харчових технологій,
кафедра біохімії, мікробіології і фізіології харчування,
завідувач кафедри, проректор з наукової роботи
та міжнародних зв'язків.

Офіційні опоненти: – доктор технічних наук, доцент
Крусір Галина Всеволодівна,
Одеська національна академія харчових технологій,
кафедра екології харчових продуктів та виробництв,
завідувач кафедри;

– доктор біологічних наук, професор
Юкало Володимир Глібович,
Тернопільський національний
технічний університет імені Івана Пулюя,
кафедра харчової біотехнології та хімії,
завідувач кафедри.

Захист дисертації буде здійснено о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалі-
зованої комісії Одеської національної академії харчових те-
хнологій, вул. Канатна, 112 в ауд. А-234.

Дисертація захищена в Одеській національній академії харчових технологій,
вул. Канатна, 112.

ОНАХТ 29.01.13
Розробка технології



v018131



Г.М. Станкевич

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Сучасні умови життєдіяльності людини характеризуються постійним впливом несприятливих факторів, що впливають на стан та функціонування мікробіоценозу кишечника. Порушення мікробіоценозу приводять до формування різних патологічних станів, відбуваються кількісні і якісні зміни нормальної мікрофлори кишечника. У зв'язку із цим виникли питання щодо способів конструювання і відновлення оптимальної мікрофлори, тобто мікроекології та ендоекології макроорганізму. Особлива роль в цьому приділяється функціональним харчовим продуктам, які містять у своєму складі пробіотичні мікроорганізми, а саме лакто- і біфідобактерії та стимулятори їх життєдіяльності – пребіотики. Фундаментальні та клінічні дослідження з усією очевидністю свідчать про те, що незалежно від концентрації пробіотичних мікроорганізмів у функціональному продукті, по мірі проходження його через відділи кишечника на мікроорганізми діє ряд інактивуючих і несприятливих факторів, внаслідок чого в товстій кишці залишається недостатньо активна мікрофлора.

У зв'язку із цим актуальними є дослідження, пов'язані з розробкою нових способів підвищення стійкості мікроорганізмів до несприятливих умов. Найбільш перспективним напрямком у вирішенні цієї проблеми є іммобілізація бактеріальних клітин у гелеву матрицю шляхом інкапсулювання. До технології інкапсулювання проявляють все більший інтерес в галузі біотехнології, оскільки, окрім підвищення виживання пробіотичних культур в молочних продуктах і в умовах шлункового-кишкового тракту, вона сприяє захисту клітин від бактеріофагів, підвищенню їх виживання в процесах сушіння та заморожування, стабільності показників якості та підвищенню термінів придатності продуктів. Крім того, інкапсулювання пробіотичних культур забезпечує більшу стабільність клітин і високе продукування метаболітів.

Інкапсульовані пробіотичні культури можливо використовувати як для збагачення, так і при виробництві ферментованих молочних продуктів, таких як йогурт, сир, сметана, заморожені молочні десерти, а також для отримання біомаси стартових культур.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана згідно з держбюджетною тематикою науково-дослідних робіт Одеської національної академії харчових технологій «Розробка технології інкапсулювання пробіотичних мікроорганізмів» за номером держреєстрації 0108U004432 та за темою досліджень проблемної лабораторії Одеської національної академії харчових технологій 0112U000108 «Рослинні та мікробні полісахариди як об'єкт біотехнологічної модифікації», затвердженої наказом МОНмолодьспорту України № 1241 від 28.10.2011 р.

Мета і завдання досліджень. Метою дисертаційної роботи є розробка технології отримання захисної інкапсульованої форми пробіотичних культур.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- підібрати культури пробіотичних мікроорганізмів, поживні середовища і умови їх культивування для отримання заквашувального матеріалу;
- теоретично обґрунтувати та довести можливість використання низькоетерифікованого пектину як основи гелевої матриці інкапсульованих пробіотичних культур;
- розробити параметри отримання пектиновмісних гранул як захисної оболонки для молочнокислих мікроорганізмів;
- розробити умови отримання пробіотичних і синбіотичних інкапсульованих лакто- і біфідобактерій;
- дослідити ступінь виживання інкапсульованих пробіотичних і синбіотичних культур в умовах шлунково-кишкового тракту "in vitro";
- методом математичного моделювання обґрунтувати розмір гелевих гранул, отриманих на основі природних полісахаридів;
- розробити технологію отримання інкапсульованих пробіотиків і синбіотиків та на їх основі – комплект нормативних документацій;
- вивчити фізико-хімічні та мікробіологічні показники готової продукції в умовах зберігання;
- провести дослідження щодо застосування інкапсульованих форм пробіотичних культур у виробництві йогурту;
- провести промислово апробацію отримання нових видів інкапсульованих про- і синбіотичних біологічно активних добавок;
- провести розрахунок собівартості готової продукції.

Об'єкт дослідження: технології отримання нових біологічно активних добавок і на їх основі функціональних продуктів.

Предмет досліджень: пектин яблучний низькоетерифікований, польського виробництва; альгінат натрію (E 401) китайського виробництва; резистентний крохмаль Hi-maize 1043 компанії National Starch (США); молоко коров'яче знежирене (ГОСТ 13264-88); кукурудзяно-лактозне середовище наступного складу (г/дм³): лактоза – 10; пептон – 10 ; цитрат натрію – 6; аскорбінова кислота – 0,5; КН₂РО₄ – 2; MgSO₄ – 0,12; агар – 2; кукурудзяний екстракт – 30...40 см³, а також чисті культури лактобактерій (*Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402) і біфідобактерій (*Bifidobacterium bifidum*-1).

Методи дослідження: комплекс сучасних і традиційних, органолептичних, біохімічних, фізико-хімічних, технологічних і мікробіологічних методів дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів. Розроблено спосіб інкапсульювання пробіотичних мікроорганізмів і створення синбіотиків. Доведено, що пектин є носієм для іммобілізації мікроорганізмів. Установлено біосумісність інкапсулюючої речовини гранул з мікроорганізмами. Проведено інкапсульювання пробіотичних мікроорганізмів роду *Lactobacillus* і *Bifidobacterium* у природні полісахариди – пектин, резистентний крохмаль. Розроблено технології отримання біологічно активних добавок "Бактеформ-1", "Бактеформ-2" і "Синбіформ-1", "Синбіформ-2" та комплект документацій. Експериментально доведена можливість промислового виробництва біологічно активних добавок. Наукова новизна роботи підтверджена патентом України на корисну модель № 67465.

