

УДК 637.1

Н.Б. Гаврилова**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ИММОБИЛИЗАЦИИ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ
В ГЕЛЬ БИОПОЛИМЕРОВ**

В статье приведены результаты аналитических и экспериментальных исследований процесса микрокапсулирования пробиотических микроорганизмов в гели биополимеров. Установлены вид и количество наиболее оптимальных биополимеров, параметры процесса микрокапсулирования. Определены способы пролонгирования сроков годности бактериальных препаратов в иммобилизованном и микрокапсулированном виде.

Микрокапсулирование микроорганизмов, пробиотические микроорганизмы, биополимеры, сроки годности бактериальных препаратов.

Введение

С учетом важной роли микрофлоры кишечника в формировании иммунобиологической реактивности организма исключительную значимость приобретает создание и использование продуктов функционального питания на основе микроорганизмов, относящихся к нормальным физиологическим обитателям кишечника здорового человека.

Согласно современным требованиям, предъявляемым к этим продуктам, пробиотические бактерии должны присутствовать в количестве, соответствующем терапевтической дозе (не менее $1 \cdot 10^8$ КОЕ/г продукта), сохранять жизнеспособность на протяжении всего срока хранения продукта и выживать в желудочно-кишечном тракте человека. В связи с этим актуально проведение исследований по выбору метода защиты клеток пробиотических культур в неблагоприятных условиях кисломолочных продуктов и желудочно-кишечного тракта.

Объекты и методы исследований

Для исследования выбраны следующие биообъекты: *L. acidophilus* штамм La-5; *Bifidobacterium lactis* штамм BB-12; *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*; *Lactis subsp. diacetilactis*; *Bifidobacterium bifidum* № 1 и их ассоциации. Экспериментальные исследования проводились в 3–5-кратных повторностях по общепринятым, стандартным методам исследований физико-химических, микробиологических и органолептических показателей.

Результаты и их обсуждение

Одним из способов получения высокоактивных и устойчивых в агрессивных условиях клеток микроорганизмов является иммобилизация методом наслаивания, т.е. заключение клеток в гидроколлоидные мембраны, обеспечивающие защиту клеток, доступ питательных веществ и отвод продуктов жизнедеятельности микроорганизмов во внешнюю среду.

На основании вышеизложенного, а также существующих медико-биологических требований к составу и свойствам продуктов функционального питания сформулированы основные требования к результату процесса иммобилизации культур пробиотических микроорганизмов, которые заключаются в следующем:

- носителем (подложкой) для иммобилизации должны быть биополимеры натурального происхождения;
- пробиотические культуры после иммобилизации наслаиванием должны иметь вид тонких пластинок (мембран);
- мембраны должны иметь период распадаемости при растворении от 0,5 до 1,0 ч;
- активность пробиотических культур должна поддерживаться в течение всего срока годности мембран и составлять не менее $1 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г активированной закваски.

При реализации сформулированных требований и выборе носителя для иммобилизации учитывались следующие факторы.

Иммобилизацию можно рассматривать как физическое разделение катализатора (клеток) и растворителя, при котором молекулы субстрата и продукта могут легко обмениваться между фазами. Важным фактором процесса иммобилизации является выбор биополимера (носителя). Включение живых клеток в гели биополимеров требует мягких условий иммобилизации. Носитель при этом должен представлять систему открытых пор с хорошими условиями для газообмена. Биополимеры обладают уникальными способностями загущения, студнеобразования, влагоудержания и стабилизации структурно-сложных систем. Для исследования выбраны биополимеры натурального животного и растительного происхождения: желатин и пектин. Такой выбор обусловлен следующим. Молекулы желатина и пектина состоят из групп атомов, резко различающихся по характеру взаимодействия с молекулами воды. Длинная мак-

ромолекула представляет собой распределение центров взаимодействия с молекулами воды, в результате чего создается гидратная оболочка макромолекулы.

