

**BADANIA MIKROKAPSULKOWANIA GRANULOWANYCH
PREPARATÓW WYBRANYCH SZCZEPÓW BAKTERII
FERMENTACJI MLEKOWEJ Z RODZAJU *LACTOBACILLUS***

CZEŚĆ I

Antoni Miecznikowski, Krystyna Zielińska

Institut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego
ul. Rakowiecka 36, Warszawa 02-532
antoni.miecznikowski@ibprs.pl

Streszczenie

Celem pracy było podwyższenie stabilności biologicznej preparatów bakterii fermentacji mlekowej w czasie ich przechowywania w różnych warunkach temperaturowych. Badania prowadzono z zastosowaniem metody mikrokapsułkowania w złożu fluidalnym.

Określono przeżywalność bakterii w preparatach mikrokapsułkowanych z wykorzystaniem mieszanin otoczkujących, zawierających wytypowane składniki w różnych kombinacjach ilościowych. Stosowano stały stosunek masy substancji otoczkującej do masy rdzenia granulki wynoszący 30%. Jako substancje otoczkujące wykorzystano mieszaniny: inuliny, gumy arabskiej oraz kazeinianu sodu.

Do dalszych badań wytypowano mieszaninę charakteryzującą się najlepszym efektem poprawy przeżywalności. Jej zastosowanie spowodowało wzrost przeżywalności rzędu 12,2% w czasie przechowywania preparatów w warunkach chłodniczych oraz 4,3% w czasie przechowywania w temperaturze pokojowej.

Słowa kluczowe: mikrokapsułkowanie, biopreparaty, bakterie fermentacji mlekowej

**STUDY ON MICROENCAPSULATION GRANULAR FORMULATIONS
SELECTED STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA OF THE GENUS
LACTOBACILLUS. PART I**

Summary

The aim was to increase the biological stability of preparations of lactic acid bacteria during storage under different temperature conditions. The study was conducted using the method of microencapsulation in a fluidized bed.

Shown bacterial survival of microencapsulated formulations using encapsulating mixtures containing typed components in different quantitative combinations. They were used constant ratio by weight of the encapsulating material to the weight of the core granules of 30%. As the substances used, coating solvent of inulin, gum arabic and sodium caseinate.

To the mixture were chosen for further characterized by the best result of improved survival. Its use resulted in an increase in survival on the order of 12.2% formulations during storage in the refrigerator and 4.3% during storage at room temperature.

Key words: microencapsulation, biopreparation, lactic acid bacteria

WPROWADZENIE

Proces mikrokapsułkowania polega na wytworzeniu otoczki wokół substancji stałej, ciekłej lub gazowej po to, aby zawartość powstałej kapsułki uwalniała się w sposób kontrolowany, w określonych warunkach. Określenie mikrokapsułka dotyczy kapsulek o średnicy od kilku mikrometrów do kilku milimetrów. Kształt mikrokapsulek zależy od sposobu ich wytwarzania, rodzaju aktywnej substancji tworzącej rdzeń oraz materiału tworzącego ściankę i może być kulisty lub nieregularny. Dodatkowo kapsułki mogą mieć postać pojedynczych cząstek lub formę aglomeratów. Zastosowanie określonej substancji kapsułkującej oraz konkretnej techniki kapsułkowania powinno mieć na celu zdecydowaną poprawę cech jakościowych końcowego produktu. Na świecie opracowano wiele różnych technik mikrokapsułkowania substancji o różnej postaci fizycznej, w tym suszenie rozpyłowe, zestalanie rozpyłowe, mikrokapsułkowanie fluidyzacyjne, mikrokapsułkowanie przy użyciu ekstruzji, mikrokapsułkowanie przez wykraplanie czy mikrokapsułkowanie na zasadzie tworzenia związków włączeniowych [Jankowski 1994; Janiszewska, Witrowa-Rajchert 2006; Dłużewska 2008].

W niniejszej pracy skupiono się na jednej metodzie mikrokapsułkowania – na procesie prowadzonym metodą fluidyzacji. Spowodowane było to rodzajem materiału poddawanego procesowi kapsułkowania (biomasa bakterii, czyli materiał termolabilny) oraz aspektem technologicznym związanym z posiadaną przez ZTF IBPRS linią do produkcji biopreparatów wyposażoną w suszarnię fluidyzacyjną, co determinowało w dużej mierze dobór urządzeń do opracowanej metody mikrokapsułkowania.

Liczne doniesienia literaturowe wskazują, że mikrokapsułkowanie jest dobrą metodą zabezpieczenia preparatów bakteryjnych i drożdżowych. Metoda ta jest stosowana z powodzeniem w procesie wytwarzania kultur starterowych i dodatków funkcjonalnych, do wytwarzania preparatów probiotycznych i prebiotyków [Lian i in. 2003; Ganina i in. 2005;

Crittenden i in. 2006; Chan i in. 2008; Piasecka, Goderska 2010]. W przemyśle spożywczym procesy mikrokapsułkowania stosowane są zazwyczaj w celu stabilizacji i kontrolowanego uwalniania się mikrokapsułkowanej substancji oraz rozdzielenia składników recepturowych, które mogą reagować ze sobą. Dla znacznej części preparatów mikrokapsułkowanych mniejsze znaczenie ma ich dobra rozpuszczalność, a podstawową cechą, którą zapewnić ma proces mikrokapsułkowania, jest stabilność biologiczna w czasie przechowywania. Wiele z tych preparatów charakteryzuje się wręcz złą rozpuszczalnością (część preparatów probiotycznych), ponieważ proces kapsułkowania ma na celu zabezpieczenie bakterii probiotycznych przed negatywnym działaniem niskiego pH występującego w przewodzie pokarmowym. Takie zastosowania znacznie poszerzają możliwości doboru składu otoczki kapsułkującej, ponieważ większość substancji, które można wykorzystać w tym procesie, charakteryzuje się niezbyt dobrą lub słabą rozpuszczalnością, a te dobrze rozpuszczalne i odpowiadające wymogom takiego procesu są zdecydowanie mniej liczne. W przypadku procesu kapsułkowania istotna jest też metoda prowadzenia procesu, którego właściwy przebieg mogą w znacznym stopniu utrudniać właściwości reologiczne (głównie duża lepkość) roztworów substancji użytych do mikrokapsułkowania.

W przemyśle paszowym bądź owocowo-warzywnym kultury starterowe stosowane do sporządzania kiszonek powinny podjąć działalność życiową natychmiast po wprowadzeniu do środowiska, ponieważ od tego uzależniona jest skuteczność ich działania, a zatem również jakość uzyskiwanych produktów. Dlatego też dobra rozpuszczalność preparatów mikrokapsułkowanych ma duże znaczenie. Podobna sytuacja występuje w przypadku probiotyków stosowanych pod postacią roztworów, np. probiotyków podawanych kurczętom razem z wodą do picia.