Практичне значення отриманих результатів. Комплекс даних і закономірностей, представлених у роботі, є основою для технології отримання пробіотиків і синбіотиків в інкапсульованій гелевій формі, що дозволяє регулювати їх біодоступність і біологічну активність до умов шлунково-кишкового тракту (ШКТ). За результатами проведених досліджень розроблено нормативну документацію (ТІ, ТУ). Розраховано економічну ефективність від впровадження у виробництво. Промислову апробацію отриманих біологічно активних добавок проводили на підприємстві НВП ТОВ «Аріадна» та на підприємстві ТОВ «Віньковецький сирзавод», провели випробування для виробництва йогурту, що містить розроблені біологічно активні добавки.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною роботою автора. Автором особисто розроблені біологічно активні добавки на основі інкапсульованих пробіотиків та синбіотиків, виконана аналітична і експериментальна робота, проведений аналіз і узагальнення отриманих результатів, сформульовано висновки і рекомендації, підготовлено матеріали досліджень до публікацій у вигляді статей, патентів і тез, розроблена нормативна документація, проведена промислова апробація розроблених технологій. Особистий внесок претендента підтверджується наданими документами і науковими публікаціями.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень доповідалися та обговорювалися на наступних наукових конференціях: III та IV всеукраїнських науково-практичних конференціях молодих учених і студентів "Проблеми формування здорового способу життя в молоді" (Одеса, 2010, 2011); V та VI міжнародних конференціях молодих учених "Біологія: від молекули до біосфери" (Харків 2010, 2011); II міжнародній науково-практичній конференції "Розвиток наукових досліджень" (Полтава, 2010); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених і студентів "Актуальні проблеми розвитку харчових виробництв, готельного, ресторанного господарства і торгівлі" (Харків, 2011); VI міжнародній науково-практичній конференції "Обладнання і технології харчових виробництв" (Донецьк, 2011); VII міжнародній науково-практичній конференції "Проблеми харчових технологій і харчування. Сучасні виклики та перспективи розвитку" (Донецьк, 2011); VII міжнародній науково-практичній конференції "Харчові технології 2011" (Одеса, 2011); Міжнародній науково-технічній конференції "Технічні науки: стан, досягнення і перспективи розвитку м'ясної, олієжирової та молочної галузей" (Київ, 2012); 71 і 72 наукових конференціях ОНАХТ (Одеса, 2011 і 2012).

Публікації. Результати дисертаційної роботи опубліковані в 13-ти публікаціях, з них 3 статті у фахових наукових виданнях, один деклараційний патент України на корисну модель, тези 9 доповідей в матеріалах наукових і науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, загальних висновків, списку літературних джерел та додатків. Робота викладена на 130 сторінках основного тексту, які включають 39 рисунки (11 сторінок), 32 таблиці (18 сторінок). Робота містить 203 найменування використаних літературних джерел (22 сторінки) та 12 додатків (75 сторінок).

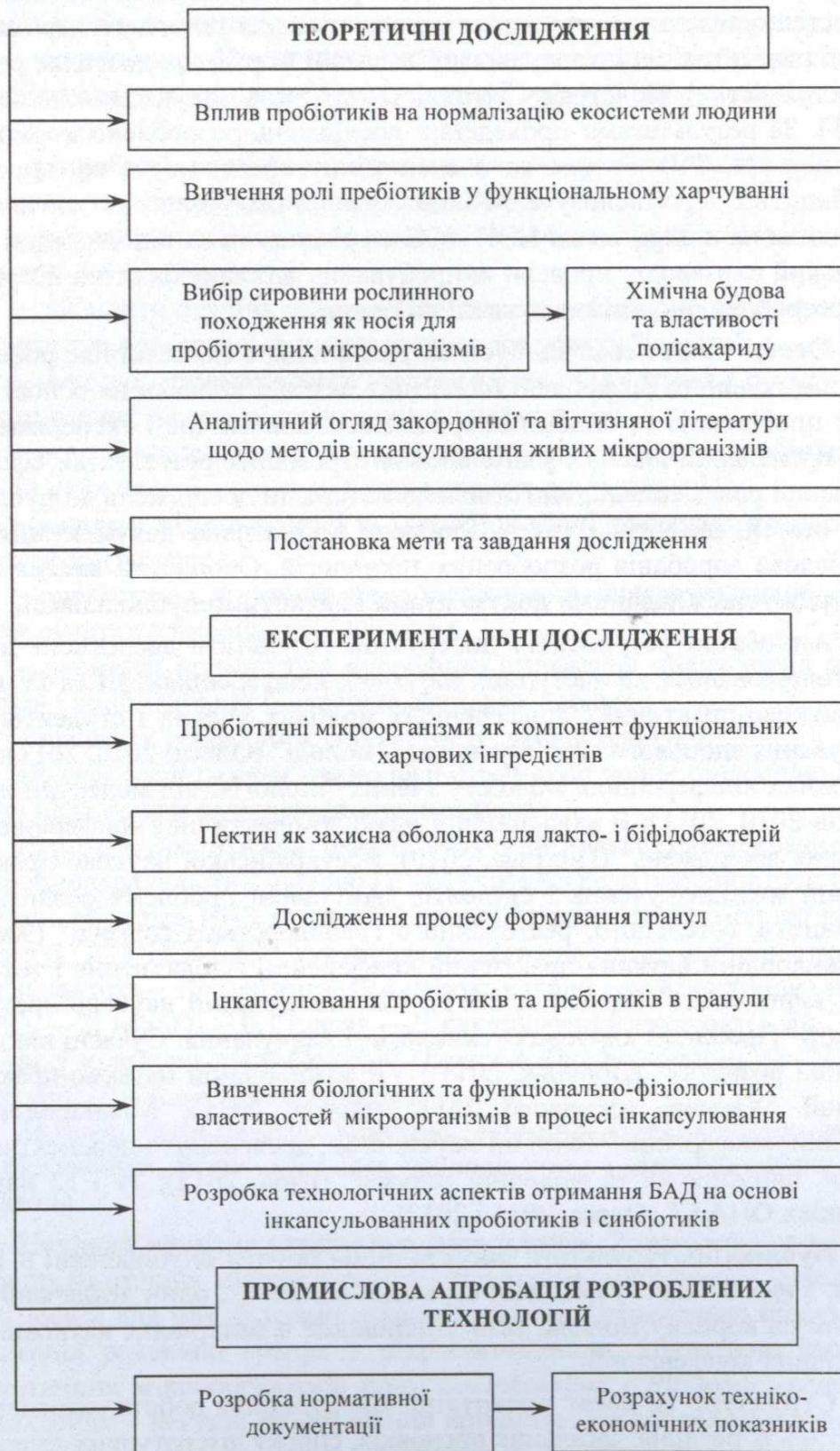


Рис. 1. Основні напрямки досліджень

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі висвітлено стан проблеми та її актуальність, наведено зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, сформульовані мета та завдання досліджень, наведені наукова новизна і практичне значення результатів, представлені відомості про особистий внесок здобувача, апробацію роботи, публікації.

У першому розділі “Інкапсульовані синбіотики як інгредієнти функціональних продуктів харчування” розглянуто та узагальнено дані сучасної наукової та патентної літератури щодо відомих про- та пребіотичних компонентів, використаних у функціональному харчуванні. Вивчено та розглянуто існуючі способи захисту пробіотичних мікроорганізмів. Опрацьована інформація пов'язана з вибором сировини для виробництва захисної оболонки для пробіотичних мікроорганізмів. Виявлено основні тенденції в отриманні інкапсульованих біологічно активних добавок пробіотичного та синбіотичного характеру. Розглянуті напрямки використання інкапсульованих форм пробіотиків у харчових продуктах і БАД.

У другому розділі “Об'єкти та методи досліджень” наведено структурну схему, яка відображає основні напрямки та взаємозв'язок головних етапів роботи (рис.1). Об'єктом досліджень стали технології отримання продукту в інкапсульованій формі з пробіотичними та синбіотичними властивостями. Сировиною та складовими для отримання БАД в інкапсульованій формі, що містять пробіотики та синбіотики стали: низькоетерифікований пектин, резистентний крохмаль та чисті культури *Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402 і *Bifidobacterium bifidum-1*, колекції музею кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування Одеської національної академії харчових технологій (ОНАХТ). Основні дослідження були проведені в лабораторіях кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування ОНАХТ, окремі дослідження проводились у лабораторіях кафедри технології продуктів харчування Харківського державного університету харчування та торгівлі. У дослідженнях використовували як традиційні, так і оригінальні методи із застосуванням сучасних органолептичних, біохімічних, фізико-хімічних, мікробіологічних та технологічних методів досліджень.