Пектины независимо от источника их происхождения являются природными ионообменниками, способными замещать водороды карбоксильных групп на катионы поливалентных металлов. Для исследований выбран цитрусовый пектин марки SLENDID® type 200.

Желатин представляет собой смесь полипептидов с различной молекулярной массой. Совместное использование пектина и желатина на данный момент изучено недостаточно, что позволяет считать проведение исследований актуальным.

В зависимости от химической природы макромолекул и особенностей пищевой системы биополимеров возможны различные условия гелеобразования, которые приведены в табл. 1.

Таблица 1

Физико-химические показатели действия биополимеров

Показатель	Пектин	Желатин
Оптимальный диапазон pH	3,6–4,4	4,5–10,0
Условия гелеобразования	Активная кислотность не менее 4; сахара – 55–80 %	При температуре ниже застывания
Продолжительность растворения, мин, не более	10,0	25,0
Массовая доля влаги, %, не более	12,0	16,0
Массовая доля золы, %, не более	1,2	2,0

Пектин и желатин целесообразно применять для иммобилизации пробиотических культур микроорганизмов, так как оба биополимера представляют собой систему открытых пор с хорошими условиями для газообмена, гели данных биополимеров обладают хорошими диффузными качествами, способны образовывать структуры с оптимальным размером пор. Гелеобразование протекает при pH = 4,0–4,5, что является определяющим условием жизнеспособности пробиотической микрофлоры. Кроме того, желатин является источником глутаминовой кислоты и аргинина, пектин содержит пищевые волокна, которые стимулируют рост жизнеспособных клеток бифидобактерий, т.е. обладает свойствами пребиотика. Для выбора количественного соотношения биополимеров были проведены экспериментальные исследования.

Все исследования процесса иммобилизации проводились в строго стерильных условиях специального бокса, в котором была смонтирована и установлена пилотная лабораторная установка для проведения экспериментальных исследований.

Эксперимент состоял из последовательных этапов:

– подготовка – стерилизация или длительная высокотемпературная пастеризация (98±1) °С и выдержка (30±5) с обезжиренного молока и охлаждение его до температуры (38±1) °С;

– чистые монокультуры, полученные из бактериальной лаборатории ОНО «ВНИМИ-Сибирь» Россельхозакадемии, инокулировали в подготовленное обезжиренное молоко в соотношении 1:1:1;

– в термостате при температуре (38±1) °С активизировали ассоциацию пробиотических культур;

– одновременно подготавливалась смесь биополимеров, растворенных в соответствии с технической документацией по использованию изучаемых биополимеров в 0,9 % растворе NaCl, прошедшем обработку при температуре выше 100 °С;

– активизированную ассоциацию пробиотических культур соединяли с раствором биополимеров при температуре (35±1) °С и постоянном перемешивании в течение 15–20 мин;

– ассоциацию пробиотических культур, иммобилизованную в смесь биополимеров, дозировали слоями в стерильные формы, которые выдерживали в течение 15–20 мин в стерильных условиях специального бокса для полученных пленок (мембран). Герметически закрытые формы с мембранами хранились при температуре (4±2) °С до использования в экспериментальных исследованиях.

Все эксперименты проводились в 3–5-кратной повторности, при этом варьировалось соотношение биополимеров с целью изучения их влияния на качественные характеристики мембран с иммобилизованными пробиотическими культурами. Схема организации эксперимента по определению рационального соотношения биополимеров представлена в табл. 2.

Таблица 2

Схема проведения эксперимента

Номер опыта	Концентрация раствора биополимеров (2:1), %	Количество пектина, г/100 г	Количество желатина, г/100 г	Количество раствора хлористого натрия 0,9 %, мл
1	5	3,4	1,6	95
2	10	6,6	3,4	90
3	15	10,0	5,0	85
4	20	13,4	6,6	80
5	25	16,6	8,4	75

В зависимости от состава используемой композиции биополимеров качественные показатели мембран изменялись.

Качество полученных мембран оценивали по физико-химическим, органолептическим и микробиологическим показателям, представленным в табл. 3 и 4.

