

МРНТИ 62.09.39

<https://doi.org/10.26577/eb.2020.v85.i4.05>**М.А. Абдулжанова*** , **И.С. Савицкая** , **А.С. Кистаубаева** 

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

*e-mail: malika_81_@mail.ru

МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЕ ПРОБИОТИКА В МАТРИЦУ ПРИРОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ

Микрокапсулирование представляет собой процесс, посредством которого сердцевина, то есть биологически активный или функциональный ингредиент упаковывается в материал, образующий оболочку микрокапсулы. Микрокапсулирование пробиотиков позволяет избежать стрессовых воздействий, возникающих в процессе производства, хранения и потребления продукта, и обеспечивает высокий уровень выживаемости микроорганизмов в таком «контейнере». Целью работы являлось микрокапсулирование пробиотиков в полисахаридные матрицы для повышения их жизнеспособности и устойчивости, а так же результативной доставки в кишечник.

В настоящей работе изучены 3 вида пробиотических микрокапсул: альгинатные; альгинат-хитозановые; альгинат-пуллулановые. Капсулы получали путем процесса ввода суспензии клеток, смешанной с капсулирующим агентом, через особое дозирующее приспособление порционно строго определенного объема в специальный раствор, который содержал ионы-сшиватели. Жизнеспособность свободных и инкапсулированных бактерий в различных стрессовых условиях определяли методом предельных разведений и посева в MRS-агар.

Экспериментально установлено, что при получении микрокапсул оптимальным является соотношение биомассы пробиотического штамма и 2%-ного альгината натрия – 1:5, в качестве сшивающих ионов 1%-ного раствора хлорида кальция. Эффективность иммобилизации клеток *Lactobacillus acidophilus* AA-1 для непокрытых (альгинатных) и покрытых хитозаном и пуллуланом микрокапсул составила $96,35 \pm 1,65$; $95,28 \pm 2,31$ и $94,43 \pm 2,31$ соответственно. Микрокапсулы представляют собой сферические частицы белого цвета с гладкой поверхностью. Размеры микрокапсул – 102–145 мкм.

Ключевые слова: микрокапсулирование, альгинат, пуллулан, хитозан, *Lactobacillus acidophilus* AA-1.

М.А. Abdulzhanova*, I.S. Savitskaya, A.S. Kistaubaeva

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: malika_81_@mail.ru

Microencapsulation of a probiotic into a matrix of natural polymers

Microencapsulation is a process by which the core, i.e. a biologically active or functional ingredient, is packed into a material that forms the shell of the microcapsule. Microencapsulation of probiotics helps to avoid stressful effects that occur during the production, storage and consumption of the product and provides a high level of survival of microorganisms in such a “container”. The aim of this work was to microencapsulation of probiotics in the polysaccharide matrix to improve their stability, viability and effective delivery to the intestine.

In this paper, we studied 3 types of probiotic microcapsules: alginate; alginate-chitosan; alginate-pullulan. The process of forming capsules was carried out by injecting a suspension of cells mixed with an encapsulating substance through a special dosing device in portions of a strictly defined volume into a special solution containing crosslinking ions. The viability of free and encapsulated bacteria under various stress conditions was determined by the method of limit dilutions and inoculations in MRS-agar.

During research we obtained that, in microcapsule formation optimal conditions is probiotic strain biomass and 2% sodium alginate in ratio – 1:5, and usage of 1% calcium chloride solution as cross linking ions. The efficiency of immobilization of *Lactobacillus acidophilus* AA-1 cells for uncoated (alginate), chitosan and pullulan-coated microcapsules was 96.35 ± 1.65 ; 95.28 ± 2.31 and 94.43 ± 2.31 , respectively. Microcapsules are spherical particles, with white and smooth surface. The sizes of microcapsules are 102-145 microns.

Key words: microencapsulation, alginate, pullulan, chitosan, *Lactobacillus acidophilus* AA-1.

М.А. Абдулжанова*, И.С. Савицкая, А.С. Кистаубаева
Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.
*e-mail: malika_81_@mail.ru

Табиғи полимерлер матрицасына пробиотиктерді микрокапсулдау

Микрокапсулдау – арнайы материалдан құрылған микрокапсула қабығының ішіне биологиялық белсенді немесе функционалдық ингредиенттерді орау процесі. Пробиотиктерді микрокапсулдау – өнімді өндіру, сақтау және тұтыну процесінде пайда болатын стресстік әсерлерді болдырмауға мүмкіндік береді және мұндай «контейнерде» микроорганизмдердің өмір сүруінің жоғары деңгейін қамтамасыз етеді. Жұмыстың мақсаты пробиотиктердің тұрақтылығын, тіршілікке қабілеттілігі және ішекке тиімді жеткізуді арттыру үшін полисахаридті матрицаларға микрокапсулдау болып табылады.

Осы жұмыста пробиотикалық микрокапсуланың 3 түрі зерттелді: альгинат; альгинат-хитозан; альгинат-пуллулан. Капсуланы қалыптастыру процесі капсула-қаптамадан тұратын арнайы ерітіндіге қатаң белгіленген көлемдегі порциялармен ерекше дозалаушы құрылғы арқылы капсула-затпен аралас жасушалардың суспензиясын инъекциялау жолымен жүзеге асырылды. Әр түрлі стресстік жағдайларда бос және инкапсуляцияланған бактериялардың тіршілікке қабілеттілігі шекті өсіру және MRS-агарда себу әдісімен анықталды.