Często stosowaną metodą mikrokapsułkowania jest metoda suszenia rozpyłowego, która polega na wytworzeniu otoczki wokół ciekłego rdzenia przez odparowanie rozpuszczalnika z roztworu substancji tworzącej ściankę. Przez suszenie rozpyłowe kapsułkuje się substancje tłuszczowe lub rozpuszczalne w tłuszczach, między innymi olejki zapachowe, ale też substancje aromatyczne, składające się z bardzo lotnych aldehydów, ketonów, alkoholi, estrów i eterów. Materiałem powlekającym używanym w suszeniu rozpyłowym są zazwyczaj polisacharydy, takie jak modyfikowana skrobia czy guma arabska. Ważnym parametrem tej metody, decydującym o jakości kapsułek, jest temperatura powietrza, która na wlocie do suszarki powinna wynosić 160–210°C, zaś na wylocie 80–90°C [Yu i in. 2010]. W związku z tym, jak i z powodów podanych powyżej, metody tej nie rozważano jako sposobu

mikrokapsułkowania materiału wysoce termolabilnego, jakim jest biomasa bakterii fermentacji mlekowej.

Metodą rozpatrywaną do przebadania w ramach niniejszej pracy było mikrokapsułkowanie fluidyzacyjne. Proces ten zachodzi w pionowej kolumnie, w której na skutek przepływu ciepłego powietrza z określoną szybkością tworzy się złożo fluidalne. Od dołu przez powlekany materiał przepływa strumień sprężonego gazu lub powietrza oraz zdyspergowany roztwór substancji powlekającej lub substancja ta jest natryskiwana do wnętrza warstwy fluidalnej za pomocą specjalnej dyszy. Cząsteczki złoża podczas unoszenia się są oblepiane przez substancję okrywającą, a jednocześnie zachodzi proces ich suszenia. Metoda ta może być stosowana do cząsteczek rdzenia o rozmiarach 50–5000 μm , cały proces trwa około 2 godzin i pozostawia 0,5–1,5% cząstek niepowleczonych. Jako materiału powlekającego używa się w tej metodzie pochodnych celulozy, dekstryn, tłuszczów lub pochodnych skrobi. Uzyskane mikrokapsułki są dobrze rozpuszczalne w ciepłej i zimnej wodzie, zawierają około 10–30% rdzenia, a ich trwałość wynosi około od 1 do 2 lat [Benita 1996; Lasoń, Ogonowski 2012].

Bardzo ważnym zagadnieniem w projektowaniu procesu mikrokapsułkowania jest dobór materiału ścian mikrokapsulek, który nie powinien reagować ani z substancją rdzenia, ani ze składnikami żywności (w przypadku zastosowań spożywczych) lub innymi składnikami preparatów czy pasz. Materiał powlekający powinien zapewniać zadowalającą ochronę substancji rdzenia przed oddziaływaniem czynników środowiska, takich jak tlen, światło, wilgotność, zmiany temperatury, kwasowość, mikroorganizmy. Ponieważ materiał ścian mikrokapsulek może stanowić nawet powyżej 90% masy mikrokapsułki, ważnym kryterium doboru jest także jego cena, która nie powinna wpływać znacząco na ostateczną cenę wytworzonego produktu. Ponadto w trakcie doboru materiału powlekającego należy uwzględniać przewidywaną metodę prowadzenia procesu – cechy materiału, a w szczególności właściwości jego roztworów, które muszą odpowiadać specyficznym wymogom procesu kapsułkowania. Na przykład w przypadku procesu mikrokapsułkowania preparatów spożywczych metodą suszenia rozpyłowego dobre efekty, zarówno w aspekcie ochrony w czasie prowadzenia procesu, jak i późniejszego przechowywania, uzyskuje się, stosując gumę arabską. Stwierdzono też, że mieszanina maltodekstryn, gumy arabskiej i skrobi modyfikowanej jest efektywniejszym nośnikiem niż sama guma arabska. Jednak niektóre źródła podają, że wadą skrobi modyfikowanych jest niewystarczająca ochrona przed utlenianiem kapsułkowanych składników w czasie przechowywania [Janiszewska, Witrowa-Rajchert 2006; Dłużewska 2008].

Stosowana w procesach mikrokapsułkowania guma arabska jest to mieszanina różnorodnych soli kwasu arabowego, w skład cząsteczki którego wchodzi jednostki strukturalne galaktozy, ramnozy, arabinozy i kwasu glukuronowego. Guma ta dobrze rozpuszcza się w wodzie, tworzy roztwory o niższej lepkości w porównaniu z innymi. Znajduje ona zastosowanie jako substancja zagęszczająca, stabilizator emulsji, a także nośnik w procesie mikrokapsułkowania [Janiszewska, Witrowa-Rajchert 2006].

Często stosowaną substancją jest guma ksantanowa. W związku z ochronną rolą, jaką pełni ona w naturze, jest to surowiec bardziej odporny na siły ścinania, temperaturę, działanie mikroorganizmów, degradację UV niż inne gumy. Z tego też powodu znajduje szerokie zastosowanie zarówno w przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym, jak i spożywczym [Goycoolea i in. 1995].

Obszerny przegląd substancji stosowanych do mikrokapsułkowania probiotycznych bakterii fermentacji mlekowej wykorzystywanych do zastosowań spożywczych przedstawiony został w opracowaniu Anala [2007]. Autor tej publikacji stwierdził, że zastosowanie mikrokapsułkowania w sposób istotny poprawiło przeżywalność bakterii i stabilność biologiczną preparatów, a różnorodność wykorzystywanych substancji otoczkujących umożliwiła zróżnicowanie czynników uwalniania rdzenia, co znacznie poszerzyło zakres zastosowań wytwarzanych probiotyków. Jako najczęściej stosowane substancje w procesie kapsułkowania wymieniono tu: k-karagen, alginianiany, octanoftalan celulozy, substancje białkowe, mieszaniny polisacharydów, chitozany i skrobię, a większość powszechnie opisywanych metod mikrokapsułkowania opiera się na unieruchamianiu drobnoustrojów w żelu alginianu wapnia. Autor stwierdził jednak również, że wymienione metody nie zapewniają produkowania jednakowych mikro- i nanokapsulek w dużych ilościach do zastosowań przemysłowych. Główne wykorzystanie to produkcja jogurtów, serów, lodów i majonezów, a problem trwałości mikrokapsułkowanych probiotyków w przewodzie pokarmowym człowieka pozostaje nadal otwarty. Informacje zawarte w tym artykule wskazują na postęp wiedzy i techniki w technologii mikrokapsułkowania w ostatnich kilkunastu latach, o czym świadczy np. publikacja Kalilasapathy z 2002 r., w której autor nadmienia, że żadna z stosowanych do tego roku metod prowadzenia tego procesu nie zapewnia wystarczająco dobrej stabilności biologicznej preparatów bakterii probiotycznych przeznaczonych do zastosowań spożywczych.