Анализ полученных данных, представленных в табл. 3, свидетельствует о том, что с увеличением концентрации биополимеров активность воды уменьшается, массовая доля сухих веществ увеличивается, активная кислотность не изменяется.

Таблица 3

Физико-химические характеристики мембран

Номер опыта	Массовая доля сухих веществ, %	Динамическая вязкость раствора биополимеров, мПа·с	Активность воды (a_w)	Активная кислотность, ед. рН
1	5,86±0,12	8,2	0,870	4,37
2	10,41±0,10	10,7	0,862	4,40
3	13,52±0,15	13,1	0,858	4,38
4	19,92±0,13	18,5	0,853	4,40
5	23,14±0,15	24,3	0,841	4,38

Таблица 4

Органолептические показатели мембран

Номер опыта	Внешний вид	Консистенция	Вкус и запах	Цвет
1	Мембраны не образуются			
2	Мембраны не образуются			
3	Правильная форма, имеет стандартную массу и размеры	Мягкие, слабо сохраняющие структуру	Без вкуса и запаха	Белый, с кремовым оттенком
4	Правильная форма, имеет стандартную массу и размеры	Упругие, сохраняющие структуру	Без вкуса и запаха	Белый, с кремовым оттенком
5	Правильная форма, имеет стандартную массу и размеры	Излишне упругие, ломкие	Без вкуса и запаха	Белый, с кремовым оттенком

Анализ физико-химических и органолептических показателей полученных мембран (см. табл. 4) свидетельствует о том, что образование упругих, сохраняющих и восстанавливающих свою структуру мембран происходит при количественном соотношении биополимеров в желирующей системе пектин : желатин как 2:1, при общей концентрации сухих веществ 20 % мас.

В связи с тем, что функциональные свойства полученных мембран зависят не только от наличия в них пищевых веществ, но и от количества жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов, необходимо обеспечить в продукте сохранность жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов в течение всего срока годности за счет создания благоприятной ростовой и температурной среды обитания микроорганизмов.

Микробиологические исследования проводили в следующих образцах (табл. 5):

- контроль – ассоциация пробиотических микроорганизмов в активизированной форме: *L. acidophilus* : *B. lactis* : *S. thermophilus* в соотношении 1:1:1;
- опыт – ассоциация пробиотических микроорганизмов в иммобилизованном виде (мембраны).

Таблица 5

Количество жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов в мембранах

Вариант	Общее количество молочнокислых микроорганизмов, КОЕ/см ³	Количество бифидобактерий, КОЕ/см ³	Количество ацидофильной палочки, КОЕ/см ³
Контроль	6,5·10 ¹⁰	2,1·10 ⁹	1,9·10 ¹⁰
Опыт	5,2·10 ¹⁰	2,0·10 ⁹	1,7·10 ¹⁰

Анализируя данные, представленные в табл. 5, можно заключить, что степень концентрирования жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов в исследуемых мембранах находится в пределах установленных требований.

Логарифм количества жизнеспособных клеток иммобилизованных микроорганизмов в гель биополимеров представлен на рис. 1.

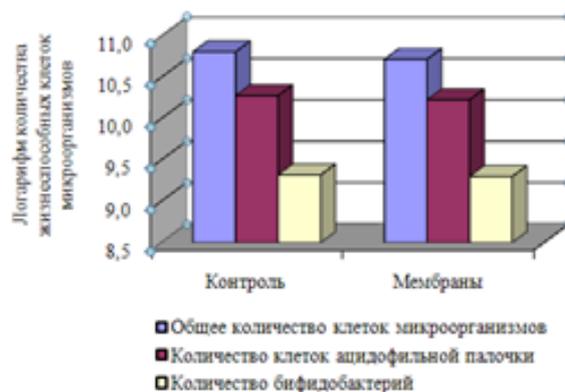


Рис. 1. Логарифм количества жизнеспособных клеток пробиотических культур, иммобилизованных в гель биополимеров

Таким образом, анализ представленных данных свидетельствует о незначительном снижении степени концентрирования жизнеспособных клеток иммобилизованных культур микроорганизмов в мембранах, что положительно характеризует иммобилизацию как метод защиты клеток в неблагоприятных условиях.