Микрокапсуланы алу кезінде пробиотикалық штамның биомассасының және 1%-дық натрий альгинатының 1%-дық кальций хлоридінің ерітіндісінің тігу иондары ретінде 2%-дық натрий альгинатының арақатынасы оңтайлы болып табылады. *Lactobacillus acidophilus* AA-1 жасушаларын иммобилизациялау тиімділігі жабылмаған (альгинатты) және хитозанмен және пуллуланмен жабылған микрокапсулалар үшін тиісінше $96,35 \pm 1,65$; $95,28 \pm 2,31$ және $94,43 \pm 2,31$ құрады. Микрокапсулалар сфералары ақ түсті, тегіс беті бөлшектерден тұрады. Микрокапсуланың өлшемдері 102-145 мкм.

Түйін сөздер: микрокапсулдау, альгинат, пуллулан, хитозан, *Lactobacillus acidophilus* AA-1.

Введение

Высокими темпами развиваются технологии производства функциональных продуктов питания. Популярность и постоянное возрастание потребительского спроса на такие продукты связано с повышением осведомленности населения об их положительном влиянии на здоровье и увеличение продолжительности жизни. Пищевые продукты, содержащие пробиотики составляют основную часть этого рынка. Поскольку пробиотические продукты составляют от 60 до 70% от общего рынка функциональных продуктов питания, их производство можно выделить в самостоятельную отрасль пищевой биотехнологии (Fernandez M., 2015: 1-13).

Количество живых и активных клеток в определенном объеме (г или мл) в момент потребления, то есть жизнеспособность пробиотических микроорганизмов, определяет их эффективность и является ключевой характеристикой качества этих продуктов (Mortazavian A.M., 2012: 121-146). В связи с этим важно обеспечить высокую выживаемость бактерий-пробиотиков как в процессе его потребления, так и во время производства и хранения продукта (Shah N.P., 2000: 894-907).

В этой связи, усовершенствование технологии и состава пробиотических продуктов, которое должно быть направлено на обеспечение благоприятных условий для бактерий при их производстве и хранении, а также при прохождении желудочного барьера, представляется достаточно актуальным.

Многочисленные исследования показывают, что при производстве заквасок прямого внесения, при хранении продуктов, а также в процессе прохождения через желудочно-кишечный тракт, значительная часть пробиотических клеток теряет свою активность вследствие повреждения и гибели микроорганизмов (Martensson O., 2012: 775-784). Проводятся исследования, которые фокусируются на выделении кислото- и желчезерезистентных штаммов методом стрессовой адаптации (Shah N.P., 2010: 894-907); применении двухстадийной ферментации (в заквашиваемую смесь изначально вносят пробиотические культуры и дают время для их адаптации, и лишь затем вносят другие молочнокислые культуры) (Marteau P., 2017: 1031-1037); использовании стимуляторов роста и других добавок (цистеин, сывороточные белки, кислотный гидролизат казеина), активизирующих развитие пробиотических бактерий (Dave R.I., 2018: 2804-2816), с

целью увеличения стрессоустойчивости и жизнеспособности пробиотических культур.

Одним из способов решения проблемы повышения жизнеспособности пробиотиков является использование адсорбционной и пространственной иммобилизации бактерий в мягких условиях (Champagne С.Р., 2014: 109-134). Новые достижения в области иммобилизации, обычно используемой только в других областях биотехнологии, делают теперь её методы, доступными и для пищевой промышленности (Ананьева Н.В., 2009: 46-47). В последние годы все больший интерес проявляется к получению микрокапсулированных форм микроорганизмов-пробиотиков как наиболее перспективного метода защиты и адаптации клеток и активных веществ в организме человека (Riaz Q.U.A., 2013: 231-144).

Под биокапсулированием понимают создание различных полимерных систем в форме гидрогелевых нано- и микрочастиц, нано- и микрокапсул или полимерных пленок с иммобилизованным биоматериалом, который может быть представлен различными БАВ (белками, в том числе ферментами, ДНК, пептидами, низкомолекулярными гормонами, антибиотиками и др.), а также микробными, растительными и животными клетками (Sri S.J., 2012: 1-23). Имеются данные о том, что инкапсулированные пробиотические культуры могут использоваться в различных ферментированных молочных продуктах, таких как йогурт, сыр, сметана, замороженных молочных десертах, для получения биомассы, а также в сухих препаратах (Morales M.E., 2016: 627-668).

Основными характеристиками инкапсулированных форм пробиотических культур является способность клеток выживать в неблагоприятных условиях желудочно-кишечного тракта. В отношении выживаемости инкапсулированных пробиотических культур в неблагоприятных условиях ученые склоняются к единому мнению: инкапсулирование обеспечивает значительное увеличение выживаемости клеток в условиях ферментированных молочных продуктов и желудочно-кишечного тракта (Riaz Q.U.A., 2013: 231-244; Anal A.K., 2017: 240-251; Ramos P.E., 2018: 1864-1877; Tomaro-Duchesneau С., 2013: 1-19; Carvalho A.S., 2013: 2538-2541).