W przemyśle spożywczym i farmaceutycznym używane są też liczne tanie, dobrze rozpuszczalne w wodzie i łatwo dostępne substancje, które w cytowanej literaturze nie są wymieniane jako składniki używane w procesie mikrokapsułkowania. Można tu wspomnieć

choćby o kazeinianach. Sole te obejmują kazeiniany sodu i amonu, które określa się mianem „kazein rozpuszczalnych”; służą one zwykle do sporządzania skoncentrowanych produktów spożywczych i preparatów farmaceutycznych. Do najważniejszych właściwości kazeinianów należy ich bardzo dobra rozpuszczalność, wodochłonność, lepkość, zdolność emulgowania, stabilizowanie emulsji oraz zdolności pianotwórcze. Kazeiniany, podobnie jak skrobia, żelatyna, pochodne celulozy i in., należą do grupy koloidów ochronnych [Praca zbiorowa 2001]. Inną substancją mogącą znaleźć zastosowanie w procesie mikrokapsułkowania jest inulina. Jest to polisacharyd zbudowany z około 30–35 cząsteczek monocukrów połączonych wiązaniami β -2,1-glikozydowymi w nierozgałęziony łańcuch. Inulina jest rozpuszczalna w ciepłej wodzie, nie rozpuszcza się w etanolu. Inulina jest prebiotykiem, co oznacza, że stanowi doskonałą pożywkę dla pożytecznych bakterii jelitowych, takich jak *Lactobaccillus* czy *Bifidobacterium* [Murray i in. 2003].

W dostępnej literaturze nie znaleziono informacji dotyczących wpływu procesu mikrokapsułkowania na zachowanie aktywności biologicznej w czasie przechowywania kultur starterowych do zastosowań rolniczych, a przedstawiony powyżej materiał ma jedynie pośredni związek z tematem badań niniejszej pracy.

CEL I ZAKRES PRACY

Celem pracy było podwyższenie stabilności biologicznej preparatów bakterii fermentacji mlekowej przy wykorzystaniu procesu mikrokapsułkowania w złożu fluidalnym, w czasie ich przechowywania w różnych warunkach temperaturowych.

Zakres pracy obejmował:

- dobór składu surowcowego i proporcji składników mieszaniny stosowanej do mikrokapsułkowania biopreparatów w złożu fluidalnym,
- badania wpływu mikrokapsułkowania granulowanych preparatów wybranych szczepów bakterii fermentacji mlekowej na aktywność biologiczną w czasie przechowywania w warunkach chłodniczych i w temperaturze pokojowej przez 10 miesięcy,
- opracowanie receptury substancji kapsułkującej o najbardziej efektywnym działaniu ochronnym.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badane mikroorganizmy: *Lactobacillus plantarum* K – KKP/593/p, *Lactobacillus plantarum* C – KKP/788/p, *Lactobacillus buchneri* – KKP/907/p, *Lactobacillus rhamnosus* – KKP 825.

Procesy suszenia oraz mikrokapsułkowania biopreparatów wykonywane były z zastosowaniem laboratoryjnej suszarki fluidyzacyjnej o działaniu okresowym GLATT AG typ UNI 3106, wyposażonej w inżektorowy układ do powlekania granulatów. Doświadczenia prowadzono przy wykorzystaniu: inuliny, gumy arabskiej oraz kazeinianu sodu jako substancji kapsułkujących, w różnych kombinacjach ilościowych.

Stosunek masy substancji otoczkującej do rdzenia granulki określano metodą wagową, ważąc porcję preparatu przed zakończeniem oraz po zakończeniu procesu mikrokapsułkowania, przyjmując równomierność tworzenia warstwy substancji otoczkującej na wszystkich granulkach preparatów.

Bezpośrednio po wykonaniu preparatów „standardowych”, czyli wytwarzanych bez zastosowania procesu otoczkowania, traktowanych jako materiał odniesienia, a także po dokonaniu otoczkowania oraz po 1, 3, 5, 7 lub 8 i 10 miesiącach przetrzymywania w temperaturze pokojowej (20–22°C) oraz temperaturze chłodniczej (8–10°C) wykonywano posiewy preparatów, a na podstawie ich wyników obliczano przeżywalność bakterii.

Oznaczanie liczby bakterii fermentacji mlekowej – metodą posiewów – płytkową, na podłożu stałym – MRS, zgodnie z normą PN-ISO 15214:200

Oznaczanie zawartości suchej masy – za pomocą wagosuszarki firmy Sartorius.

Etapy badań

W pierwszym etapie badań określono łączną przeżywalność mieszaniny bakterii trzech szczepów w preparatach mikrokapsułkowanych z zastosowaniem mieszanin otoczkujących o składach podanych w tabeli 1, po 8 lub 10 miesiącach przechowywania. Stosunek masy substancji otoczkującej do masy rdzenia granulki był stały i wynosił około 30%. W efekcie uzyskano mieszaninę najefektywniej poprawiającą przeżywalność bakterii w czasie przechowywania. W tym etapie badań testowano wpływ mikrokapsułkowania na aktywność biologiczną szczepów używanych do sporządzania preparatów do kiszenia pasz, czyli: *Lactobacillus plantarum* K, *Lactobacillus plantarum* C i *Lactobacillus buchneri*.

Tabela 1. Skład mieszanin używanych w procesie mikrokapsułkowania biopreparatów

The composition of mixtures used in the process of microencapsulation biopreparations

Symbol mieszaniny	I	II	III	IV	V	VI
Nazwa składnika	Udział procentowy składnika w mieszaninie					
woda	68,0	67,8	68,3	68,0	55,0	82,0
inulina HD	27,0	26,9	25,7	25,0	35,0	0,0
guma arabska	5,0	4,0	5,0	4,0	6,0	12,0
kazeinian sodu	0,0	0,3	0,0	2,0	2,0	5,0
lecytyna	0,0	1,0	1,0	1,0	1,5	1,4

W drugim etapie badań, wykorzystując mieszaninę otoczkującą wytypowaną w etapie pierwszym, przeprowadzono doświadczenia obejmujące zmiany stosunku masy otoczki do masy rdzenia w zakresie od 10% do 50%. Ten etap badań umożliwił scharakteryzowanie jakościowe wpływu grubości otoczki na przeżywalność bakterii. Preparaty, tak jak poprzednio, przetrzymywano przez 10 miesięcy w temperaturze pokojowej i w warunkach chłodniczych.