Не менее важным критерием пробиотических свойств заквасок является способность микроорганизмов приживаться в желудочно-кишечном тракте человека. В связи с этим были проведены исследования по изучению устойчивости иммобилизованных клеток микроорганизмов к желчи, NaCl и щелочной реакции среды, т.е. к веществам желудочно-кишечного тракта. Результаты исследований представлены в табл. 6.

В результате исследований было установлено, что иммобилизованные клетки микроорганизмов проявили устойчивость к исследуемым концентрациям тест-веществ, что может рассматриваться как косвенный показатель лучшей способности иммоби-

лизированных клеток микроорганизмов приживаться в желудочно-кишечном тракте человека. Предположительно такая закономерность прослеживается за счет наибольшего количества ассоциированных компонентов (протеины, полисахариды) клеточных стенок микроорганизмов, содержащих пектины, которые комплементарны соответствующим рецепторам, расположенным на мембранах эпителиальных клеток. Именно пектины, соединения белковой или гликопротеиновой природы, проявляющие специфическую и обратимую углеводсвязывающую активность, являются медиаторами адгезии, обеспечивая поддержание жизнеспособности пробиотических клеток микроорганизмов, иммобилизованных в гель биополимеров.

Таблица 6

Устойчивость иммобилизованных клеток микроорганизмов к веществам желудочно-кишечного тракта

Устойчивость	Вариант	
	Контроль	Опыт
К желчи, %	30,0	40,0
К фенолу, %	0,4	0,4
К NaCl, %	6,5	4,0
К щелочной реакции среды, pH	8,3–9,6	8,3–9,2

Проверка степени растворимости мембран позволила заключить, что период распадаемости мембран составляет от 0,5 до 1,0 ч.

Результаты изучения перевариваемости белков исследуемых мембран пищеварительными ферментами (*in vitro*) свидетельствуют о том, что по сравнению с контрольным опытные образцы характеризуются лучшей перевариваемостью.

Для биологических продуктов (пробиотиков), обогащенных функциональными ингредиентами в виде ассоциации культур, приоритетным показателем является уровень клеточной концентрации пробиотических микроорганизмов, достигнутый вследствие использования закваски и технологических параметров производства. Это положение в полной мере относится к мембранам клеток ассоциации культур, иммобилизованных в гель биополимеров. Производители заквасок используют различные методы пролонгирования их срока годности: замораживание, высушивание и др.

Для длительного хранения иммобилизованных клеток микроорганизмов в виде мембран (пластинок) использовали консервирование высушиванием при низких температурах с целью снижения влияния процесса термоинактивации молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий и создания условий, приводящих их в анабиотическое состояние.

Сублимационная сушка (лиофилизация) – самый современный и перспективный метод консервирования пищевых продуктов, обеспечивающий наиболее совершенное высушивание с максимальным

сохранением природных, пищевых, органолептических и биологических свойств продукта и генетическую стабильность основных свойств пробиотических культур в неблагоприятных условиях.

Сублимационную сушку мембран осуществляли в производственной сушильной установке марки TG 50. Использовали стандартные условия для высушивания заквасок, приведенные в блок-схеме (рис. 2).