Успешный опыт микрокапсулирования в области пробиотической биотехнологии послужил основанием для проведения настоящего исследования, направленного на создание микрокапсулированных пробиотиков для повышения их

устойчивости, жизнеспособности и эффективной доставки в кишечник.

Материалы и методы исследования

Объекты исследований: культура и биомасса молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* АА-1 из коллекции микроорганизмов кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби в нативном и инкапсулированном состоянии;

3 вида пробиотических микрокапсул: альгинатные; альгинат-хитозановые; альгинат-пуллулановые.

Подготовка бактерий для микрокапсулирования

Штамм *Lactobacillus acidophilus* АА-1 был выделен из традиционного йогурта в лаборатории прикладной микробиологии КазНУ им. аль-Фараби (Савицкая И.С., 2012: 110-114). Штамм был сохранен в глицерине (50%) и хранился при -20°C . Сохраненные клетки активировали дважды на чашках с агаром MRS перед использованием. После 48 ч роста отбирали одну колонию, инокулировали в 20 мл бульона MRS и инкубировали в течение 24 ч при 37°C . После этого культуру переносили в свежий бульон MRS и инкубировали при 37°C в течение 18 ч в анаэробных условиях. Клетки собирали в стационарной фазе роста центрифугированием при 6000 g в течение 15 минут при 4°C . Супернатант отбрасывали и клеточный осадок дважды промывали и ресуспендировали в 3 мл физиологического раствора. Концентрация клеток после такой обработки составляла около 2×10^{10} КОЕ/мл. Свежеприготовленную концентрированную клеточную суспензию количественно оценивали путем высева на агар MRS и сразу использовали.

Получение инкапсулированных пробиотиков

Для получения инкапсулированных пробиотиков применяли следующие материалы покрытия: альгинат натрия; хитозан; пуллулан. Инкапсуляцию бактерий осуществляли путем экструзии.

Суспензию клеток суспендировали в растворе капсулирующего вещества (2% альгинат натрия) в соотношении 1:5, чтобы получить суспензию, приблизительно содержащую 10^{10} КОЕ/мл клеток. Затем эту смесь экструдировали через иглу диаметром 0,6 мм в стерильный 1% раствор хлорида кальция. Для экструзии использовали шприцевой дозатор «Armed MP-2003». Расстояние между иглой и раствором хлорида кальция составляло 25 см. Капли сразу же образовывали гелевые сферы. Шарикам давали

отстояться в течение 30 минут для полного затвердевания.

Для получения микрокапсул с двойным покрытием готовые альгинатные шарики с инкапсулированными бактериями помещали в 0,4% раствор хитозана или пуллулана. Далее их инкубировали в течение 40 мин на шейкере при 130 об/мин (Krasaekoopt W., 2016: 177-183). Такая скорость перемешивания позволяла избежать агрегации микрокапсул. Затем капсулы помещали на 30 мин в 1% раствор CaCl_2 , где происходило полное гелеобразование. Капсулы собирали из раствора с использованием стерилизованного сита (50 мкм) и промывали стерильной дистиллированной водой.

Вся процедура была выполнена с использованием автоклавированных (121°C , 15 мин) материалов и в стерильных условиях в ламинарном боксе с воздушным потоком. Капсулы хранили в стерильных флаконах с крышками при температуре 4°C и использовали в дальнейших экспериментах.

Таким образом, в конце процесса экструзии были получены три композиции частиц (матричного типа), содержащие альгинат (А) или смесь альгинат-хитозан (А-Х) и альгинат-пуллулан (А-П) в качестве материала-герметика.

Морфологическая характеристика микрочастиц методом оптической и сканирующей электронной микроскопии

Средний диаметр частиц микрокапсул измеряли с использованием лазерного анализатора размера частиц (Winner 2000ZD, Jinan Winner Particle Instruments Stock Co., Ltd., Китай).

Оптическую микроскопию влажных микрочастиц проводили с использованием микроскопа (MDL-150-TPI) и цифровой камеры (Samsung 14.2).

Морфологию замороженных высушенных микрочастиц оценивали с использованием сканирующего электронного микроскопа (JEOL, JM6360). Микрокапсулы были установлены на алюминиевые заглушки с помощью двухсторонней клейкой ленты, а затем было произведено напыление тонким слоем серебра.

Количественная оценка жизнеспособных бактерий в капсулах

Бактериальные клетки высвобождали из микрокапсул путем механического разрушения с использованием гомогенизатора. 1,0 г микрокапсул добавляли к смешанному раствору 0,06 моль/л цитрата натрия и 0,2 моль/л бикарбоната натрия и перемешивали в течение 1 часа при 37°C для ослабления покрытия. Жизнеспособ-

ность высвобожденных клеток определяли путем посева серийных разведений полученной суспензии на агар MRS. Колониеобразующие единицы подсчитывали после 48 ч анаэробной инкубации при 37°C . Свободные клетки не подвергали гомогенизации, так как сравнение КОЕ свободных клеток до и после гомогенизации не показало существенной разницы.