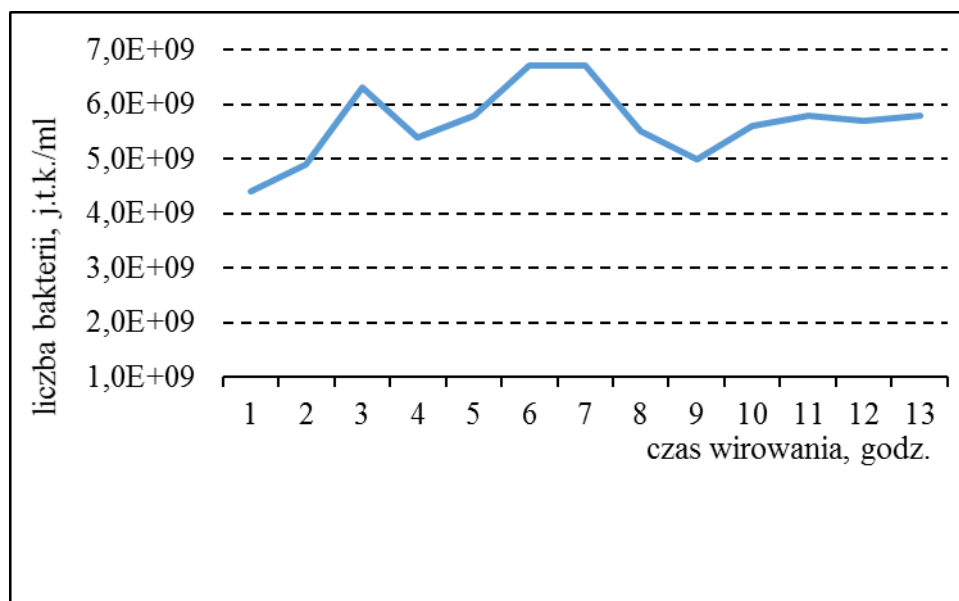
W trzecim etapie pracy badano oddzielnie przeżywalność bakterii poszczególnych szczepów: *Lactobacillus plantarum* K, *Lactobacillus plantarum* C i *Lactobacillus buchneri* i *Lactobacillus rhamnosus* w preparatach wykonanych techniką uznaną za optymalną spośród przebadanych, w trakcie ich przetrzymywania w warunkach chłodniczych przez 10 miesięcy.

WYNIKI I DYSKUSJA

Doświadczenia prowadzono przy wykorzystaniu: inuliny, gumy arabskiej oraz kazeinianu sodu, w różnych kombinacjach ilościowych. Podstawowym ograniczeniem w sporządzaniu mieszanin powlekających była rozpuszczalność testowanych substancji w wodzie, a następnie możliwość nanoszenia natryskowego na granulowane nośniki w złożu fluidalnym. Powlekaniiu poddawano wysuszone granulaty, w których składnikiem czynnym była biomasa zawierająca mieszaninę szczepów *Lactobacillus plantarum* K, *Lactobacillus plantarum* C i *Lactobacillus buchneri*, oraz w trzecim etapie badań granulaty zawierające pojedyncze szczepy *Lactobacillus plantarum* K, *Lactobacillus plantarum* C i *Lactobacillus buchneri* i *Lactobacillus rhamnosus*. Bezpośrednio po zakończeniu procesu kapsułkowania uzyskiwano preparaty zawierające 10^9 – 10^{10} j.t.k./g.

Ocena stanu fizjologicznego bakterii w płynie pohodowlanym w czasie procesu wirowania

Biomasa bakterii używana w doświadczeniach pochodziła z półtechnicznej linii produkcyjnej, w której czas wydzielania biomasy z pożywki hodowlanej wynosił około 12 h. W celu stwierdzenia ewentualnego wpływu czasu wydzielania biomasy z płynu pohodowlanego na stan fizjologiczny komórek bakterii przeprowadzono doświadczenie polegające na monitorowaniu liczby bakterii w płynie pohodowlanym w trakcie całego procesu wirowania. Obniżanie się liczby żywych komórek oznaczałoby pogarszanie stanu fizjologicznego hodowli oraz konieczność uwzględniania wpływu tego zjawiska na wyniki badań nad przeżywalnością w trakcie procesu utrwalania dehydracyjnego preparatów bakteryjnych. Takie zjawisko utrudniałoby znacznie obiektywną ocenę wyników prowadzonych doświadczeń, ponieważ biomasa pobierana w różnych etapach procesu wirowania mogłaby się znacznie różnić stanem fizjologicznym, a zatem również opornością na stres dehydracyjny i podatnością na utratę aktywności biologicznej w czasie przechowywania. Doświadczenie dotyczyło skojarzonej hodowli szczepów *Lactobacillus plantarum* K, *Lactobacillus plantarum* C i *Lactobacillus buchneri*. Otrzymane wyniki przedstawiono na rysunku 1. Stwierdzono, że czas wirowania nie miał wpływu na liczbę bakterii w płynie pohodowlanym, a zaobserwowane wahania tej liczby mieściły się w granicach dokładności zastosowanej metody badawczej.



