

КОРКАЧ А.В., канд. техн. наук, доцент, КРУСИР Г.В., д-р. техн. наук, доцент, ЕГОРОВА А.В., канд. техн. наук, доцент  
Одесская национальная академия пищевых технологий

## ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДА ИММОБИЛИЗАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ТЕХНОЛОГИИ КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЙ

В работе рассмотрены основные тенденции развития рынка функциональных продуктов; приведена классификация методов иммобилизации микроорганизмов и обоснована перспектива применения иммобилизованных бифидобактерий в технологии кондитерских изделий.

**Ключевые слова:** пробиотики, функциональные продукты, дисбактериоз, иммобилизация, бифидобактерии, микрокапсулирование, кондитерские изделия.

The paper deals with the functional foods market, the characteristic of the normal intestinal microflora, a classification of methods for immobilization of microorganisms and reasonable prospects of immobilized bifidobacteria in confectionery technology.

**Keywords:** probiotics, functional foods, goiter, immobilization, bifidobacteria, microencapsulation, confectionery.

Здоровье населения в настоящее время остается приоритетным направлением развития нашей страны. Научные подходы к оздоровлению человека и его активной жизнедеятельности, основанные на массовом использовании продуктов питания, базируются на современных методах исследований и разработок в области пищевой промышленности, медицины и нутрициологии. Научное обоснование, разработка технологии и внедрение функциональных продуктов с направленными физиолого-биохимическими свойствами, а также повышение эффективности их действия относится к одной из актуальных проблем современной гигиены и пищевой технологии.

Развитие рынка функциональных продуктов питания во всем мире имеет положительную динамику. Так, по оценке экспертов, в 2012 году в этом сегменте было израсходовано около 1 трлн долл. США. Основные тенденции развития данного направления, по словам известного экономиста Поля Пильзера, связаны с тем, что «потребители во всем мире ищут новые возможности улучшения своего физического, эмоционального и психического здоровья, замедления процессов старения и увеличения периода трудоспособности».

В последнее десятилетие примерно у 90 % населения Украины увеличилась частота распространения микробиологических расстройств. Термин «дисбактериоз», введенный в 1916 году А. Nissle, характеризует патологическое состояние кишечной микрофлоры, проявляющееся в выраженном сдвиге видового и количественного соотношения микроорганизмов. Такое состояние, приводящее к подавлению нормальной микрофлоры и размножению условно-патогенных бактерий, является пусковым механизмом для расстройства обменных процессов, развития аллергических реакций и возникновения различных соматических заболеваний. Для коррекции болезненных состояний, связанных с дисбактериозом, в медицинской практике широко применяются различные препараты, созданные на основе живых штаммов микроорганизмов, входящих в состав нормальной микрофлоры кишечника человека. Комитет ООН по продовольственным вопросам и сельскохозяйственному производству (FAO) и Всемирная организация здравоохранения (WHO) опубликовали совместное заявление, в ко-

тором определено, что основные штаммы пробиотиков принадлежат к двум родам *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, которые являются важными представителями нормальной микрофлоры человека.

Массовое и регулярное потребление продуктов, содержащих живую пробиотическую микрофлору, позволит обеспечить устойчивый лечебно-профилактический эффект. По прогнозам ведущих специалистов в области питания и медицины, в ближайшие 15–20 лет доля пробиотиков и продуктов функционального питания достигнет 30 % соответствующего сегмента мирового рынка. Причем интерес к проблемам микробной экологии человека и бактериальной терапии в последние годы достиг такого размаха, что XXI век предложено назвать эрой пробиотиков [1, 2].

В вопросе потребления продуктов питания, содержащих пробиотические микроорганизмы, Украина отстает от стран Европы, США и Японии. Для укрепления и поддержания здоровья нации необходимо увеличить потребление пробиотиков населением, что можно осуществить лишь путем всеобщей фортификации продуктов питания, в том числе, и кондитерских изделий.