Эффективность инкапсуляции (ЭИ) определяли по формуле (1):

$$\text{ЭИ \%} = (N \times M) / N_0 \times 100, \quad (1)$$

где N – количество жизнеспособных клеток, высвобожденных из 1,0 г микрокапсул, M – общая масса собранных микрокапсул, а N_0 – количество свободных клеток перед микрокапсулированием.

Статистический анализ

Экспериментальные данные были проанализированы с помощью статистического программного обеспечения SPSS 13.0 (SPSS Inc., Чикаго, Иллинойс, США). Данные были собраны из трех независимых повторных экспериментов, содержащих три повторности, и результаты выражены как среднее \pm стандартное отклонение. Различия между средними значениями были определены с помощью тестов Дункана на нескольких диапазонах. Различия с P -значением $<0,05$ были расценены как существенные.

Результаты исследования и их обсуждение

Суть микрокапсулирования заключается в создании оболочки вокруг клеток микроорганизмов, следовательно, важным этапом является подбор подходящего материала для нее. От его свойств зависит эффективность защиты микроорганизмов от негативных факторов окружающей среды, а также способность к высвобождению клеток в нижних отделах желудочно-кишечного тракта. В связи с этим на первом этапе исследований проводился выбор оптимального полимера для микрокапсулирования пробиотиков.

При выборе носителя в рамках нужд промышленного производства учитываются следующие требования: отсутствие токсичности, доступность, невысокая стоимость. Так называемые «пищевые» полимеры весьма привлекательны для инкапсулирования и могут обеспечивать превосходную защиту клеток бифидобактерий и молочнокислых бактерий в неблагоприятных условиях. Как показал анализ данных литера-

туры, наиболее часто для микрокапсулирования пробиотиков в пищевой промышленности используются: альгинат натрия, пектин, хитозан, каррагинан, желатин, ксантан-желатиновая смесь, ацетофталат целлюлозы (Mary M.D., 2019: 1234-129). Альгинат натрия представляет собой полимер, широко используемый в качестве инкапсулирующего материала, поскольку он образует универсальную, биосовместимую и нетоксичную матрицу для защиты активных ингредиентов, особенно пробиотических штаммов, от факторов от неблагоприятных факторов (Rasin B. L., 2012: 130-151). Хотя альгинат натрия подходит для капсулирования, образовавшийся гель чувствителен к экстремальным значениям рН, которые могут влиять как на высвобождение, так и на защиту инкапсулированного материала (Tian W., 2015: 73352-73362). Материал для капсулирования может быть модифицирован физическими или химическими способами для укрепления матрицы. Одним из таких способов является покрытие микрокапсул дополнительным слоем (layer-by-layer) из других природных полимеров, например, хитозана или пуллулана. Эта стратегия и была использована в работе.

Живые пробиотические бактерии рода *Lactobacillus* наиболее часто используются в пробиотических кисломолочных продуктах. Штамм *L. acidophilus* АА-1, имеющийся в коллекции микроорганизмов кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби, обладает всеми необходимыми пробиотическими характеристиками: высоким уровнем кислотообразования, адгезивной и антагонистической активности. Он не обладает патогенностью и токсичностью, т.е. имеет необходимый уровень биологической безопасности (Савицкая И.С., 2012: 114-119). В связи с этим, именно этот штамм был использован в работе.

Одной из популярных стратегий инкапсуляции клеток пробиотиков является процесс экструзии, поскольку для этого не требуются высокие температуры и использование органических растворителей (Araújo E. M., 2016: 321-329). Поэтому для получения микрокапсул был выбран способ экструзии.

Этот метод заключается в смешивании пробиотического инокулята в гидроколлоидном растворе с последующей экструзией через сопло, а затем образовавшиеся капли собираются в растворе гелеобразователя. При получении альгинатных капсул в качестве гелеформирующего вещества был отобран альгинат марки «MANUCOL DH» при концентрации 2%, соот-

ношение биомассы пробиотических культур и альгината натрия – 1:5; в качестве сшивающих ионов применяли 1%-ный раствор хлорида кальция (Chen H., 2017: 248-255).

Микрокапсулы оставляли для формирования устойчивой сферической формы, отделяли от раствора и использовали в дальнейших экспериментах. В результате экструзии в гидроколлоидном растворе альгината пробиотика образовали микрокапсулу матричного типа. В связи с тем, что пробиотики присутствуют во всей структуре частиц, они могут подвергаться воздействию условий окружающей среды, что может снизить их жизнеспособность при хранении и использовании.

Для покрытия альгинатных микрокапсул дополнительным слоем их выдерживали в течение 30-40 мин в 0,4% растворе хитозана или пуллулана. На рисунке 1 представлены 3 типа микрокапсул, полученных вышеописанным способом.

Микрокапсулы представляют собой сферические частицы белого цвета, с гладкой поверхностью. По внешнему виду все 3 вида капсул не отличались друг от друга. Отсутствие внешних различий было подтверждено и при анализе на сканирующем электронном микроскопе (рисунок 2).

Альгинатные микрокапсулы и микрокапсулы с покрытием имели схожую овальную форму. При этом комбинация полимеров в качестве дополнительной стенки не меняет типичной сферической формы. Компактная, устойчивая к проникновению поверхность может служить сильным физическим барьером, который защищает пробиотические клетки во время прохождения через желудочно-кишечный тракт.