У третьому розділі “Технологічні аспекти інкапсульювання лакто- і біфідобактерій” наведено результати власних експериментальних досліджень.

На першому етапі роботи було проведено вибір культур пробіотичних мікроорганізмів, поживні середовища і умови їх культивування. Культивування пробіотичних культур здійснювали шляхом внесення біомаси лактобактерій у молоко, а біфідобактерій – в кукурудзяно-лактозне середовище при температурі 37 ± 1 °С. Досліджено динаміку накопичення клітин пробіотичних мікроорганізмів від тривалості їх культивування на поживному середовищі (рис. 2 і 3). Як свідчать наведені дані, штам лактобактерій на знежиреному молоці розвивається досить динамічно і за 24 години накопичується до $2,5 \cdot 10^{10}$ КУО/см³.

Подальша тривалість культивування як лакто-, так і біфідобактерій не приводила до збільшення їх біомаси, кількість клітин залишалась на вихідному рівні.

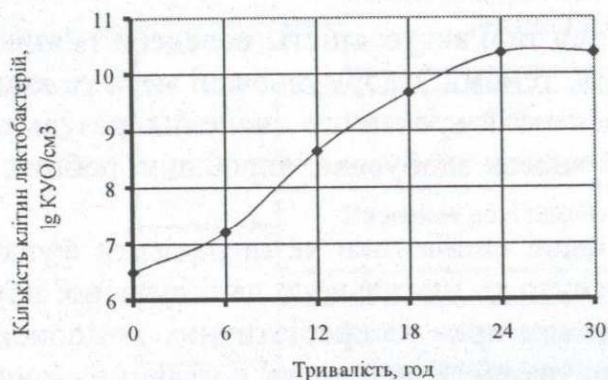


Рис. 2. Динаміка накопичення клітин *Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402 від тривалості культивування.

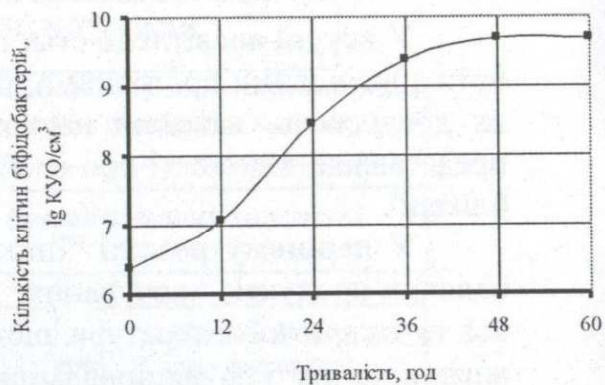


Рис. 3. Динаміка накопичення клітин *Bifidobacterium bifidum* від тривалості культивування.

На процес накопичення біомас *Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402 і *Bifidobacterium bifidum-1* значно впливає значення рН середовища і титрована кислотність. У зв'язку із цим проведені дослідження для контролю за цими показниками в процесі культивування лакто- і біфідобактерій. В процесі культивування цих мікроорганізмів відбувалися зміни значення рН середовища і титрованої кислотності: для штамів лактобактерій протягом 24 годин культивування спостерігалось збільшення швидкості кислотоутворення до 96,8 °Т і зменшення рН середовища до 4,5 в порівнянні з початковим їх значенням; для штамів біфідобактерій через 48 годин культивування максимальне кислотоутворення спостерігалось при рН 5,11.

Аналіз отриманих даних показав доцільність використання знежиреного молока як поживного середовища для лактобактерій і кукурудзяно-лактозного середовища для росту біфідобактерій, що дозволяють досягати необхідного рівня життєздатних клітин $2,5 \cdot 10^{10}$ КУО/см³ і $5 \cdot 10^9$ КУО/см³ відповідно.

Наступним етапом дослідження став вибір гелеутворюючих біополімерів з метою отримання захисного середовища для пробіотиків. На сьогоднішній день пропонується великий вибір гелеутворюючих матеріалів. Аналіз літератури показав, що серед них найбільше поширення отримали полісахариди природного походження – пектин, альгінат натрію, крохмаль та ін. Проведені дослідження показали, що найбільш економічним та ефективним носієм є низькоетерифікований пектин та альгінат натрію, які і були вибрані як вихідний матеріал для отримання гелевих гранул. Процес формування гранул на основі полісахаридів здійснювали шляхом витіснення водних розчинів пектину та альгінату натрію через дозуючий пристрій в зшиваючий розчин хлориду кальцію. Таким чином були отримані гранули діаметром 3...5 мм і вивчено їх міцність та структурно-механічні властивості.

Структурно-механічні властивості (пружність, пластичність, еластичність) визначали методом вимірювання деформації, віднесеної до гелевої гранули при постійному напруженні (рис. 4). Характер кривих свідчить про те, що найбільш стійкими до стискувального напруження є гранули на основі пектину із деформацією $(2266,67) \times 10^{-3}$ м. Для альгінатних гранул така деформація склала $(2067,67) \times 10^{-3}$ м.

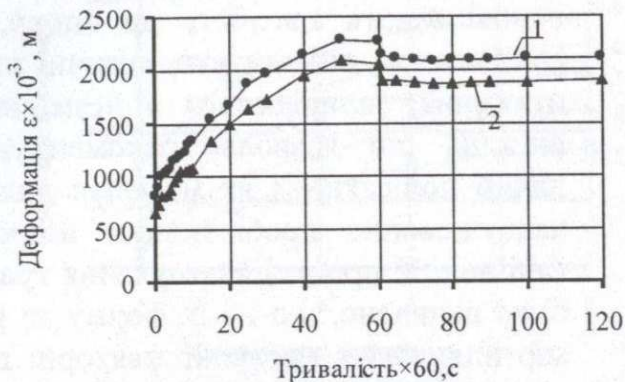


Рис. 4. Залежність деформації гранул від природи гелеутворюючого матеріалу: 1 - пектинові; 2 - альгінатні.

Деформація стискування гранул на основі різних гелеутворювачів та проведених обчислень характеризує їх структурно-механічні властивості (табл. 1).

Аналізуючи отримані дані залежності модуля пружності від характеру капсулюючих полісахаридів видно, що пектинові гранули мають великий модуль пружності, що вказує на ущільнення структури оболонки, а отже, отримання стійких гранул. Збільшення плинності структури альгінатних гранул призводило до отримання найменшого модуля пружності та міцності оболонки гранул.

Таблиця 1

Характеристика показників гранул в залежності від вибору капсулюючих речовин (n = 3, p ≥ 0,95)

Найменування показника	Капсулююча речовина	
	пектин	альгінат натрію
Зворотна деформація, 10^{-3} , м	2039,92	1831,00
Незворотна деформація, 10^{-3} , м	70,00	72,00
Загальна деформація, 10^{-3} , м	2109,92	1903,00
Напруження зсуву, Па	363612	363612
Податливість, Па^{-1} , 10^{-5}	5,80	5,23
Умовно миттєвий модуль пружності, Па, 10^3	434,59	378,06
Високоеластичний модуль, (Па)	302191,36	276092,51
Пластична в'язкість, Па·с	3740006	3636117
Відношення деформації зворотної до загальної	0,97	0,85

Механічну міцність гранул визначали в залежності не тільки від масової частки капсулюючих речовин, розчину хлориду кальцію, а також від часу знаходження гранул у зшиваючому розчині CaCl_2 . Для формування пектинових і альгінатних гранул як зшиваючої речовини використали водний розчин хлориду кальцію масовою часткою 5 %-відсотків. Установлено, що збільшення часу витримування гранул у розчині призводить до збільшення їх міцності (рис. 5). Це пов'язано з тим, що макромолекули пектину та альгінату натрію мають пори або порожнини, які згодом заповнюються іонами кальцію, інтенсифікуючи процес гелеутворення. При вивченні міцності гранул було виявлено, що пектинові гранули характеризувалися найбільшими міцнісними властивостями в порівнянні з альгінатними. Максимум міцності гранул після їх перебування в розчині хлориду кальцію протягом 15 хв склав для пектинових 450 г, альгінатних – 400 г.