Анализ патентной и научно-технической литературы позволяет сделать заключение об отсутствии в Украине разработок и производства кондитерских изделий, включающих пробиотики.

В обычных пероральных препаратах пробиотиков выживаемость инъектируемых микроорганизмов составляет 2 – 5 и менее процентов [3]. Увеличить этот показатель можно, окружив микроорганизмы защитной оболочкой в ходе процесса иммобилизации.

В настоящее время иммобилизованными считаются такие клетки, для которых созданы искусственные ограничения подвижности во внешней среде, а материальный посредник, обеспечивающий эти ограничения подвижности, считается носителем.

Известно, что в зависимости от природы сил, удерживающих клетку в зоне носителя, методы иммобилизации клеток подразделяются на химические и физические (рис. 1.) [4].

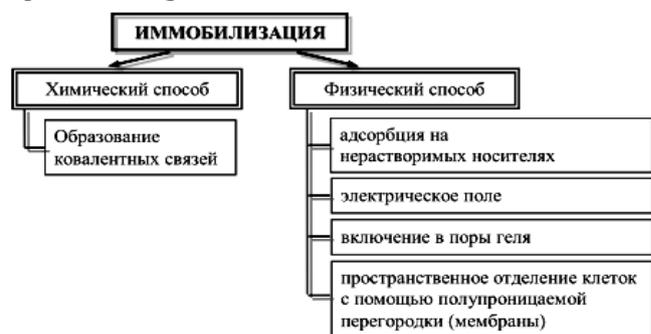


Рис. 1. Классификация методов иммобилизации в зависимости от силы, удерживающей клетку

Второй способ классификации базируется на принципе конечного состояния удерживаемой носителем клетки (рис. 2.) [4].

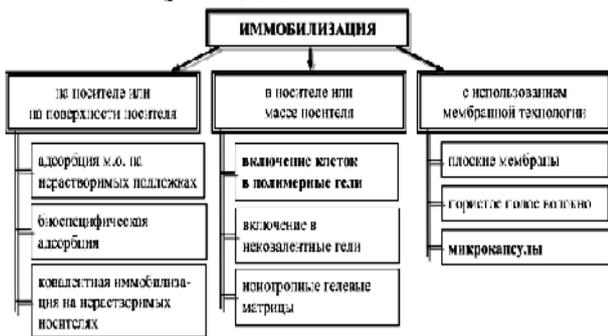


Рис. 2. Классификация методов иммобилизации по конечному состоянию клетки

Ко всем методам иммобилизации клеток и к используемым при этом носителям предъявляются определенные требования [4]:

1. Используемый способ иммобилизации не должен в значительной степени затрагивать ферментативные системы клетки, необходимые для реализации конкретной технологии. Поэтому при проведении иммобилизации желателен либо совсем исключить, либо свести к минимуму контакт клеток с токсичными для них веществами, а также предотвратить нежелательное воздействие на микроорганизмы температурных и осмотических стрессов.

2. Необходимо осуществлять иммобилизацию таким образом, чтобы в результате клетки удерживались носителем.

3. Трудоемкость стадии иммобилизации должна быть минимальной, как и число манипуляций с клетками.

4. Необходима хорошая операционная стабильность получаемых иммобилизованных биокатализаторов для их длительной сохраняемости, что зависит от механической, химической и биологической устойчивости носителя в условиях конкретного технологического процесса.

5. Необходимо обеспечение иммобилизованных микроорганизмов питательными веществами и отвод продуктов жизнедеятельности, т.е. материал носителя не должен создавать значительных диффузионных препятствий массообменным процессам.

6. При выборе метода иммобилизации необходимо учитывать экономическую сторону вопроса.

Классификация носителей, применяемых для иммобилизации клеток, схематично представлена на рис. 3.