СЭМ-исследование обнаружило включенные в матрицу капсул бактерии. Они присутствуют во всех 3-х типах микрокапсул (рисунок 3).

В ходе проведенных исследований было выявлено, что благодаря использованию материалов природного происхождения, не оказывающих токсический эффект, и отсутствию сильных механических, физических и химических воздействий гибели клеток в процессе инкапсулирования не происходило.

В таблице 2 приведены данные, полученные в экспериментах по определению эффективности инкапсулирования (%). Для непокрытых (альгинатных) и покрытых хитозаном и пуллуланом микрокапсул она составила $96,35 \pm 1,65$; $95,28 \pm 2,31$ и $94,43 \pm 2,31$ соответственно. Разница не была статистически значимой ($P > 0,5$).

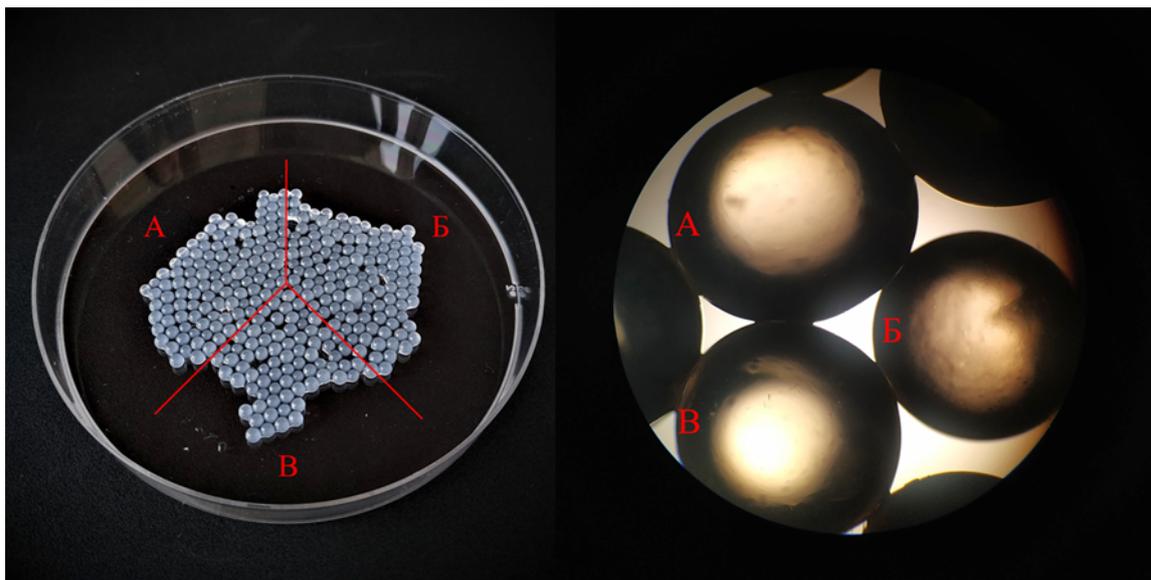


Рисунок 1 – Внешний вид микрокапсул на основе альгината (А), альгинат-хитозана (Б) и альгинат-пуллулана (В)

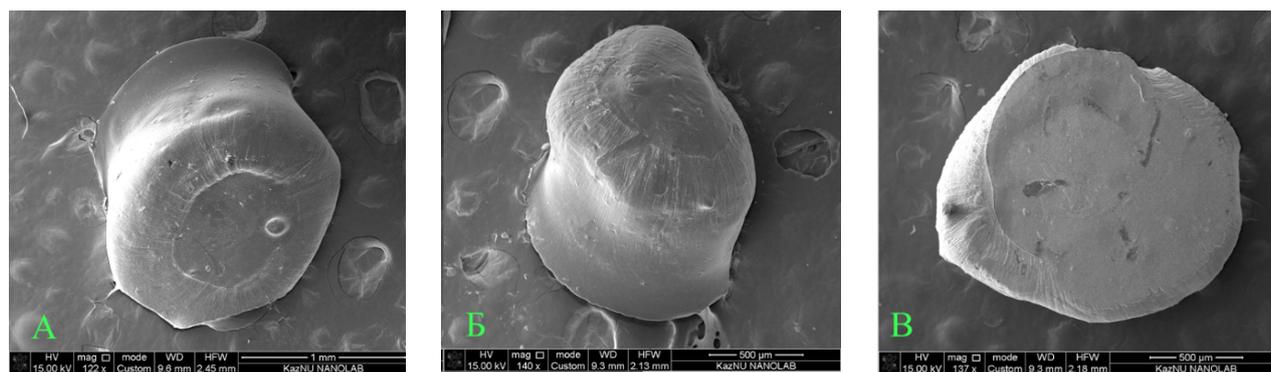


Рисунок 2 – СЭМ-изображение внешнего вида микрокапсул на основе альгината (А), альгинат-хитозана (Б) и альгинат-пуллулана (В)