Таким чином, можна зробити висновок, що низькоетерифікований пектин можливо використовувати як іммобілізуючий носій молочнокислих мікроорганізмів.



Рис. 5. Залежність міцності гранул від тривалості знаходження у формуючому середовищі (CaCl_2): 1 - пектинові; 2 - альгінатні.

проведені пошукові дослідження, які показали, що оптимальна масова частка пектину у розчині – це від 2 до 5 %. Оскільки збільшення масової частки пектину вище 5 % приводило до формування гранул несферичної форми, а менше 2 % – не формування гранул взагалі. Залежність в'язкості розчинів пектину від температури наведено на рис. 6.

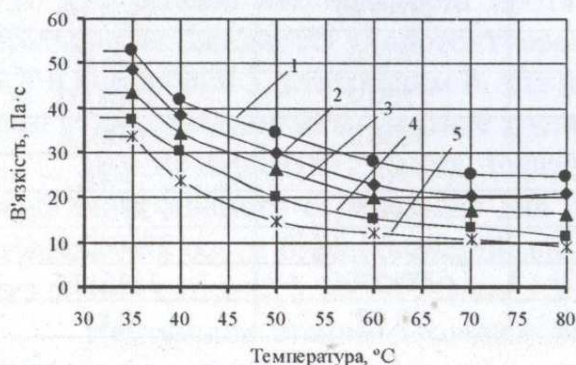


Рис. 6. Залежність в'язкості розчину пектину від температури при наступних масових частках пектину в розчині: 1 – 6 %-вий; 2 – 5 %-вий; 3 – 4 %-вий; 4 – 3 %-вий; 5 – 2 %-вий.

Визначено, що максимальне зміцнення гелю спостерігалось при масовій частці пектину в розчині 7 % і хлориду кальцію 5 % (рис. 7). У випадку використання водних розчинів пектину з масовою часткою 6 % і 7 % мало місце утворення гранул неправильної форми, що не відповідає вимогам до даного продукту. Проведені експериментальні дослідження дозволили установити, що найбільш раціональною є система, що містить водний розчин пектину з масовою часткою 5 % і CaCl_2 – 5 % відповідно. Міцність гелю в цій системі досягала максимального значення – 650 г.

Отримані гелеві гранули на його основі мають здатність до опору, не руйнуються, витримують фізичні навантаження, залишаються в незмінному вигляді, що дозволяє рекомендувати даний полісахарид як матеріал для інкапсулювання пробіотичних мікроорганізмів. У процесі формування гранул було виявлено, що на їх форму та розмір впливають наступні фактори: в'язкість розчину пектину, а також масова частка хлориду кальцію у розчині. При виборі оптимальної масової частки пектину і хлориду кальцію в розчині були

З підвищенням температури в'язкість розчину зменшується. При зміні температури в інтервалі 35...80 °C в'язкість розчинів пектину від 2 до 6 % змінюється від 34 до 53 Па·с, та від 9 до 25 Па·с відповідно. Зменшення температури розчину пектину нижче 35 °C сприяло утворенню драглів при всіх досліджених масових частках.

Важливим фактором при утворенні пектинового гелю є використання структуроутворюючого агента – іонів кальцію Ca^{2+} . Правильний вибір необхідної масової частки хлориду кальцію в розчині сприяє одержанню міцних гелевих форм



Рис. 7. Зміна міцності гранул від масової частки пектину і хлориду кальцію в розчині: 1 – 1 %-вий CaCl₂; 2 – 2 %-вий CaCl₂; 3 – 3 %-вий CaCl₂; 4 – 4 %-вий CaCl₂; 5 – 5 %-вий CaCl₂.

Далі досліджували іммобілізацію пробіотичних культур у структуру гелю. Іммобілізації піддавалися клітини роду *Lactobacillus* і *Bifidobacterium*, які є класичними представниками біоценозу шлунково-кишкового тракту людини. Проведені дослідження показали, що на розмір і форму гелевих гранул впливає кількість закваски пробіотичних мікроорганізмів (лакто- і біфідобактерій), що вноситься в розчин пектину (рис. 8 і 9).

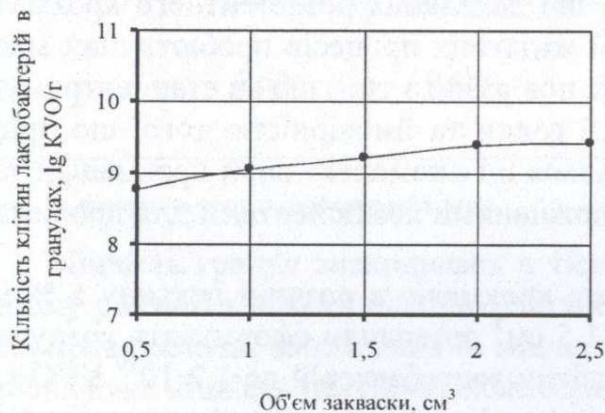


Рис. 8. Залежність кількості клітин лактобактерій в 1 г гранул від об'єму внесеної закваски.

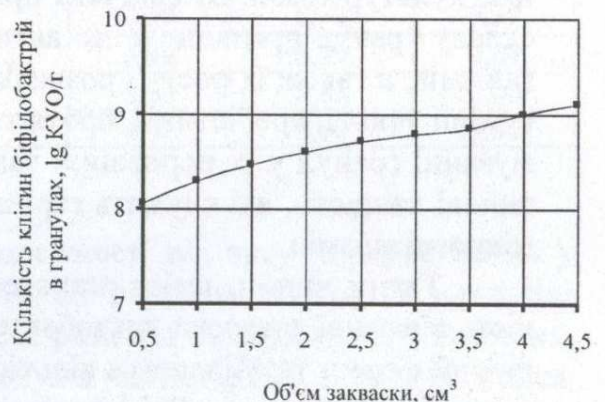


Рис. 9. Залежність кількості клітин біфідобактерій в 1 г гранул від об'єму внесеної закваски.

Аналізуючи представлені залежності, можна зробити висновок, що внесена в розчин пектину 2 см³ закваски *L. acidophilus* Ep-317/402 дозволило отримати продукт, що містить $2,5 \cdot 10^9$ КУО/г пробіотичних клітин. Дана об'ємна доза внесеної закваски лактобактерій є граничною, оскільки забезпечує формування гранул сферичної форми необхідного діаметра (3 мм). Для біфідобактерій найбільше число клітин накопичувалося при внесенні закваски в об'ємі 4 см³, кількість клітин *B. bifidum-1* у середньому склала $10 \cdot 10^8$ КУО/г, що відповідає фізіологічній пробіотичній дозі для людини. Збільшення об'єму внесеної закваски лактобактерій до

Використання розчинів з більшою масовою часткою хлориду кальцію призводило до утворення ламкого гелю зі схильністю до синерезису та утворення пектинату кальцію. Зменшення масової частки пектину у розчині сприяло утворенню нестійких, легкорозчинних гранул різних розмірів. Таким чином, використання пектину з масовою часткою в розчині 5 % або в'язкістю 48 Па·с дозволяє формувати сферичні гранули діаметром 3,0...3,5 мм, а 6 % – приводило до збільшення в'язкості розчину пектину, неможливістю витікання його через сопло і утворення гранул сферичної форми.