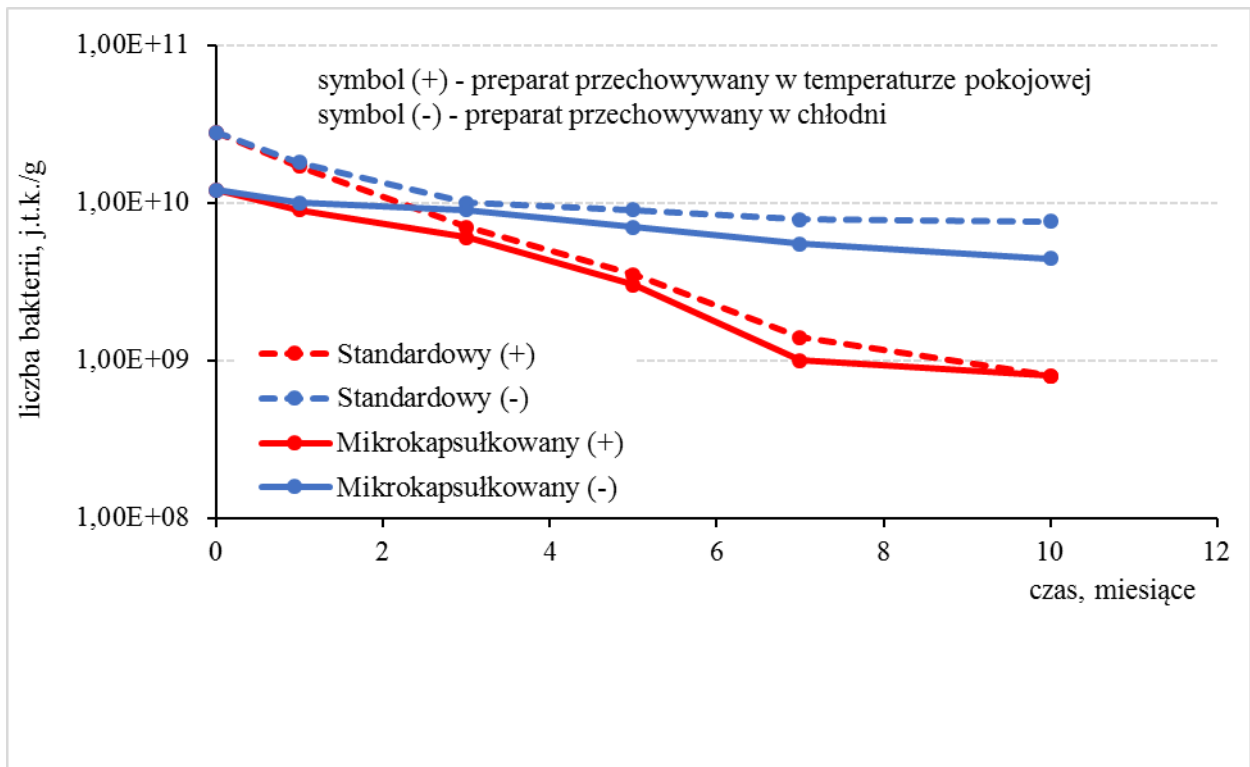
Rysunek 1. Liczba komórek bakterii w płynie hodowlanym w czasie procesu wirowania

The number of bacterial cells in liquid culture in the process centrifugation

Dobór składu surowcowego mieszaniny do otoczkowania

Na wykresach 2–7 przedstawiono wyniki dotyczące różnych wariantów doświadczeń obejmujących zmiany składów mieszaniny otoczkującej, przy zachowaniu stałego stosunku masy otoczki do masy rdzenia na poziomie 30%, oraz związane z tymi zmianami wyniki posiewów w trakcie przechowywania preparatów. Z wykresów tych widać, że początkowe liczby bakterii w preparatach niepoddanych procesowi kapsułkowania i kapsułkowanych różniły się między sobą, co wynika z faktu zmniejszenia średniej liczby bakterii przypadającej na jednostkę masy preparatu w efekcie tworzenia otoczki rdzenia zawierającej określoną liczbę bakterii. W zależności od stosowanego wariantu składu otoczki przebieg zmian liczby bakterii w czasie przechowywania był nieco odmienny, a także występowały większe lub mniejsze różnice w liczbie bakterii w preparatach kapsułkowanych i niekapsułkowanych po 8 lub 10 miesiącach przechowywania. Po zakończeniu doświadczeń liczba bakterii była nadal na wysokim poziomie i nie spadała poniżej $1 \cdot 10^8$ j.t.k/g, co oznacza, że preparaty, niezależnie od wariantu doświadczenia, nadal charakteryzowały się znaczną aktywnością biologiczną.

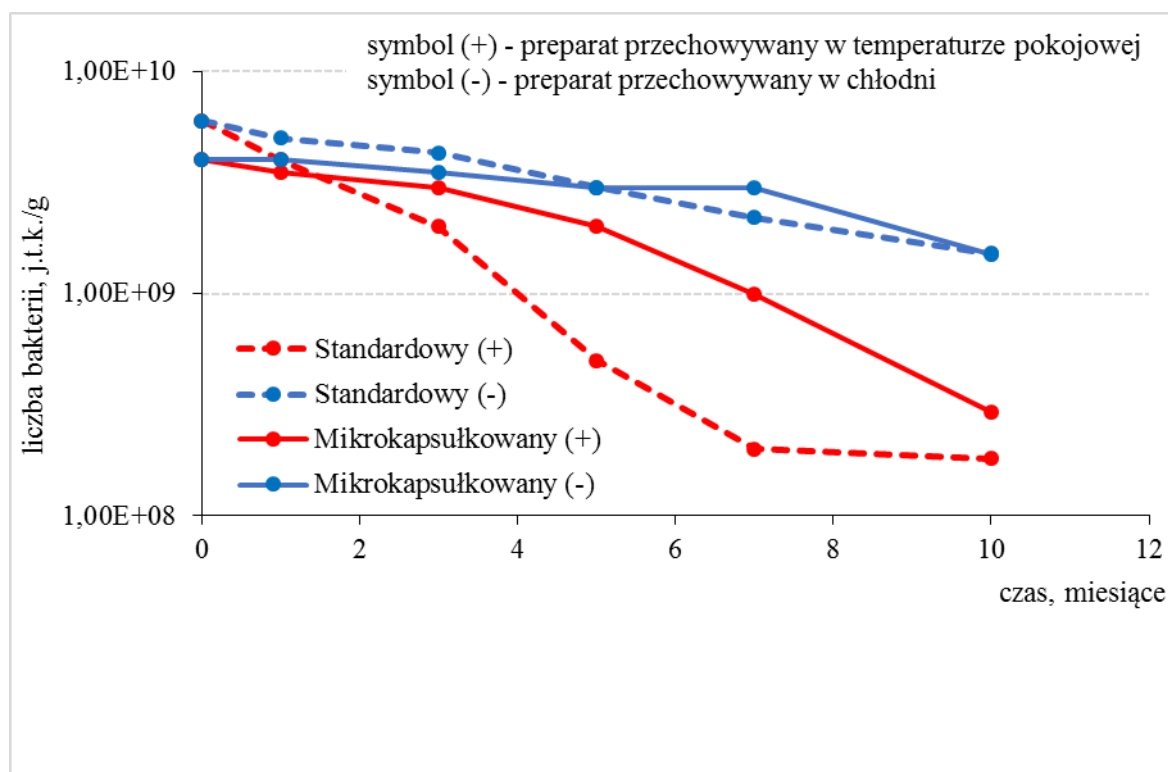
Na podstawie zgromadzonych danych doświadczalnych i analizy porównawczej przebiegu krzywych na przedstawionych wykresach stwierdzono, że zastosowanie wszystkich testowanych mieszanin otoczkujących spowodowało pewną poprawę przeżywalności bakterii w czasie przechowywania, z tym że w przypadku mieszanin IV, V i VI była to poprawa nieznaczna, zarówno w trakcie przechowywania w temperaturze pokojowej, jak i w warunkach chłodniczych. Zastosowanie mieszanin I, II i III spowodowało poprawę przeżywalności rzędu kilkunastu procent (maksymalnie około 12%) w trakcie przechowywania preparatów w warunkach chłodniczych, nie mając jednak większego wpływu na poprawę przeżywalności w temperaturze pokojowej. W celu ułatwienia interpretacji otrzymanych wyników jako ostateczne kryterium ich oceny zastosowano współczynnik przeżywalności definiowany jako stosunek aktualnej liczby bakterii do liczby bakterii oznaczonej bezpośrednio po wykonaniu preparatu, wyrażony w procentach. I tak w przypadku mieszaniny oznaczonej symbolem I, zawierającej w swoim składzie inulinę i gumę arabską, przebieg krzywych zmian liczby bakterii w czasie przechowywania przedstawiono na rysunku 2. Próbkę preparatów przechowywano przez 10 miesięcy, a w końcowym momencie okresu przechowywania w warunkach chłodniczych. Przeżywalność bakterii w preparatach kapsułkowanych była wyższa od przeżywalności bakterii w preparatach niepoddanych procesowi otoczkowania o 9,6%, podczas gdy przechowywanie tych preparatów w temperaturze pokojowej prowadziło do uzyskania różnicy przeżywalności na poziomie 3,8%.