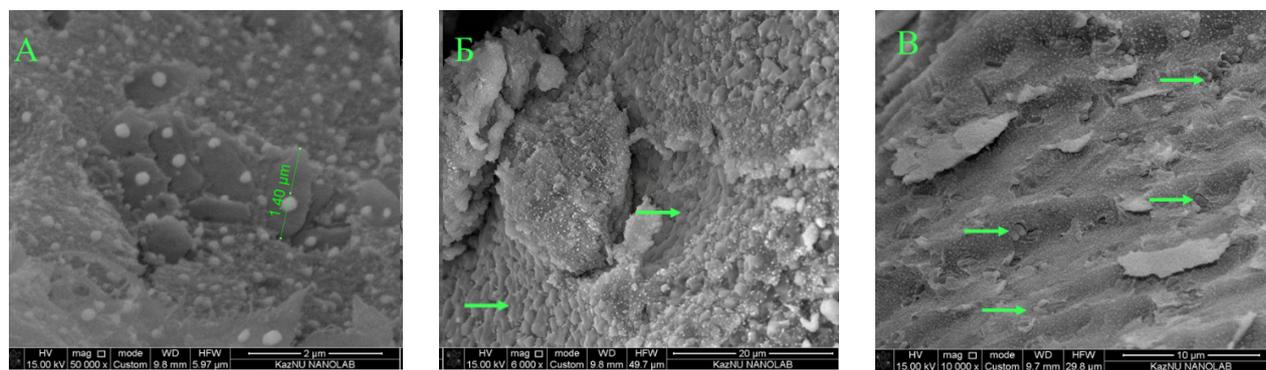


Рисунок 3 – Включение бактерий (обозначено стрелками) в микрокапсулы альгината (А), альгинат-хитозана (Б) и альгинат-пуллулана (В)

Таблица 1 – Эффективность инкапсулирования и размер пробиотических микрокапсул, содержащих клетки *Lactobacillus acidophilus* AA-1

Тип микрокапсул	Эффективность инкапсулирования, %	Размер микрокапсул, мкм
Альгинат	96,35±1,65	102,35±4,31
Альгинат-хитозан	95,28±2,31	136,42±5,73
Альгинат-пуллулан	94,43±2,31	145,37±6,25

Размер микрокапсул оказывает важное влияние на жизнеспособность пробиотиков и сенсорное воздействие на продукты питания. Как правило, более крупные микрокапсулы обеспечивают лучшую защиту от пробиотиков (Lee K., 2010: 869-873), но продукт может иметь нежелательные сенсорные свойства (Rajam R., 2015:4029-4041). Показано, что микрокапсулы в диапазоне размеров 100–200 мкм обеспечивают оптимальный баланс между этими двумя противоречивыми требованиями (Nag A., 2011: 247-253). В нашем исследовании размер всех микрокапсул попадает в этот оптимальный диапазон. После покрытия хитозаном и пуллуланом средний размер микрокапсул увеличился на 34 и 43 мкм соответственно. Отчасти это связано с толщиной слоя покрытия и частично с агрегацией микрокапсул.

Взаимодействия между бактериями и материалами стенок имеют решающее значение для определения эффективности инкапсуляции. Высокая эффективность инкапсуляции, полученная в нашей работе, показала, что процесс инкапсуляции был мягким и материалы стенок были совместимы с пробиотическим штаммом. Кроме того, незначительная разница в эффективности капсулирования между непокрытыми и покрытыми хитозаном и пуллуланом микрокапсулами показывает, что процесс покрытия не оказывал неблагоприятного влияния на повторный сбор

микрокапсул. Показано, что макромолекулы на поверхности бактерий могут взаимодействовать с материалами стенки различными способами, включая силы Ван-дер-Ваальса, электростатические и гидрофобные взаимодействия (Burgain J., 2013: 153-162). Эти же механизмы могут способствовать высокой эффективности инкапсуляции, полученной в этой работе.

Заключение

Получены альгинатные, альгинат-хитозановые, альгинат-пуллулановые пробиотические микрокапсулы. Оптимальным является соотношение биомассы пробиотического штамма и 2%-ного альгината натрия – 1:5, в качестве сшивающих ионов 1%-ного раствора хлорида кальция. Эффективность иммобилизации клеток *L. acidophilus* AA-1 для непокрытых (альгинатных) и покрытых хитозаном и пуллуланом микрокапсул составила 96,35±1,65; 95,28±2,31 и 94,43±2,31 соответственно. Микрокапсулы представляют собой сферические частицы, белого цвета, с гладкой поверхностью. Размеры микрокапсул 102–145 мкм.

Разработанные на основе полисахаридных матриц пробиотические микрокапсулы могут быть использованы в промышленной технологии для создания обогащенных пробиотиками продуктов питания.

Литература

- 1 Fernandez M., Hudson J.A., Korpela R., Reyes-Gavilan C.G. Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: an overview // Bio Med Research International. – 2015. – № 13. – P. 1-13.
- 2 Mortazavian A.M., Mohammadi R., Sohrabvandi S. Delivery of probiotic microorganisms into gastrointestinal tract by food products // New Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology // InTech. – 2012. – № 61. – P. 121-146.
- 3 Shah N.P. Probiotic bacteria: selective and enumeration and survival in dairy foods // Journal dairy science. – 2000. – Vol. 83. – P. 894-907.
- 4 Martensson O. The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products // Food research international. – 2012. – № 35. – P. 775-784.
- 5 Marteau P. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile // J. Dairy Sci. – 2017. – № 80. – P. 1031-1037.
- 6 Dave R.I. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt // Journal dairy science. – 2018. – № 81. – P. 2804-2816.