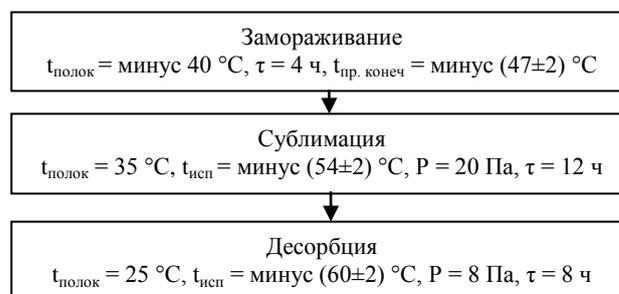


Рис. 2. Блок-схема высушивания мембран на сублимационной сушилке марки TG 50

Свежие и сухие мембраны измельчали, расфасовывали в сухие стерильные флаконы и помещали на хранение. Был установлен режим холодильного хранения при температуре (4 ± 2) °C. Для определения срока годности была разработана программа, составленная в соответствии с рекомендациями МУК 4.2.1847-04, и установлена периодичность исследований.

Сравнительная гистограмма жизнеспособных клеток пробиотических культур микроорганизмов в процессе хранения мембран представлена на рис. 3.

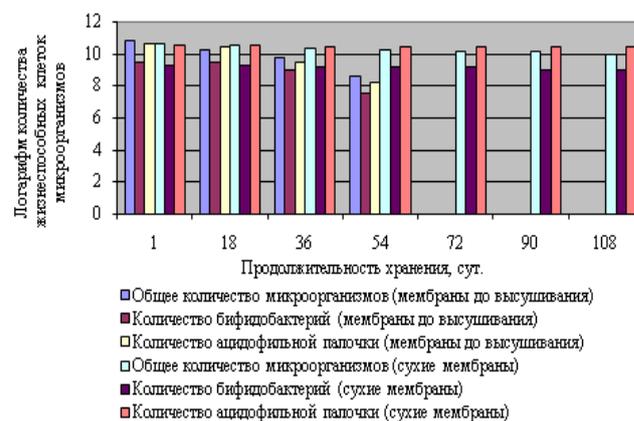


Рис. 3. Сравнительная гистограмма жизнеспособных клеток пробиотических культур микроорганизмов в процессе хранения мембран

Гарантированный срок хранения мембран, не подвергнутых сублимационной сушке, составляет 18 сут., сухих мембран – 90 сут. при температуре (4 ± 2) °C.

По результатам исследований разработана технология бактериального концентрата пробиотических культур, иммобилизованных в гель биополиме-

ров, и нормативная документация. Апробация бактериального концентрата проводилась на молочном предприятии г. Омска ОАО «ВНИМИ-Сибирь» Россельхозакадемии.

На жизнеспособность микроорганизмов влияет большое количество самых разнообразных факторов: изменение температуры, состав питательных веществ, pH, давление и др.

В процессе роста и развития культур микроорганизмов могут одновременно протекать три различных взаимосвязанных процесса:

- процесс роста активной части популяции, при котором происходит увеличение численности активных (размножающихся) клеток;
- процесс пассивации активных клеток, в результате которого часть популяции переходит в пассивное (пассивированное) состояние;
- процесс отмирания пассивной части популяции, приводящий к гибели пассивных клеток.

Учеными ОмГАУ также изучен процесс микрокапсулирования микроорганизмов в гель полимеров. Известно, что микрокапсулирование – это процесс включения микрочастиц (в данном случае микроорганизмов) в тонкую оболочку (матрицу) пленкообразующего материала. В качестве матрицы можно использовать желатин, агар, альгинат, пектин, крахмал. Наряду с природными широкое применение находят и синтетические полимеры (полиакриламидный гель, полиуретаны, поливиниловый спирт и др.) [1].

При выборе биополимеров для получения более эффективного результата необходимо учесть ряд аспектов:

- формирование желаемой текстуры продукта – образование микрокапсул сферической формы;
- подготовка и дозировка биополимера для достижения необходимого эффекта – формирование тонкой пленки;
- температура микрокапсулирования;
- особенности каждого биополимера – pH, химический состав, условия гелеобразования;
- размеры и свойства микрокапсул.

В зависимости от химической природы макромолекул и особенностей пищевой системы выбраны следующие пленкообразователи (табл. 7).

Для проведения исследований была разработана пилотная установка, состоящая из специального бокса, бактерицидного излучателя, штатива, магнитной мешалки, сита (размер ячеек 1,4 мм) и др.