Rysunek 2. Liczba bakterii w preparatach mikroksułowanych mieszanią nr I w czasie ich przechowywania

Number of bacteria in the preparation of microencapsulated mixture no. 1 during storage

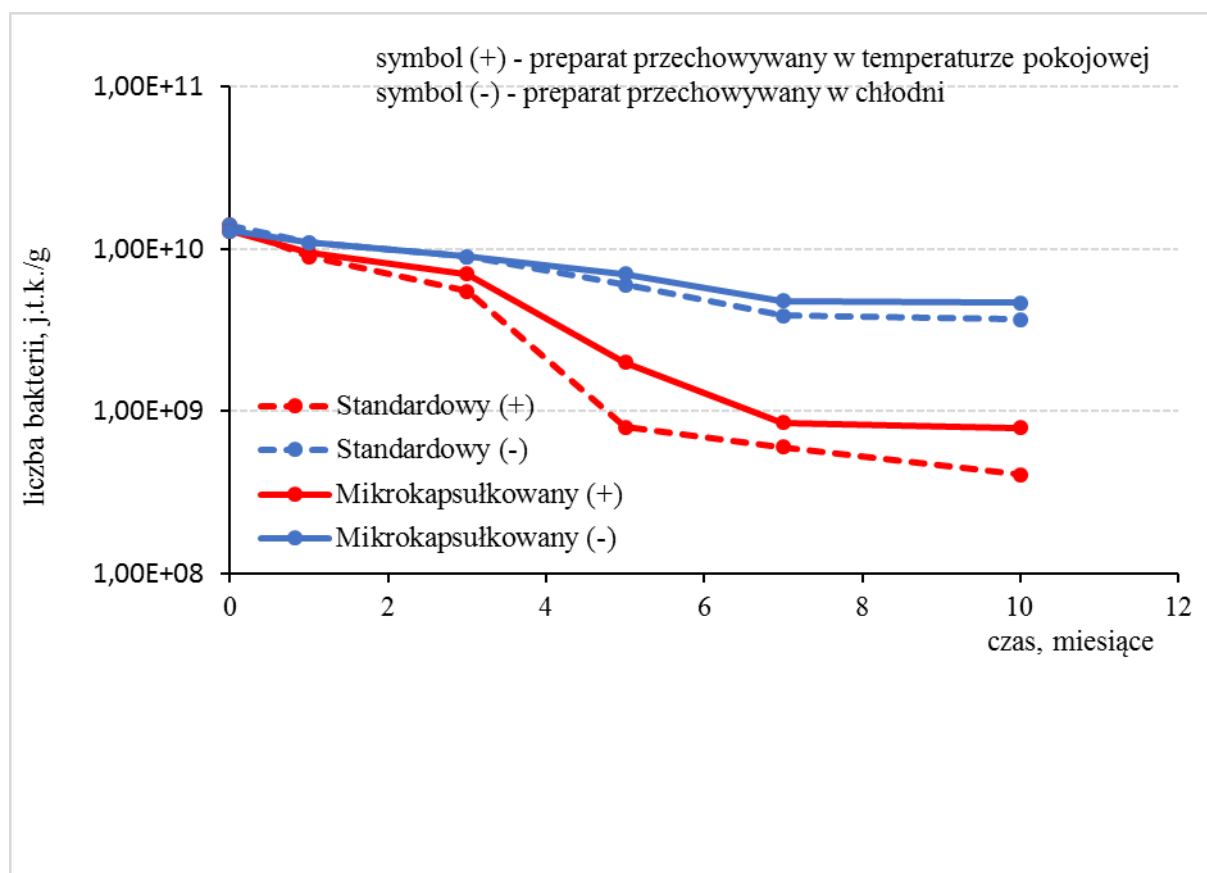
Mieszanina oznaczona symbolem II oprócz inuliny i gumy arabskiej została wzbogacona, w stosunku do mieszanki I, o dodatek kazeinianu sodu oraz lecytyny jako emulgatora poprawiającego rozpuszczalność uzyskiwanych preparatów bakterii, a przebieg zmian liczby bakterii w czasie przechowywania otoczkowanych nią preparatów przedstawiono na rysunku 3. W przypadku tej mieszanki po 10 miesiącach przechowywania w warunkach chłodniczych przeżywalność w efekcie zastosowania procesu kapsułkowania wzrosła o 12,2%, natomiast przechowywaniu w temperaturze pokojowej odpowiadał wzrost przeżywalności o 4,3%.



Rysunek 3. Liczba bakterii w preparatach mikrokapsułkowanych mieszanią II w czasie ich przechowywania

Number of bacteria in the preparation of microencapsulated mixture no. 2 during storage

Mieszanka oznaczona symbolem III charakteryzowała się składem analogicznym do mieszanki I, z tym że uzupełniono ją o emulgator – lecytynę, a zmiany liczby bakterii w preparatach wykonanych z jej udziałem ilustrują krzywe na rysunku 4. Przechowywanie w temperaturze chłodniczej preparatów chronionych z zastosowaniem tej mieszanki skutkowało po 10 miesiącach wzrostem przeżywalności o 9,5% w stosunku do preparatów niepoddanych procesowi otoczkowania. Analogicznie przechowywaniu w temperaturze pokojowej odpowiadał wzrost przeżywalności na poziomie 3,2%. Mieszanki I–III charakteryzowały się korzystnymi właściwościami reologicznymi, a w trakcie procesu mikrokapsułkowania nie występowały problemy ze zbrylaniem złoza fluidalnego.