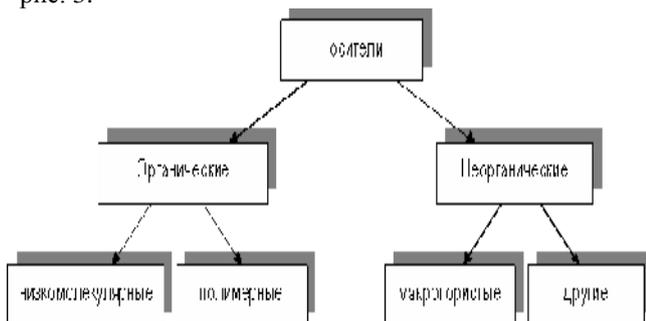


Рис. 3. Классификация носителей

Следует отметить, что органические носители (как низко-, так и высокомолекулярные) могут быть природного или синтетического происхождения. Природные полимерные органические носители разделяют в соответствии с их биохимической классификацией на 3 группы: полисахаридные, белковые и липидные.

Синтетические полимеры также можно разделить на группы в соответствии с химическим строением основной цепи макромолекул: полиметиленовые, полиамидные, полиэфирные.

Важным фактором процесса иммобилизации является выбор биополимера (носителя). Для иммобилизации микроорганизмов в пищевой промышленности наиболее широко используются природные полисахариды. Применение природных полимеров в качестве носителей для иммобилизации объясняется их доступностью и наличием реакционно-способных функциональных групп, легко вступающих в химические реакции. Характерной особенностью этой группы носителей является их высокая гидрофильность и биодegradуемость.

Включение живых клеток в гели биополимеров происходит в мягких условиях иммобилизации. Носитель обладает развитой системой открытых пор с достаточными условиями для газообмена. Биополимеры обладают уникальными способностями студнеобразования, влагоудержания и стабилизации структурно-сложных систем.

При выборе биополимера для наиболее эффективного решения конкретной технологической задачи, руководствуются рядом аспектов:

- биополимер при растворении участвует в процессе гелеобразования путем повышения вязкости раствора;

- биополимер не оказывает влияния на химические и органолептические показатели готовых продуктов.

Необходимо учитывать также температурные режимы технологического процесса, температурные режимы хранения готового продукта, биодegradуемость биополимера, физиологические свойства биополимера, экономическую целесообразность применения выбранных биополимеров.

Вышеизложенным требованиям соответствует пектин, представляющий собой систему открытых пор с необходимыми условиями для газообмена, гели данного биополимера обладают достаточными диффузными качествами, способны образовывать структуры с оптимальным размером пор. Молекулы пектина состоят из групп атомов, резко различающихся по характеру взаимодействия с молекулами воды. Длинная макромолекула представляет собой распределение центров взаимодействия с молекулами воды, в результате чего создается гидратная оболочка макромолекулы. Гелеобразование протекает при pH = 4,0–4,5, что является определяющим условием жизнеспособности пробиотической микрофлоры. Кроме того, пектин является пребиотиком, стимулирующим рост жизнеспособных клеток бифидобактерий. Пектины независимо от источника их происхождения являются природными ионообменниками, способными замещать протоны карбоксильных групп на катионы

поливалентных металлов.

Пектин используется в кондитерской промышленности как студнеобразователь при производстве пастило-мармеладных изделий. Благодаря тому, что он состоит из полигалактуроновой кислоты, часть карбоксильных групп которой метоксилирована, а часть вторичных спиртовых групп может быть ацетилирована, он представляет собой уникальный биологический продукт с детоксицирующими и радиопротекторными свойствами, способствует нормализации обмена веществ, положительно влияет на перистальтику кишечника и на специфический иммунитет, что предопределяет его широкое применение в диетическом и лечебно-профилактическом питании [5, 6].

Первичная структура частично этерифицированного пектина представлена на рис. 4.

Целью данной работы является сравнительная характеристика методов иммобилизации пробиотических микроорганизмов для последующего применения их иммобилизованных форм в производстве кондитерских изделий.