В боксе поддерживались асептические условия, манипуляции проводились через специальные отверстия. Суспензию активизированных микроорганизмов соединяли с раствором биополимеров при температуре $(38 \pm 1)^\circ\text{C}$ и затем через нижнее отверстие осуществляли перемещение раствора капельным путем в раствор хлористого натрия для формирования микрокапсул и их затвердевания.

На основании результатов экспериментов, проведенных в 5-кратной повторности, установлено, что для капсулирования микроорганизмов с использованием желатина, пектина и крахмала рациональным является соотношение 5:1:1. В результате образуются стойкие, однородные, упругие капсулы, сохраняющие свою структуру.

Преимуществами желатина как носителя являются его доступность, возможность получения различных форм – гранул, пластин, мембран и т.д., наличие различных функциональных групп, а также то, что гелеобразование желатина не зависит от pH и не требует присутствия других реагентов.

Таблица 7

Характеристика биополимеров

Наименование	Растворимость в воде при температуре, °C	Оптимальный диапазон pH, ед.	Условия гелеобразования
Гену пектин LM-106 AS-YA	20	2,5–5,5	Активная кислотность не менее 4,0 ед.
Желатин	Выше 60	4,5–10,0	При температуре ниже застывания
Крахмал	20	4–7	При температуре ниже застывания

Таблица 8

Физико-химические характеристики растворения (распада) капсул

Показатель	Растворитель	
	молоко	желудочный сок
Температура, °C	36–38	36–38
Активная кислотность, pH	7,0	6,4–6,7
Время, ч	0,2	0,33

Применение пектина, обладающего способностью вывода из организма тяжелых металлов, позволяет решить проблему профилактического питания для групп населения, проживающего в промышленно развитых городах. Также пектин оказывает стимулирующее действие на клетки микроорганизмов.

Крахмал, в свою очередь, создает хорошие условия для газообмена; обладая высокой степенью гидрофильности, обеспечивает возможность связывания клеток микроорганизмов с носителем. Комплексное использование желатина, пектина и крахмала в качестве носителя для иммобилизации позволяет получить стойкие, однородные, упругие капсулы, сохраняющие структуру.

Важным параметром, характеризующим опытные образцы капсул, является их способность к постепенному растворению. Одним из параметров твердых форм, которому придают большое значение, является время распада и (или) скорость растворения *in vitro*. Для твердых капсул под распадом понимается полное растворение в среде испытания (молоко или искусственный желудочный сок) при данной температуре (20 или 37 °C). Этот процесс распада должен завершаться за указанное время (Европейская фармакопея регламентирует 30 мин). Фактиче-

ская скорость растворения зависит от многих факторов: температуры, pH, смачиваемости, плотности частиц и др. Результаты приведены в табл. 8.

На основании сравнения полученных результатов можно сделать вывод, что капсулы из смеси желатина, пектина и крахмала быстрее растворяются в молоке, чем в желудочном соке.

Для исследования процесса хранения пробиотических микроорганизмов выбран режим холодиль-

ного хранения при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$. В свежих образцах капсул определены следующие показатели: общее количество жизнеспособных клеток микроорганизмов, в том числе бифидобактерий и ацидофильной палочки, органолептические показатели, активность воды (табл. 9).

Таблица 9

Физические, микробиологические и органолептические показатели опытных образцов капсул

Объект исследования	Активность воды	Количество микроорганизмов, КОЕ/г			Органолептические показатели	
		общее	в том числе		внешний вид и консистенция	запах
			бифидобактерий	ацидофильной палочки		
Опытные образцы капсул	0,871	$5,9 \cdot 10^{10}$	$3,2 \cdot 10^9$	$4,5 \cdot 10^{10}$	Стойкие, сферической формы, упругие	Отсутствует

Срок годности микроорганизмов в микрокапсулированном виде при температуре хранения $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ составляет 15 сут.