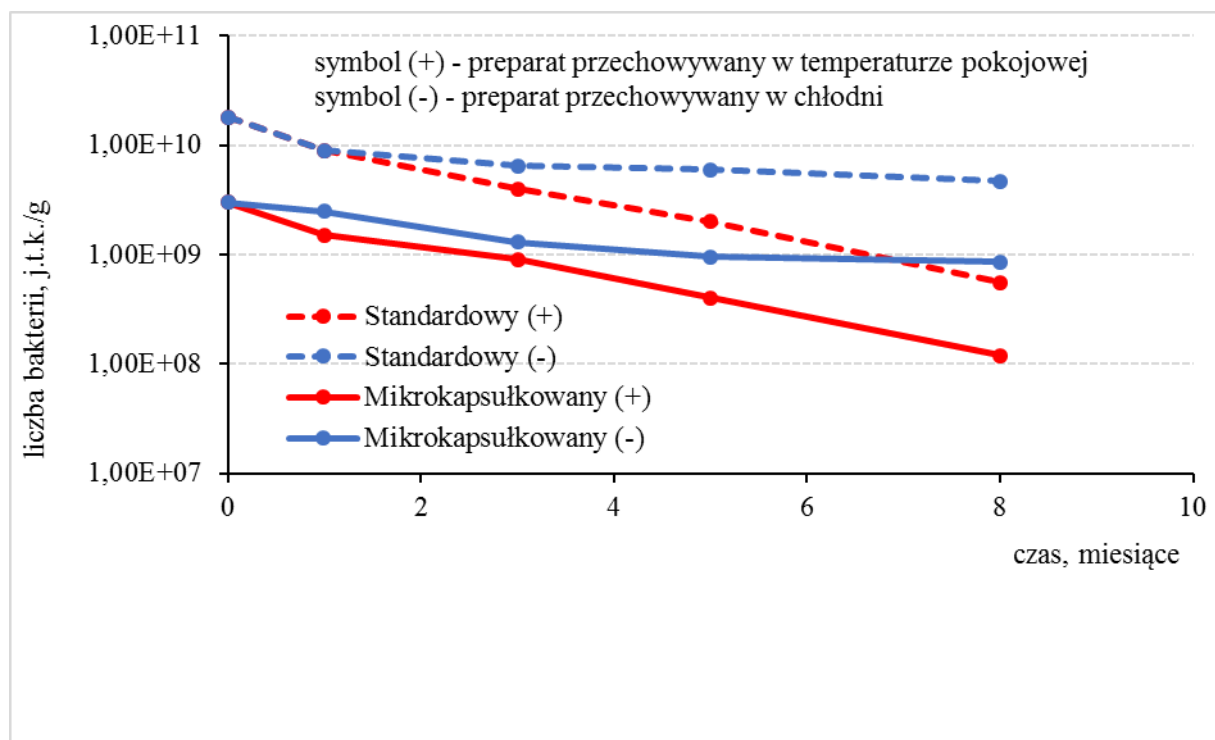


Rysunek 4. Liczba bakterii w preparatach mikrokapsułkowanych mieszaniną III w czasie ich przechowywania
Number of bacteria in the preparation of microencapsulated mixture no. 3 during storage

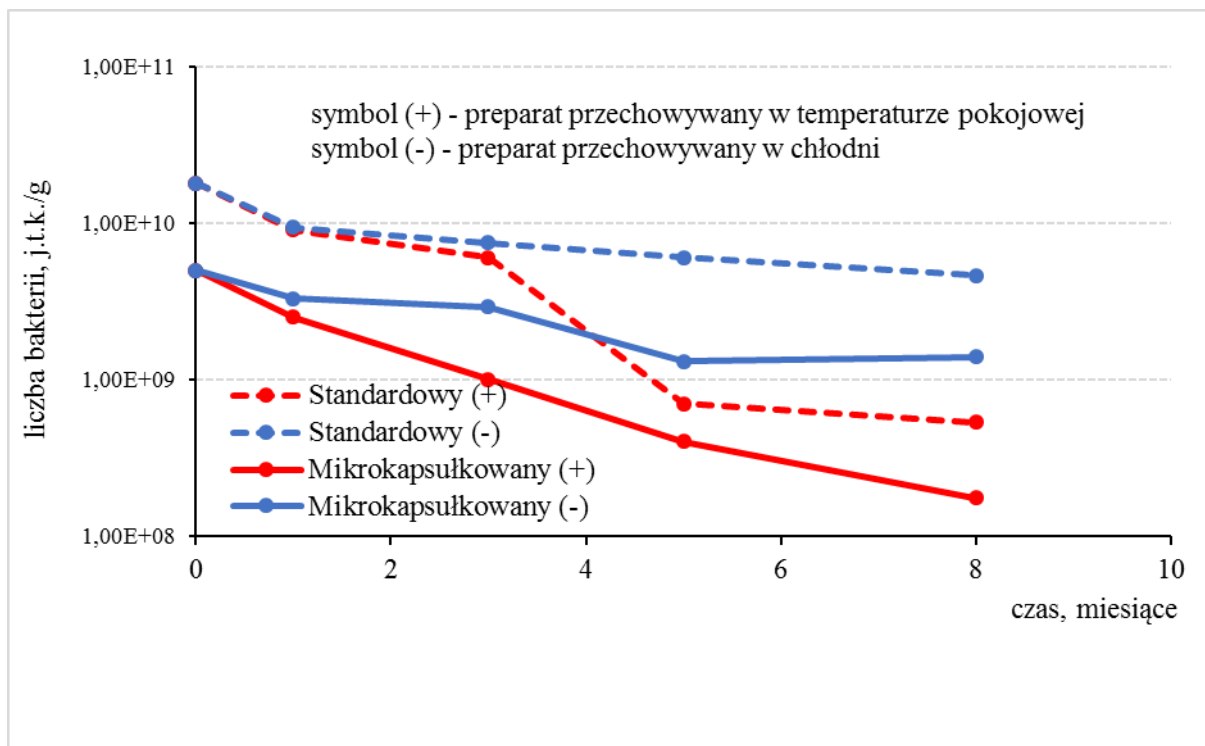
W skład mieszaniny IV wchodziły inulina, guma arabska, kazeinian sodu i lecytyna, a zmiany liczby bakterii w preparatach wykonanych z zastosowaniem tej mieszaniny w czasie ich przechowywania zilustrowano na rysunku 5. Mieszanina ta charakteryzowała się składem analogicznym do mieszaniny II, z tym że dodatek kazeinianu sodu był w tym przypadku dwukrotnie większy. W przypadku tej mieszaniny efekt w postaci poprawy przeżywalności był gorszy w porównaniu z mieszaninami I–III i w warunkach chłodniczych wynosił 2,5%, natomiast w temperaturze pokojowej ograniczył się do wartości 0,9%, w związku z czym preparaty te przechowywano tylko przez 8 miesięcy.