2,5 см³ і біфідобактерій вище 4 см³ не давало можливості отримати гранули правильної сферичної форми, що не відповідає вимогам до даної продукції.

Основні характеристики отриманих гранул, що містять пробіотичні мікроорганізми, представлено у табл. 2.

Таблиця 2

Основні характеристики інкапсульованих пробіотиків

(n = 3, p ≥ 0,95)

Показники	Гранули інкапсульованих лактобактерій	Гранули інкапсульованих біфідобактерій
Маса, г	0,022	0,021
Густина, кг/м ³	110,0	105,0
Діаметр, мм	3,0	3,0
Форма	сферична	сферична

Таким чином, проведені дослідження дозволили отримати гранули сферичної форми, діаметром 3 мм, масою 0,021...0,022 г та вмістом клітин *Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402 – $2,5 \cdot 10^9$ КУО/г, а *Bifidobacterium bifidum-1* – $10 \cdot 10^8$ КУО/г.

Для посилення пробіотичної складової гранул в подальших дослідженнях використовували резистентний крохмаль як ефективний стимулятор росту і розвитку молочнокислих бактерій. Для досліджень був вибраний резистентний крохмаль Hi-maize 1043 наступного складу, %: білки – 0,8; жири – 0,8; вуглеводи – 94, в тому числі ті, що не перетравлюються – 65. Результати досліджень щодо впливу масової частки внесеного резистентного крохмалю на фізіологічний стан пробіотичних культур (табл. 3) свідчать про те, що додавання резистентного крохмалю до складу гранул призводило до активації життєвих процесів пробіотичних мікроорганізмів, а також їх росту і розвитку. Це пов'язано з тим, що на етапі витримування суміші про- і пребіотиків протягом 2,5 годин та ймовірністю того, що при формуванні гранул у їх порожнині залишалися низькомолекулярні крохмальні та пектинові ланцюги, які служать гарними поживними компонентами для пробіотичних мікроорганізмів.

Таким чином, вміст резистентного крохмалю в розчині пектину 5 % і кількість внесеної закваски лактобактерій 1,5 см³ дозволили сформувати гранули сферичної форми та збільшити кількість клітин лактобактерій до $1,2 \cdot 10^{10}$ КУО/г. Внесення 3 см³ інокуляту *Bifidobacterium bifidum-1* у пектин-крохмальну суміш (масова частка крохмалю 5 %) сприяло одержанню суспензії із припустимою в'язкістю для формування сферичних гранул. Кількість клітин біфідобактерій у цій системі складала $5 \cdot 10^9$ КУО/г. Подальше збільшення кількості інокуляту приводило до зміни форми гранул. Отримані продукти характеризувались масою до 0,025 г, густиною 800...830 кг/м³ і діаметром 3 мм.

За результатами досліджень структурно-механічних властивостей (пружність, пластичність, еластичність) встановлено, що загальна деформація пектин-крохмальних гранул становить $(1166,67) \cdot 10^{-3}$ м, що в 1,9 раз менше на відміну від пектинових гранул і у 1,8 разів менше в порівнянні з альгінатними.

Вивчаючи пружність гранул з пектин-крохмальною структурою встановлено, що вони мають найменший модуль пружності в порівнянні із гранулами пектинової і альгінатної структури та відповідно меншу міцність.

Кількість клітин мікроорганізмів в 1 г гранул від масової частки внесеного крохмалю Hi-maize 1043

(n=3, p ≥ 0,95)

Масова частка крохмалю в розчині, %	Об'єм заварки лактобацил, см ³	Кількість клітин <i>Lactobacillus acidophilus</i> в гранулах, lg КУО/г		Об'єм заварки біфідобактерій, см ³	Кількість клітин <i>Bifidobacterium bifidum</i> в гранулах, lg КУО/г		
		Гранули без крохмалю (контроль)	Гранули з крохмалем		Гранули без крохмалю (контроль)	Гранули з крохмалем	
2,5	0,25	8,46	8,69	0,25	7,77	7,79	
	0,50	8,77	8,85	0,50	8,06	8,2	
	1,00	9,07	9,21	1,00	8,30	8,47	
	1,50	9,21	9,30	1,50	8,47	8,69	
	2,00	9,39	9,69	2,00	8,69	8,77	
	2,50	2,50	9,42*	10,0*	2,50	8,72	8,85
					3,00	8,79	9,17
					3,50	8,85	9,39
					4,00	9,00	9,69*
5,0	0,25	8,46	9,17	0,25	7,77	8,02	
	0,50	8,77	9,47	0,50	8,06	8,39	
	1,00	9,05	9,77	1,00	8,30	8,69	
	1,50	9,21	10,07	1,50	8,47	9,00	
	2,00	9,39	10,20*	2	8,69	9,02	
	2,50	2,50	9,42*	10,47*	2,50	8,72	9,39
					3,00	8,79	9,69
					3,50	8,85	10,00*
					4,00	9,00	10,02*

Примітка:

* - утворення гранул несферичної форми

Міцність гранул знаходилась в тісній залежності від часу їх перебування у водному розчині хлориду кальцію. Встановлено, що перебування гранул у розчині CaCl₂ приводило до збільшення їх міцності в 3,2 рази від початкового їх значення. Порівнюючи міцність пектин-крохмальних гранул з пектиновими та альгінатними, було з'ясовано, що гранули на основі двох пребіотиків (пектин і крохмаль) характеризуються найменшими показниками. Це пов'язано зі зміною каркасу гелю в результаті внесення до його складу резистентного крохмалю.

На наступному етапі роботи проводили дослідження порівняльного виживання як інкапсульованих, так і некапсульованих клітин лакто- і біфідобактерій в умовах, що імітують шлунково-кишковий тракт, в умовах «in vitro» (рис. 10 – 13). Умовами шлунково-кишкового тракту були вибрані шлунковий сік, жовч, фенол, кухонна сіль та їх комплекси. Із діаграм видно, що незалежно від впливу компонентів, всі вони призводили до зниження їх ступеня виживання, як в інкапсульованій так і некапсульованій формах. Проте, якщо порівнювати виживання інкапсульованих пробіотичних клітин, то в шлунковому соку (рН 2) їх кількість скоротилась на 8 % для лактобактерій та на 10 % біфідобактерій, в розчині жовчі – на 24 % та 30 %

лактобацил і біфідобактерій, в розчині кухонної солі з масовою часткою 6,5 % – від 10 до 12 % відповідно.



Рис. 10. Діаграма виживання клітин *Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402 у несприятливих умовах, що імітують шлунково-кишковий тракт: 1 – некапсульовані клітини (контроль); 2 – інкапсульовані клітини.



Рис. 12. Діаграма виживання клітин лактобактерій в умовах *in vitro*: 1 – некапсульовані лактобактерії; 2 – інкапсульовані лактобактерії.

Тоді як у розчині фенолу кількість пробіотичних клітин залишалась на рівні від початкового їх значення. Кількість некапсульованих клітин лакто- та біфідобактерій скоротилась при дії pH 2 від 39 до 44 %, при дії жовчі від 47 до 53 %, фенолу від 26 до 28 % і кухонної солі від 36 до 40 %. Всі комплекси: K1 – жовч 40 %, pH 7,5; K2 – фенол 0,4 %, NaCl 6,5 %, pH 2; та K3 – фенол 0,4 %, NaCl 6,5 %, pH 9,2 діючи на клітини лакто- і біфідобактерій, також приводили до зниження їх ступеня виживання і це пов'язано з синергетичною дією всіх компонентів.