Большая часть исследовательских работ связана с поиском наилучшего способа обработки заквасок с целью сохранения активности микроорганизмов, входящих в их состав. Одним из таких способов является замораживание. Известны различные режимы заморозки и, соответственно, хранения замороженных культур.

Нами исследован процесс замораживания опытных образцов капсул в морозильной камере Liebherr GN 2356 с температурой замораживания минус $18-20^\circ\text{C}$. При этом учитывались рекомендации, представленные в научных трудах профессора О.Н. Буянова (КемТИПП), и метод, предложенный профессорами Э.И. Гуйго и А.З. Вольнец, согласно которому исследуемые продукты замораживают в холодильной камере при температуре минус $18-20^\circ\text{C}$ в виде пластины со строгим соблюдением одинаковой толщины слоя (по $0,001$ м каждый слой) [2-4].

Капсулы просеивали через лабораторные сита с различным диаметром отверстий. Затем капсулы распределяли по размерам в три слоя с различной толщиной слоев: 1 – $0,9-1,0$ мм; 2 – $0,7-0,8$ мм; 3 – $0,5-0,6$ мм, которые замораживали при температуре минус 18°C и фиксировали время замораживания (ч). После этого проводили расчет эффективной скорости замораживания, при этом основным критерием был выбран показатель – количество жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов после замораживания.

Скорость замораживания является важной характеристикой процесса замораживания. Средняя скорость замораживания – отношение толщины замороженного слоя ко времени его образования [5] – определяется по формуле

$$v = \frac{\delta}{\tau}, \quad (1)$$

где v – средняя скорость замораживания, см/ч; δ – толщина замороженного слоя, см; τ – время, ч.

При этом существует определение, что замораживание продукта со скоростью до $0,5$ см/ч – медленное, $0,5-3,0$ см/ч – ускоренное, $3-10$ см/ч – быстрое, $10-100$ см/ч – сверхбыстрое.

Расчеты позволили определить, что скорость замораживания опытных продуктов $v = 0,05$ см/ч. При таком режиме степень выживания общего количества жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов составляет $(90,0 \pm 5,0)\%$ от их первоначального количества, установленного до замораживания.

После хранения капсул при температуре минус $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение различного периода времени капсулы размораживали при комнатной температуре до положительных температур и проводили их органолептическую оценку (внешний вид, консистенция), химические исследования и микробиологические: определяли остаточное количество жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов.

Для оценки жизнеспособности пробиотических микроорганизмов в микрокапсулированном виде использованы коэффициенты [6]:

$$K_{\text{ch}} = \frac{\lg \text{KOE}_n - \lg \text{KOE}_o}{T} = \frac{D \lg \text{KOE}}{T}; \quad (2)$$

$$\Pi_{\text{ж}} = \frac{1}{K_{\text{ch}}}, \quad (3)$$

Таблица 11

где $K_{сн}$ – коэффициент среднесуточного снижения численности клеток микроорганизмов; $P_{ж}$ – показатель жизнеспособности клеток микроорганизмов; $Ig\ KOE_n$ – логарифм численности клеток микроорганизмов на конечном этапе хранения; $Ig\ KOE_0$ – логарифм численности клеток микроорганизмов на начальном этапе хранения; T – продолжительность хранения.

Результаты расчетов представлены в табл. 10 и 11.

Таблица 10

Степень выживаемости клеток пробиотических микроорганизмов в микрокапсулированном виде

Показатель	Количество жизнеспособных клеток, КОЕ/г		
	общее количество	бифидобактерий	ацидофильной палочки
$K_{сн}$	0,15	0,13	0,16
$P_{ж}$	6,67	7,69	6,25

На основании анализа результатов экспериментальных данных по комплексному исследованию химических, микробиологических, органолептических характеристик определен срок годности закваски на основе ассоциации пробиотических

Степень выживаемости клеток пробиотических микроорганизмов в микрокапсулированном виде после замораживания

Показатель	Количество жизнеспособных клеток, КОЕ/г		
	общее количество	бифидобактерий	ацидофильной палочки
$K_{сн}$	0,016	0,015	0,015
$P_{ж}$	62,500	66,670	63,690

микроорганизмов в микрокапсулированном виде при температуре $(4\pm 2)^\circ\text{C}$ – 15 сут., при температуре минус 18°C – 5 месяцев (150 сут.) [7–9].