- 7 Champagne C.P. Immobilized cells technologies for the dairy industry // *Critical reviews in biotechnology*. – 2014. – № 14. – P. 109-134.
- 8 Ананьева Н.В., Ганина В.И., Нефедова Н.В., Габрильян Г.Р. Перспективы применения иммобилизованных форм пробиотических бактерий в производстве молочных продуктов // *Молочная промышленность*. – 2009. – № 11. – С. 46-47.
- 9 Riaz Q.U.A., Masud T. Recent trends and applications of encapsulating materials for probiotic stability // *Food Science and Nutrition*. – 2013. – № 53. – P. 231-244.
- 10 Sri S.J., Seethadevi A., Prabha K.S., Muthuprasanna P., Pavitra P. Microencapsulation: A Review // *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. – 2012. – № 3. – P. 1-23.
- 11 Morales M.E., Ruiz M.A. Microencapsulation of probiotic cells: applications in nutraceutical and food industry // *In Nutraceuticals*. – 2016. – № 1. – P. 627-668.
- 12 Anal A.K., Singh H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery // *Trends in Food Science and Technology*. – 2017. – P. 240-251.
- 13 Ramos P.E., Cerquera M.A., Teixeira J.A., Vecente A.A. Physiological protection of probiotic microcapsules by coatings // *Crit.rev. Food Sci. Nutr*. – 2018. – P. 1864-1877.
- 14 Tomaro-Duchesneau C., Saha S., Malhotra M., Kahouli I., Prakash S. Microencapsulation for the therapeutic delivery of drugs, live mammalian and bacterial cells, and other biopharmaceuticals: current status and future directions // *Journal of pharmaceutics*. – 2013. – № 55. – P. 1-19.
- 15 Carvalho A.S. Microencapsulation as a method of new technologies // *Journal of food science*. – 2013. – № 68. – P. 2538-2541.
- 16 Савицкая И.С., Нигметова К., Воронова Н.В., Кистаубаева А.С. Исследование антагонистической активности и жизнеспособности клеток лактобацилл, иммобилизованных на карбонизованном сорбенте // *Вестник КазНУ. Серия биологическая*. – 2012. – №4 (56) – С. 110-114.
- 17 Krasaekoopt W.; Bhandari B.; Deeth H.C. Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage // *LWT Food Sci. Technol*. – 2016. – № 39. – P. 177-183.
- 18 Mary M.D. Chitosan-alginate complex coacervate capsules: effects of calcium chloride, plasticizers and polyelectrolytes on mechanical stability // *Biotechnology progress*. – 2019. – № 2. – P. 1234-129.
- 19 Pasin B. L., Azón C. G. & Garriga A. M. Microencapsulación con alginato en alimentos // *Técnicas y aplicaciones. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. – 2012. – № 3. – P. 130-151.
- 20 Tian W., Song J., Wang Y., Yue L., Wang J., Dan T., Zhang H. Effect of different calcium salts and methods for triggering gelation on the characteristics of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* LIP-1 // *RSC Advances*. – 2015. – № 5. – P. 73352-73362.
- 21 Савицкая И.С., Абдулжанова М., Жумагалиева Ж., Кистаубаева А.С. Принципы отбора штаммов для нового лакто-содержащего пробиотика // *Вестник КазНУ. Серия биологическая*. – 2012. – №4 (56) – С. 114-119.
- 22 Araújo E. M., Raddatz G., Cichoski A. Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate // *Journal of Functional foods*. – 2016. – № 21. – P.321-329.
- 23 Chen H., Li X. Microencapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* and survival assays under simulated gastrointestinal conditions // *Journal of Functional foods*. – 2017. – № 29. – P. 248-255.
- 24 Lee K., & Heo, T. Survival of *Bifidobacterium longum* immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salt solution // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2010. – № 66. – P. 869-873.
- 25 Rajam R., Kumar, S. B., Prabhasankar P., & Anandharamkrishnan C. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* MTCC 5422 in fructooligosaccharide and whey protein wall systems and its impact on noodle quality // *Journal of Food Science and Technology*. – 2015. – № 52. – P. 4029-4041.
- 26 Nag A., Han K. S. & Singh H. Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum // *International Dairy Journal*. – 2011. – № 21. – P. 247-253.
- 27 Burgain J., Gaiani C., Francius G., Revol-Junelles A. M., Cailliez-Grimal C., Lebeer S. In vitro interactions between probiotic bacteria and milk proteins probed by atomic force microscopy // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2013. – № 104. – P. 153-162.

References

- 1 Fernandez M., Hudson J.A., Korpela R., Reyes-Gavilan C.G. (2015) Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: an overview. *Bio Med Research International*, no. 13, pp. 1-13.
- 2 Mortazavian A.M., Mohammadi R., Sohrabvandi S. (2012) Delivery of probiotic microorganisms into gastrointestinal tract by food products. *New Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology*. InTech, no. 61, pp. 121-146.
- 3 Shah N.P. (2000) Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal dairy science*, vol. 83, pp. 894-907.
- 4 Martensson O. (2012) The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products, *Food research international*, no. 35, pp. 775-784.
- 5 Marteau P. (2017) Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile. *J. Dairy Sci.*, no. 80, pp. 1031-1037.
- 6 Dave R.I. (2018) Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *Journal dairy science*, no. 81, pp. 2804-2816.