Таким чином, включення пробіотичних клітин в матрикс пектинового та пектин-крохмального гелю забезпечило захист *Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402 і *Bifidobacterium bifidum-1* від агресивних факторів шлунково-кишкового тракту.



Рис. 11. Діаграма виживання клітин *Bifidobacterium bifidum-1* в умовах, що моделюють шлунково-кишковий тракт: 1 – некапсульовані біфідобактерії (контроль); 2 – інкапсульовані біфідобактерії.



Рис. 13. Діаграма виживання біфідобактерій в умовах *in vitro*: 1 – незахищені клітини біфідобактерій (контроль); 2 – захищені клітини біфідобактерій.

Гранули залишалися стабільними і не змінювались впродовж 3 годин в різних несприятливих умовах.

У четвертому розділі “Розробка технології інкапсулювання пробіотиків і синбіотиків” доведено можливість отримання біологічно активних добавок, які містять інкапсульовані лакто- та біфідобактерії про- і синбіотичного характеру; розроблено технологічні та апаратурні схеми отримання БАД.

Для формування гелевих гранул сферичної форми факторами оптимізації вибрали діаметр сопла дозуючого пристрою (d) та відстань (висота) (h) від нього до поверхні формуючого розчину (CaCl_2). Як критерій оптимізації обрано діаметр гранул (D). Отримано рівняння регресії, що описує залежність діаметра гранул від досліджуваних факторів:

$$D = 1,55 + 1,20d + 0,08h.$$

На основі цього рівняння були розраховані значення діаметра сопла та відстань від сопла до формуючого середовища, які забезпечили отримання гранул діаметром 3 мм.

За результатами досліджень розроблено технологічні схеми отримання БАД на основі інкапсульованих лакто- і біфідобактерій. Послідовність технологічних операцій отримання БАД наведено на рис. 14.

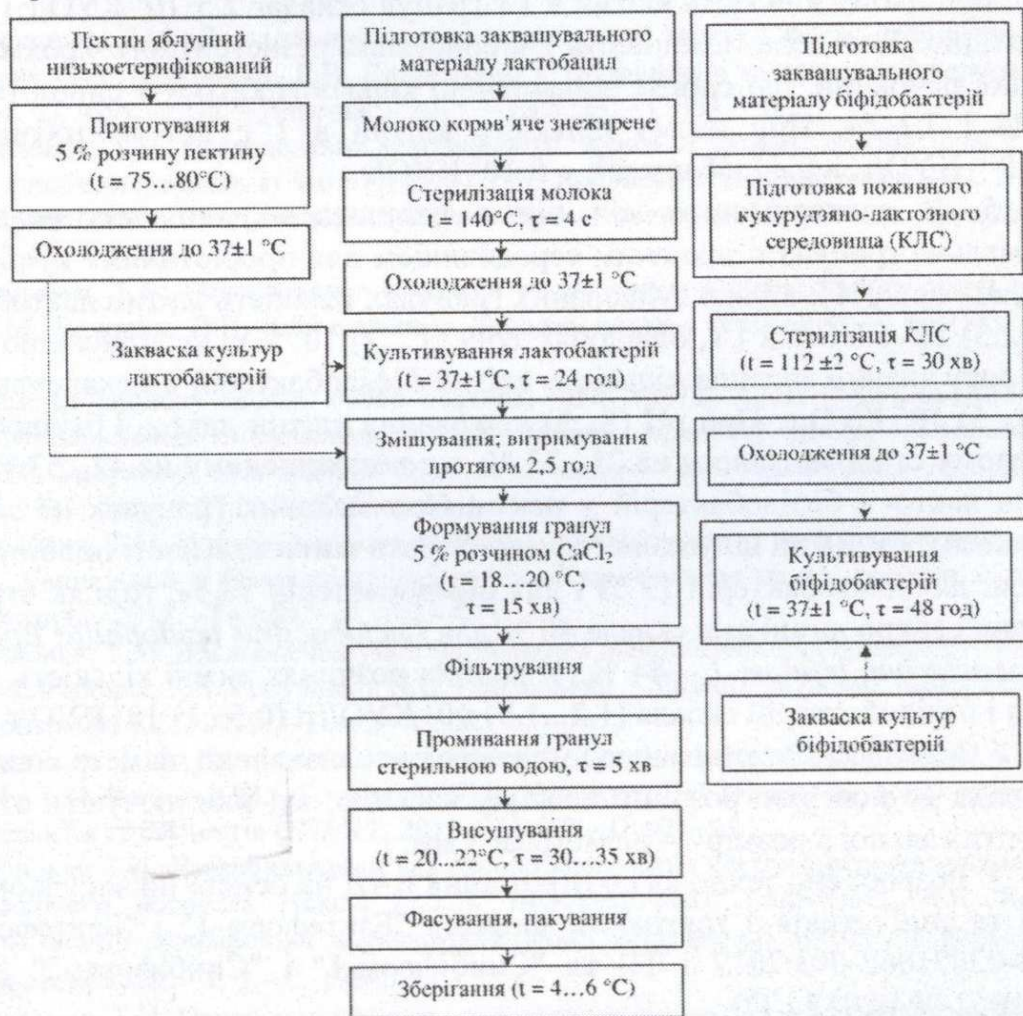


Рис. 14. Схема технологічного процесу виробництва інкапсульованих пробіотичних культур у пектиновій оболонці.

ВИСНОВКИ

1. Теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено можливість одержання БАД на основі інкапсульованих пробіотичних культур і синбіотичних речовин.

2. Показано, що використання знежиреного молока та кукурудзяно-лактозного середовища сприяє росту та розмноженню лакто- та біфідобактерій. Досліджено умови культивування пробіотичних культур на поживному середовищі: при температурі 37 °С впродовж 24 годин кількість лактобактерій склала $2,5 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, а кількість біфідобактерій через 48 годин – $5 \cdot 10^9$ КУО/см³.

3. Теоретично обґрунтовано використання низькоетерифікованого пектину як матриксу для іммобілізації пробіотичних мікроорганізмів. На основі проведених фізико-хімічних та структурно-механічних властивостей визначено оптимальну масову частку пектину та хлориду кальцію – 5 %, що дозволяє отримати гранули сферичної форми міцністю 650 г.

4. Визначена пробіотична доза внесених *Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402 і *Bifidobacterium bifidum-1* в розчин пектину. Встановлено, що гранична доза внесеної закваски лактобактерій в розчин пектину становить 2 см³, а біфідобактерій – 4 см³, при цьому кількість клітин в 1 г гранул складає $2,5 \cdot 10^9$ КУО/г і $10 \cdot 10^8$ КУО/г відповідно. Доведена можливість використання резистентного крохмалю як пребіотичної речовини, що сприяє збільшенню кількості клітин у синбіотичній БАД на 6,8 % і 7,1 %. При цьому кількість клітин в 1 г для лактобацил становить $1,2 \cdot 10^{10}$ КУО/г, а біфідобактерій – $5 \cdot 10^9$ КУО/г.

5. В експериментах «in vitro» встановлено, що пектинова та пектин-крохмальна гранула є захисним середовищем для пробіотичних культур. Встановлено, що при рН 2 в інкапсульованих гранулах кількість клітин лактобактерій склала $(3...5) \cdot 10^8$ КУО/г в 1 г, біфідобактерій $(1...3) \cdot 10^8$ КУО/г відповідно. Дія шлункового соку значно знизилася кількість клітин біфідобактерій в некапсульованій формі до $(3...5) \cdot 10^5$ КУО/г. При рН (8...9) виживання клітин лакто- і біфідобактерій в захищеному стані знизилася на 21...23 %, а в незахищеному на 47...53 %. Виживання клітин лакто- і біфідобактерій у пектин-крохмальних гранулах не забезпечило їх повний захист від дії шлункового соку. Втрати життєздатності пробіотичних клітин склали: для лактобактерій 17 % і для біфідобактерій 18 %, тоді як втрата некапсульованих мікроорганізмів склала 40 % для *Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402 і для *Bifidobacterium bifidum-1* – 44 %. У водних розчинах жовчі кількість клітин лактобацил і біфідобактерій склала $(1,2...1,5) \cdot 10^7$ КУО/г і $(0,5...1) \cdot 10^7$ КУО/г відповідно.