С использованием бактериальных концентратов культур в иммобилизованном и микрокапсулированном виде разработаны технологии ряда кисломолочных продуктов с пробиотиками:

– ферментированный десертный продукт (пудинг) СТО 00456243-010-2007;

– кисломолочный продукт «Премиум» СТО 5638524-008-2010;

– биопродукт СТО 49527279-005-2008 и др.

Научная новизна технологий отражена в патентах № 2380912 РФ «Способ получения ферментированного продукта из пахты» и № 2368144 РФ «Способ производства десертного продукта».

Список литературы

1. Suo, Z. Efficient Immobilization and Patterning of Live Bacterial Cells / Z. Suo, R. Avci, X. Yang, David W. Pascual // *Langmuir*. – 2008, April 15. – 24 (8). – P. 4161–4167.
2. Буянова, И.В. Физико-химические особенности технологии низкотемпературного хранения сыров: монография / И.В. Буянова. – Кемерово, 2005. – 196 с.
3. Гуйго, Э.И. Сублимационная сушка в пищевой промышленности / Э.И. Гуйго, Н.К. Журавская и др. – М.: Пищевая пром-сть, 1972. – 246 с.
4. Tsen, J.-H. Enhancement of freezing-resistance of *Lactobacillus rhamnosus* by the application of cell immobilization / J.-H. Tsen, Hui-Ying Huang, V. An-Erl King // *J. Gen. Appl. Microbiol.* – 2007. – Vol. 53. – P. 215–219.
5. Большаков, С.А. Холодильная техника и технология продуктов питания / С.А. Большаков. – М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 304 с.
6. Пасько, О.В. Научное и практическое обоснование технологии ферментированных молочных и молочносодержащих продуктов на основе биотехнологических систем: монография / О.В. Пасько, Н.Б. Гаврилова. – Омск: Изд-во ОмЭИ, 2009. – 256 с.
7. Гладилова, О.А. Кисломолочный продукт с пробиотическими свойствами, обогащенный кальцием / О.А. Гладилова, Н.Б. Гаврилова // *Молочная пром-сть*. – 2009. – № 11. – С. 76–77.
8. Кашеева, Н.Л. Ферментированный продукт для функционального питания / Н.Л. Кашеева, Н.Б. Гаврилова // *Молочная пром-сть*. – 2010. – № 1. – С. 67–68.
9. Назаренко, Т.А. Изучение процесса микрокапсулирования культур микроорганизмов в гели биополимеров / Т.А. Назаренко, Н.Б. Гаврилова, О.В. Пасько // Сб. материалов V специализированного конгресса «Молочная промышленность Сибири». – Барнаул, 2006. – С. 96–97.

ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет»,
644008, Россия, г. Омск, Институтская пл., 2.
Тел./факс: (3812) 65-11-46
e-mail: adm@omgau.ru

SUMMARY**N.B. Gavrilova****EXPERIMENTAL RESEARCH OF MICROORGANISM CELLS IMMOBILIZATION
RESULTING IN BIOPOLYMER GEL**

In the article the results of analytical and experimental research of microencapsulation of probiotic microorganisms resulting in biopolymer gels are reported. The kind and quantity of the optimum biopolymers, parameters of microencapsulation process are established. The way of shelf life prolongation for immobilized and microencapsulated bacterial preparations have been determined.

Microorganism microencapsulation, probiotic microorganisms, biopolymers, bacterial preparation shelf life.

Omsk state agrarian university,
644008, Russian Federation, Omsk city, Institutskaya sq., 2.
Phone/Fax: (3812) 65-11-46
e-mail: adm@omgau.ru