В качестве пробиотиков были исследованы бифидобактерии *Bifidobacterium bifidum*, являющиеся основой коммерческого препарата «Бифидумбактерин».

Изучены два метода иммобилизации: включение в гель и микрокапсулирование. Включение в гель осуществляли при 30...35 °С путем суспендирования бифидобактерий в растворе пектина. Микрокапсулирование проводили введением в реакционную смесь раствора хлористого кальция для перевода ее в микрокапсулы. В результате клетки оказываются окруженными пространственной сеткой набухшего сшитого химическими и физическими связями полимера. Через эту сетку, содержащую, кроме клеток, значительную долю «иммобилизованной» жидкости, происходит отвод метаболитов.

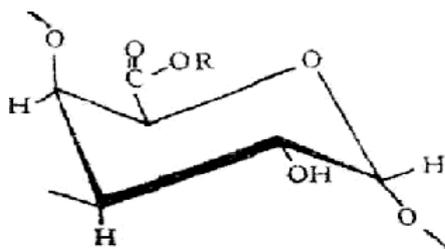


Рис. 4. Первичная структура частично этерифицированного пектина (R=H или -CH<sub>3</sub>)

Сравнительную характеристику свободных и иммобилизованных форм микробных клеток, полученных с использованием соответствующих методов иммобилизации, проводили путем изучения их стабильности в модельных условиях реального пищеварения.

Свободные и иммобилизованные формы микроорганизмов инкубировали в течение 30 и 60 мин в среде с желудочным соком и 60 и 120 мин с желчью. Для оценки жизнеспособности микроорганизмов в свободной и иммобилизованной формах производили их посев на питательную среду с последующим культивированием при температуре 30±1 °С в течение 48 часов и подсчетом выросших колоний микроорганизмов.

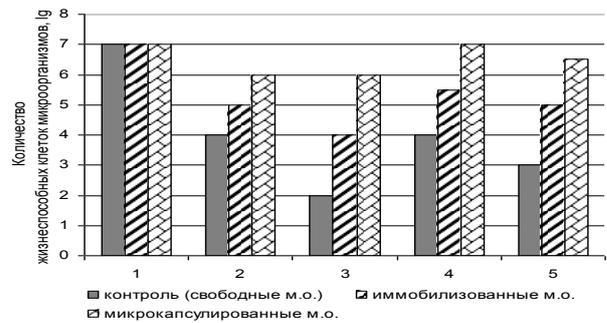


Рис. 5. Степень выживаемости иммобилизованных, микрокапсулированных и свободных клеток *Bifidobacterium bifidum* в неблагоприятных условиях, имитирующих желудочно-кишечный тракт: 1 – без воздействия желудочного сока и желчи; 2 – экспонирование 30 минут в желудочном соке; 3 – экспонирование 60 минут в желудочном соке; 4 – экспонирование 60 минут в желчи; 5 – экспонирование 120 минут в желчи

Экспериментальные данные, представленные на рис. 5, свидетельствуют о том, что иммобилизованные в гель и инкапсулированные формы микроорганизмов характеризуются большей стабильностью по отношению к агрессивным средам желудка и двенадцатиперстной кишки по сравнению со свободной формой клеток. Выбранные способы иммобилизации являются эффективными методами защиты пробиотических микроорганизмов от инактивирующего воздействия кислой среды желудка и щелочной среды двенадцатиперстной кишки. Но наиболее эффективным способом иммобилизации является микрокапсулирование, так как микрокапсулированные формы отличаются максимальной стабильностью в агрессивных средах ЖКТ.