6. Методом математичного моделювання визначено діаметр сопла та відстань від сопла до поверхні розчину хлориду кальцію, які забезпечують отримання гранул оптимального розміру – діаметром 3 мм.

7. Розроблено технологію отримання БАД на основі інкапсульованих пробіотиків та синбіотиків з торговими назвами "Бактеформ-1" і "Бактеформ-2" (ТУ У 24.14-02071062-003:2012 і ТІ) та "Синбіформ-1" і "Синбіформ-2" (ТУ У 24.14-02071062-004:2012 і ТІ).

8. Визначено фізико-хімічні та мікробіологічні показники БАД в процесі зберігання. Встановлено, що отримані БАД масою 0,021...0,025 г, густиною

800...110 кг/м³, не містять важких металів, пестицидів, не токсичні, і за мікробіологічними показниками відповідають вимогам, які ставляться до них. Термін зберігання БАД складає не більше 6 місяців за умов: температура 4±2 °С, відносна вологість повітря 70...75 %.

9. Показана принципова можливість використання БАД при виробництві йогурту з фруктово-ягідним наповнювачем. Йогурт, отриманий з використанням біологічно активних добавок, характеризувався органолептичними, фізико-хімічними показниками та містив клітини лактобактерій $2,5 \cdot 10^9$ КОЕ/г і клітини біфідобактерій $10 \cdot 10^8$ КОЕ/г, що забезпечує добову норму для організму людини.

10. Проведена промислова апробація БАД "Бактеформ-1" і "Бактеформ-2" та "Синбіформ-1" і "Синбіформ-2" на підприємстві ТОВ НВО "Аріадна". Випуск партії йогурту, що містить інкапсульовані лакто- і біфідобактерії, проводили на підприємстві ТОВ "Віньковецький сирзавод". Наукова новизна досліджень захищена одним Деклараційним патентом України на корисну модель. Розрахована собівартість біологічно активних добавок, що становить для "Бактеформ-1" і "Бактеформ-2" – 44,34 грн., а "Синбіформ-1" і "Синбіформ-2" – 44,90 грн. масою 30 г кожна.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Воловик, Т.М. Дослідження процесу утворення гелевих форм синбіотику [текст] / Т.М. Воловик, М.І. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Обладнання та технології харчових виробництв: темат. зб. наук. праць – Донецьк; - 2011. – Вип. 26. – С 384 – 387.
2. Воловик, Т.Н. Исследование устойчивости защитной формы пробиотиков в условиях желудочно-кишечного тракта *in vitro* [текст] / Т.Н. Воловик, М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій. – Одеса: Друк 2011. – Вип. 40. – Т.2 – С. 151 – 154.
3. Воловик, Т.Н. Исследование процесса ко-инкапсулирования пробиотических культур [текст] / Т.М. Воловик, Л.В. Капрельянц // Харчова наука і технологія. – №1(18), – 2012. – С. 28 – 31.
4. Пат. на корисну модель 67465 Україна, МПК (2012) A23L 1/325, A61K35/00, C12N 11/00. Спосіб отримання капсульованого синбіотичного продукту [текст] / Капрельянц Л.В., Воловик Т.М.; Гоцуленко М.І. власник Одес. нац. академ. харч. технологій. - № u 2011 08421; Заявл. 04.07.2011; Опубл. 27.02.2012, Бюл. № 4.
5. Воловик, Т.Н. Инкапсулированная форма пробиотических микроорганизмов / Т.Н. Воловик, Л.В. Капрельянц // Научная конференция «Хранительная наука, техника и технологии 2012». – Пловдив: – 2012. – Том 59. – С. 472 – 474.
6. Воловик, Т.М. Дослідження умов формування наноконтейнерів природного походження [текст] / Т.М. Воловик, М.І. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Збірник наукових праць молодих учених та студентів ОНАХТ, 2010. – Том 2 – С. 68.
7. Воловик, Т.М. Дослідження властивостей капсульованих біфідобактерій в умовах *in vitro* [текст] / Т.М. Воловик, М.І. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Збірник наукових праць молодих учених, аспірантів та студентів ОНАХТ, 2011. – Том 2 – С. 92 – 93.
8. Воловик Т.Н. Имобилизация как способ включения клеток микроорганизмов в структуру полимерного носителя [текст] / Т.Н. Воловик, М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Матеріали шостої міжнародної науково-практичної конференції «Розвиток наукових досліджень» – Полтава 2010. – Т. 2 – С. 178-179.
9. Воловик, Т.Н. Нанобиоконтейнеры в технологи получения специфических БАД [текст] // Т.Н. Воловик, М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Матеріали V Міжнародної конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери», Харків 22 – 25 листопада 2010 р. – С. 216 – 217.

10. Воловик, Т.М. Створення синбіотичного продукту в гелевій формі [текст] / Т.М. Воловик, М.І. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Актуальні проблеми розвитку харчових виробництв, готельного, ресторанного господарства і торгівлі: всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених і студентів – Харків: ХДУТХ, 2011. – С. 113.

11. Воловик, Т.М. Дослідження впливу іонів кальцію на біологічну активність біфідобактерій при капсулюванні [текст] / Т.М. Воловик, М.І. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Проблеми харчових технологій і харчування. Сучасні виклики і перспективи розвитку: міжнар. наук.-техн. конф. – Донецьк: ДонНУЕТ, 2011. – С. 128 – 131.

12. Воловик, Т.Н. Изучение протекторных свойств пектиновых капсул, содержащих бифидобактерии [текст] / Т.Н. Воловик, М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Матеріали VI Міжнародної конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери», Харків 22 – 25 листопада 2011 р. – С. 284 – 285.

13. Воловик, Т.М. Капсулюванні форми пробіотиків у виробництві йогурту [текст] / Т.М. Воловик, М.І. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Матеріали Міжнародної науково-технічної конференції «Технічні науки: стан, досягнення і перспективи розвитку м'ясної, олієжирової та молочної галузей», 22 - 23 березня 2012 р. – К.: НУХТ, С 51.

Особистий внесок:

1) проведення літературного пошуку та експериментальних досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку [1-3, 5-13];

2) проведення літературного та патентного пошуку, узагальнення та систематизація отриманих експериментальних даних, оформлення заявки на патент, участь у складанні опису винаходів [4].

АНОТАЦІЯ

Воловик Т.М. Розробка технології інкапсулювання пробіотичних мікроорганізмів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Одеська національна академія харчових технологій Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України, Одеса, 2012.

Дисертаційна робота присвячена науковому обґрунтуванню, розробці технології отримання інкапсульованих БАД з пробіотичними та синбіотичними властивостями.

На першому етапі роботи визначено умови культивування лактобактерій на знежиреному молоці, а біфідобактерій – на кукурудзяно-лактозному середовищі. Обґрунтовано вибір низькоетерифікованого пектину як захисного середовища для пробіотичних мікроорганізмів. Експериментально визначено кількість внесеної закваски пробіотичних культур в розчин пектину, що дозволяє отримати гелеві гранули сферичної форми. Доведено можливість використання резистентного крохмалю як пребіотичного компоненту, що сприяє збільшенню кількості клітин лакто- та біфідобактерій у синбіотичній БАД на 6,8 % і 7,1 %.