- 7 Champagne C.P. (2014) Immobilized cells technologies for the dairy industry. *Critical reviews in biotechnology*, no. 14, pp. 109-134.
- 8 Anan'eva N.V., Ganina V.I., Nefedova N.V., Gabril'yan G.R. (2009) Perspektivy primeneniya immobilizovannyh form probioticheskikh bakterij v proizvodstve molochnyh produktov [Prospects for the use of immobilized forms of probiotic bacteria in the production of dairy products]. *Molochnaya promyshlennost'*, no. 11, pp. 46-47.
- 9 Riaz Q.U.A., Masud T. (2013) Recent trends and applications of encapsulating materials for probiotic stability. *Food Science and Nutrition*, no. 53, pp. 231-244.
- 10 Sri S.J., Seethadevi A., Prabha K.S., Muthuprasanna P., Pavitra P. (2012) Microencapsulation: A Review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, no. 3, pp. 1-23.
- 11 Morales M.E., Ruiz M.A. (2016) Microencapsulation of probiotic cells: applications in nutraceutical and food industry. *In Nutraceuticals*, no. 1, pp. 627-668.
- 12 Anal A.K., Singh H. (2017) Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science and Technology*, pp. 240-251.
- 13 Ramos P.E., Cerquera M.A., Teixeira J.A., Vecente A.A. (2018) Physiological protection of probiotic microcapsules by coatings. *Crit.rev. Food Sci. Nutr.*, pp. 1864-1877.
- 14 Tomaro-Duchesneau C., Saha S., Malhotra M., Kahouli I., Prakash S. (2013) Microencapsulation for the therapeutic delivery of drugs, live mammalian and bacterial cells, and other biopharmaceuticals: current status and future directions. *Journal of pharmaceuticals*, no. 55, pp. 1-19.
- 15 Carvalho A.S. (2013) Microcapsulation as a method of new technologies. *Journal of food science*, no. 68, pp. 2538-2541.
- 16 Savickaya I.S., Nigmatova K., Voronova N.V., Kistaubaeva A.S. (2012) Issledovanie antagonistscheskoj aktivnosti i zhiznesposobnosti kletok laktobacill, immobilizovannyh na karbonizovannom sorbente [Study of antagonistic activity and viability of Lactobacillus cells immobilized on a carbonized sorbent]. *Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya*, no. 4 (56), pp. 110-114.
- 17 Krasakoopt W., Bhandari B., Deeth H.C. (2016) Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage. *LWT Food Sci. Technol.*, no. 39, pp. 177-183.
- 18 Mary M.D. (2019) Chitosan-alginate complex coacervate capsules: effects of calcium chloride, plasticizers and polyelectrolytes on mechanical stability. *Biotechnology progress*, no. 2, pp. 1234-129.
- 19 Pasin B. L., Azón C. G. & Garriga A. M. (2012) Microencapsulación con alginato en alimentos. *Técnicas y aplicaciones. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, no. 3, pp. 130-151.
- 20 Tian W., Song J., Wang Y., Yue L., Wang J., Dan T., Zhang H. (2015) Effect of different calcium salts and methods for triggering gelation on the characteristics of microencapsulated Lactobacillus plantarum LIP-1. *RSC Advances*, no. 5, pp. 73352-73362.
- 21 Savickaya I.S., Abdulzhanova M., ZHumagalieva ZH., Kistaubaeva A.S. (2012) Principy otbora shtammov dlya novogo laktosoderzhashchego probiotika [Principles for selecting strains for a new lactose -containing probiotic]. *Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya*, no. 4 (56), pp. 114-119.
- 22 Araújo E. M., Raddatz G., Cichoski A. (2016) Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of Lactobacillus acidophilus microencapsulated with sodium alginate. *Journal of Functional foods*, no. 21, pp. 321-329.
- 23 Chen H., Li X. (2017) Microencapsulation of Lactobacillus bulgaricus and survival assays under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional foods*, no. 29, pp. 248-255.
- 24 Lee K., & Heo, T. (2010) Survival of Bifidobacterium longum immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salt solution. *Applied and Environmental Microbiology*, no. 66, pp. 869-873.
- 25 Rajam R., Kumar, S. B., Prabhasankar P., & Anandharamkrishnan C. (2015) Microencapsulation of Lactobacillus plantarum MTCC 5422 in fructooligosaccharide and whey protein wall systems and its impact on noodle quality. *Journal of Food Science and Technology*, no. 52, pp. 4029-4041.
- 26 Nag A., Han K. S. & Singh H. (2011) Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum. *International Dairy Journal*, no. 21, pp. 247-253.
- 27 Burgain J., Gaiani C., Francius G., Revol-Junelles A. M., Cailliez-Grimal C., Lebeer S. (2013) In vitro interactions between probiotic bacteria and milk proteins probed by atomic force microscopy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, no. 104, pp. 153-162.