Микрокапсулированные формы бактерий обладают значительными преимуществами по сравнению со свободными формами. Как следует из экспериментальных данных, их выживаемость в ЖКТ составляет 70...90 %. Причиной такого увеличения стабильности является то, что, во-первых, оболочка микрокапсулы формируется из ацидорезистентного полимера, устойчивого к действию соляной кислоты желудочного сока. Это свойство является доминирующим для микрокапсул, которые должны достичь нижних отделов тонкого кишечника, где происходит разрушение их оболочек с высвобождением бактерий и последующим заселением ими слизистой толстого кишечника. Во-вторых, микрокапсулированная форма при введении в организм разрушается постепенно и обеспечивает продолжительное поступление бактерий в окружающую среду. Конкуренция за субстрат снижается в точке выхода бактерий и обеспечивается лучшая колонизация слизистых оболочек.

Результаты экспериментальных исследований по изучению возможности введения микрокапсулированных бифидобактерий в рецептуры желеино-мармелада, помадных конфет и зефира [7, 8] свидетельствуют о целесообразности их введения в состав кондитерских изделий. Определена оптимальная массовая доля иммобилизованных микроорганизмов для придания пробиотических свойств кондитерским изделиям, исследовано влияние способов иммобилиза-

ции на стабільність бифидобактерій в составе кондитерських изделий в процесі хранения.

Таким образом, иммобилизация пробиотических культур методами включения в полимерные гели и микрокапсулирования позволяет поддерживать жизне-

способность клеток микроорганизмов в неблагоприятных условиях и открывает широкие возможности для создания кондитерских изделий функционального назначения.

Поступила 02.2013

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Янковский, Д.С. Микрофлора и здоровье человека [Текст] / Д.С. Янковский, Г.С. Дымент. – К.: ТОВ «Червона Рута – Турс», 2008. – 552 с.
2. Янковский, Д.С. Пробиотики XXI столетия. Достижения, проблемы, дискуссии [Текст] / Д.С. Янковский, Г.С. Дымент // Роль пробиотиків в охороні здоров'я матері та дитини. – 2006. – №1. – С. 7–18.
3. Liserre, A.M. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions [Text] / A.M. Liserre, Maria Ines Re, Bernadette D.G.M. Franko // Food Biotechnology, 2007. – Vol. 21. – № 1. – P. 1–16.
4. Синицын А.П. Иммобилизованные клетки микроорганизмов [Текст] / А.П. Сينيцын, Е.И. Райнина, В.И. Лозинский, С.Д. Спасов. – М.: Изд-во МГУ, 1994. – 288 с.
5. Донченко, Л.В. Пектинсодержащие молочные продукты нового поколения [Текст] / Л.В. Донченко // Переработка молока. – 2006. – № 5. – С. 30–31.
6. Назаренко, Т.А. Аналитическое обоснование выбора структурообразующих систем и биобъектов [Текст] / Т.А. Назаренко, Н.Б. Гаврилова, О.В. Пасько // Актуальные проблемы техники и технологии переработки молока. – 2006. – № 2. – С. 196–197.
7. Коркач, А.В. Изменение качества желеиногo мармелада с синбиотическим комплексом в процессе хранения [Текст] / А.В. Коркач, А.В. Егорова, И.О. Киртока // Пищевая наука и технология. – 2012. – №1 (18). – С. 7–11.
8. Коркач, А.В. Структурно-механические свойства помадных конфет с синбиотической добавкой [Текст] / А.В. Коркач, А.В. Егорова, В.Г. Муратов, И.О. Киртока // Наукові праці ОНАХТ. – Одеса, 2012. – Вип. 42. – Т. 1. – С. 197–202.