Досліджено захисні властивості пектинових та пектин-крохмальних гранул до несприятливих умов шлунково-кишкового тракту.

Розроблена нормативна документація, технологічна схема і економічне обґрунтування отриманих інкапсульованих БАД пробіотичного та синбіотичного характеру. Проведена промислова апробація, яка підтвердила можливість випуску даних БАД на вітчизняному устаткуванні.

Ключові слова: інкапсулювання, пробіотики, синбіотики, низькоетерифікований пектин, резистентний крохмаль, БАД.

АННОТАЦІЯ

Воловик Т.М. Розробка технології інкапсулювання пробіотических мікроорганізмів. – Рукопись.

Дисертація на соискание научної ступені кандидата техніеских наук по спеціальності 03.00.20 – біотехнологія. – Одеська національна академія пицевих технологій Міністерства освіти і науки, молодіж і спорту України, Одеса, 2012.

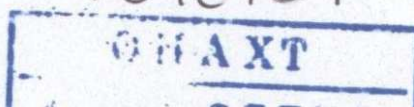
Дисертаційна робота посвячена научному обоснованню, розробці технології отримання інкапсулюованих БАД з пробіотическими і синбіотическими свойствами.

На першому етапі роботи определено условия культивирования лактобактерий на обезжиренном молоке, а бифидобактерий – на кукурузно-лактозной среде. Показано, что использование обезжиренного молока обеспечивает интенсивный рост, развитие и накопление биомасс лактобактерий до $2,5 \cdot 10^{10}$ КОЕ/см³ за 24 часа, а бифидобактерий – $5 \cdot 10^9$ КОЕ/см³ через 48 часов при температуре 37 ± 1 °С.

Обоснован выбор использования низкоэтерифицированного пектина в качестве защитного матрикса для пробіотических мікроорганізмів. Для полного осуществления процесса инкапсулирования установлены концентрации компонентов ($C_{\text{пектина}} = 5\%$ и $C_{\text{CaCl}_2} = 5\%$) и время экспозиции в формирующем растворе ($\tau_{\text{экспоз.}} = 15$ мин). Экспериментально установлено количество внесённой закваски пробіотических культур в раствор пектина: *Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402 2 см³, а *Bifidobacterium bifidum-1* 4 см³. Использование данной объёмной закваски позволяет получить гранулы сферической формы с содержанием лактобактерий не менее $2,5 \cdot 10^9$ КОЕ/г и $10 \cdot 10^8$ КОЕ/г бифидобактерий в 1 г гранул. Доказана возможность использования резистентного крахмала в качестве пребіотического компонента, который способствует увеличению количества клеток *Lactobacillus acidophilus* Ep-317/402 и *Bifidobacterium bifidum-1* в синбіотической БАД на 6,8 % и 7,1 %.

Определено, что пектиновая оболочка является защитной для пробіотических культур. Установлено, что при pH 2 в инкапсулированных гранулах количество клеток лактобактерий $(3...5) \cdot 10^8$ КОЕ/г в 1 г, бифидобактерий $(1..3) \cdot 10^8$ КОЕ/г соответственно. При pH (8...9) выживаемость клеток лакто- и бифидобактерий снизилась на 21...23 % по сравнению с первоначальным их значением. Показано, что пектиновая оболочка достаточно устойчивая к фенольным соединениям и обеспечивает значительную защиту, при этом выживаемость лактобактерий составила 85 %, а бифидобактерий – 80 %, тогда как количество незащищенных клеток уменьшилось на 26...29 %. Выживаемость клеток лакто- и бифидобактерий в гранулах с пектин-крахмальной оболочкой не обеспечила их полную защиту от действия желудочного сока. Потери жизнеспособности пробіотических клеток при этом составили для лактобактерий 17 % и для бифидобактерий 18 %, тогда как потери некапсулированных микроорганизмов составили 40 % для *Lactobacillus acidophilus* Ep-

VO18131



317/402 и 44 % для *Bifidobacterium bifidum-1*. В водных растворах желчи количество клеток лактобацилл и бифидобактерий составило $(1,2...1,5) \cdot 10^7$ КОЕ/г и $(0,5...1) \cdot 10^7$ КОЕ/г соответственно.

Методом электронной микроскопии установлено, что значительная часть клеток определено распределяется внутри гранул в виде отдельных палочковидных клеток или их скопления. Каждая бактерия окружена нежной тонкой оболочкой слабой осмофильности, а ее содержимое частично электронно-плотное. Тонкофибриллярный материал на основе пектина прилегает к стенке клетки, обеспечивая тесный контакт с ней.

Методом математическое моделирование определено диаметр сопла и расстояние от сопла до поверхности раствора хлорида кальция, которые обеспечили получение гранул оптимального размера – диаметр 3 мм.

Показана возможность использования БАД на основе инкапсулированных лакто- и бифидобактерий в производстве йогурта с фруктово-ягодным наполнителем, характеризующийся удовлетворительными органолептическими и физико-химическими свойствами с содержанием лактобактерий $2,5 \cdot 10^9$ КОЕ/г и бифидобактерий $10 \cdot 10^8$ КОЕ/г, что обеспечивает суточную норму их потребления человеком.

Разработана нормативная документация, технологическая схема инкапсулированных БАД пробиотического и синбиотического характера. Проведена промышленная апробация полученных БАД на предприятии ООО НПО «Ариадна». Полученные БАД не содержат тяжелых металлов, пестицидов, не токсичны, и по микробиологическим показателям соответствуют требованиям, предъявляемым к ним. Срок хранения БАД не более 6 месяцев при условиях: температура 4 ± 2 °С, относительная влажность воздуха 70...75 %.

Рассчитана себестоимость биологически активных добавок, которая составляет для «Бактеформ-1» и «Бактеформ-2» - 44,34 грн., а «Синбиформ-1» и «Синбиформ-2» - 44,90 грн. массой 30 г каждая.

Ключевые слова: инкапсулирование, пробиотики, синбиотики, низкоэтерифицированный пектин, резистентный крахмал, БАД.

ANNOTATION

Volovik T.N. Elaboration of encapsulation technology of the probiotics microorganisms. – Manuscript.

Dissertation for obtaining the scientific degree of the Candidate of Technical Science on the specialty 03.00.20 – Biotechnology. – Odessa National Academy of Food Technologies, the Ministry of Education and Science, Youth and Sport of the Ukraine, Odessa, 2012.

Dissertation is devoted to the scientific ground and development of technology of encapsulated dietary supplement with probiotic and synbiotic properties.

At the first stage of the conditions of cultivation of lactobacilli on skim milk and bifidobacteria on corn-lactose medium. It is found that using of low-ester pectin as a protective shell for probiotic microorganisms. The quantity introduced probiotic starter cul-

tures in pectin solution that allows to get gelling granules spherical shape has been determined experimentally.

It is proved the opportunity of using of resistant starch as a prebiotic substance that increases the number of cells of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in synbiotic supplements at 6.8 % and 7.1 %.

The protective properties of pectin and pectin-starch granules to the adverse conditions of the gastrointestinal tract were studied.

It is developed normative documents, the technological scheme and economic justification of the obtaining encapsulated probiotic and synbiotic supplements. It was carried out industrial testing, which was confirmed the possibility of production these supplements on domestic equipment.

Key words: encapsulation, probiotics, synbiotics, pectin, resistant starch, biological active additive.