УДК 547.933: 664.856 – 027.38

**ДИШКАНТЮК О.В., канд. техн. наук, доцент, КОНДРАЦЬКА О.М., аспірант**

Одеська національна академія харчових технологій

## **ВДОСКОНАЛЕННЯ ПРОЦЕСУ ЕКСТРАКЦІЇ НАТУРАЛЬНИХ ХАРЧОВИХ БАРВНИКІВ**

З метою отримання натурального барвника з рослинної сировини проведено моніторинг джерел антоціанових барвних речовин. Наведено опис проведених досліджень щодо збільшення виходу пігментних речовин з винограду темних сортів та смородини чорноплідної під час процесу екстрагування. На основі базової рецептури желеиногo напівфабрикату створено новий продукт з біологічно активною добавкою. Наведено опис та результати досліджень фізико-хімічних показників отриманого виробу, які показали, що антоціанова добавка покращує якість та біологічну цінність кінцевого продукту.

**Ключові слова:** антоціановий барвник, стабілізація, ферментна обробка, екстракція, фізико-хімічні показники, желеїний оздоблювальний напівфабрикат.

With the purpose of obtaining natural dye of vegetable raw materials monitoring of the sources of anthocyanin coloring substances was carried. There is a description of the conducted researches on the increase of the pigment's yield from the dark grape and black currant during the process of extraction. On the basis of the principal recipe of jelly semi-finished product was created a new product with the biologically active additive. There are presented a detailed description and the results of the research of the physico-chemical parameters of the received product, which showed that anthocyanin additive improves the quality and biological value of the final product.

**Keywords:** anthocyanin coloring, stabilization, enzyme treatment, extraction, physical and chemical indices, finishing jelly cake mix.

Увага громадськості прикута до проблем здорового способу життя та здорового харчування. Це стало поштовхом для зміни напрямів роботи підприємств ресторанного господарства. Щоб привернути увагу споживачів, виробники харчової продукції намагаються використовувати натуральні продукти. Серед компонентів їжі, що досить часто використовуються як у промисловості, так і в закладах ресторанного господарства, є барвники. Досить поширене використання ці харчові добавки отримали у технології оздоблювальних напівфабрикатів для солодких страв при виробництві кондитерської продукції. Як відомо, забарвлювальні добавки поділяють на натуральні та синтетичні. Синтетичні більш доступні та економічні, що дає підставу зазвичай їм видавати перевагу. В той самий час вони шкідливі для здоров'я. Багатьма вченими були розроблені і запропоновані різні способи виробництва натуральних барвників з вичавок червоних сортів винограду. Загальним недоліком існуючих

технологій є порівняно низький вміст барвних речовин, наявність супутніх компонентів в отриманій добавці та висока вартість [1]. Тому актуальним завданням є розробка технології отримання барвника з натуральної сировини, корисного для людини і придатного до впровадження в технологію харчового продукту.

Об'єктами наукових досліджень обрано вичавки смородини і винограду як джерела антоціанових пігментів. Шляхом попередньої обробки вказаної сировини є можливість збільшити вихід барвних речовин з метою використання їх в технології оздоблювальних напівфабрикатів. Заміна синтетичних барвників на забарвлювальні речовини натурального походження дозволяє покращити якість і підвищити біологічну цінність кінцевого продукту.

Метою досліджень є отримання натурального барвника з рослинної сировини та розробка технології виробництва оздоблювальних напівфабрикатів, що містять отриману біологічно активну добавку із забарвлювальними властивостями.

Завданнями є вибір джерела пігментних речовин; дослідження різних методів попередньої обробки сировини з метою інтенсифікації екстракції забарвлювальних речовин; дослідження параметрів екстрагування антоціанових пігментів; дослідження можливості введення отриманого барвника до складу оздоблювальних напівфабрикатів; визначення фізико-хімічних і органолептичних показників отриманих забарвлених продуктів. Моніторинг джерел антоціанових речовин показав, що найкращою сировиною для отримання барвника є виноград темних сортів та смородина чорноплідна. На вибір також вплинула доступність та вартість сировини.

Барвники отримували шляхом водневої екстракції вичавок із винограду та смородини чорної. Барвні речовини представлені в першу чергу антоціанами і катехінами. Ці речовини мають різне забарвлення, яке залежить від рН середовища – від червоного до синьо-