Skład mieszaniny V stanowił próbę poprawy skuteczności działania mieszaniny otoczkującej poprzez zwiększenie jej gęstości, w efekcie podwyższenia zawartości inuliny o blisko 10%, nieznacznego podwyższenia zawartości gumy arabskiej, przy jednoczesnym dwukrotnym zwiększeniu dodatku emulgatora. Przebieg krzywych zmian liczby bakterii w czasie przechowywania przedstawiono na rysunku 6. Taka zmiana składu mieszaniny otoczkującej skutkowałą jednak znacznym podwyższeniem jej lepkości, a w konsekwencji

lokalnym zbrylaniem złoża fluidalnego, co prowadziło do pogorszenia parametrów procesu mikroksułowania. Uzyskany wzrost przeżywalności w czasie przechowywania w warunkach chłodniczych był na niezadowalającym poziomie i już po 8 miesiącach wynosił tylko 2,2% (analogicznie w temperaturze pokojowej wartość tego parametru wynosiła 0,6%).



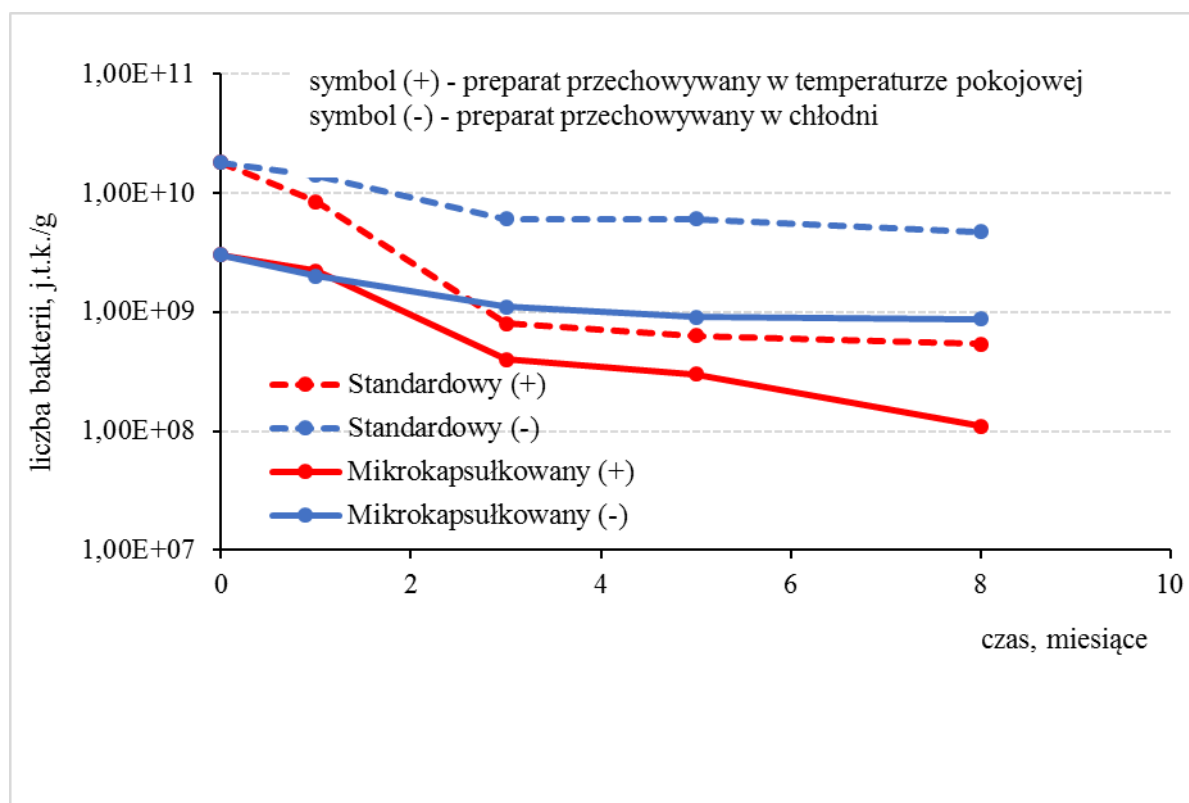
Rysunek 5. Liczba bakterii w preparatach mikroksułowanych mieszanią IV w czasie ich przechowywania
Number of bacteria in the preparation of microencapsulated mixture no. 4 during storage



Rysunek 6. Liczba bakterii w preparatach mikroksułowanych mieszaniną V w czasie ich przechowywania

Number of bacteria in the preparation of microencapsulated mixture no. 5 during storage

Mieszanina VI odbiegała składem od poprzednich wariantów doświadczenia – nie zawierała inuliny, przy znacznie podwyższonym dodatku gumy arabskiej oraz kazeinianu sodu. Przebieg krzywych zmian liczby bakterii w preparatach wykonanych z udziałem tej mieszaniny w trakcie ich przechowywania zamieszczono na rysunku 7. W tym wariantcie doświadczenia również występowały problemy w trakcie procesu mikroksułowania, przejawiające się tendencją do zbrylania złoza fluidalnego. Po 8 miesiącach przechowywania preparatów w temperaturze chłodniczej stwierdzono niewielki wzrost przeżywalności bakterii rzędu 2,8% oraz minimalny wzrost przeżywalności w temperaturze pokojowej na poziomie 0,7%.



Rysunek 7. Liczba bakterii w preparatach mikrokapsułkowanych mieszanią VI w czasie ich przechowywania
Number of bacteria in the preparation of microencapsulated mixture no. 6 during storage

PODSUMOWANIE

We wszystkich testowanych mieszalinach otoczkujących udział inuliny zawierał się w zakresie od 25% do 35%, zawartość gumy arabskiej wynosiła od 4 do ponad 12%, udział kazeinianu sodu wynosił od 0,3% do niemal 5%, a dodatek lecytyny stosowano w przedziale wartości od 1% do 1,5%. Zaobserwowano pozytywny wpływ obecności inuliny w mieszalinie otoczkującej na przeżywalność bakterii oraz korzystne działanie gumy arabskiej stosowanej w zakresie udziału 4–5%, natomiast dodatek kazeinianu sodu na poziomie 0,3% skutkował nieznaczną poprawą przeżywalności, powodując jednocześnie zdecydowane obniżenie tego parametru przy udziale od 1,7% do 4,7%. Nie zaobserwowano wpływu dodatku lecytyny w przebadanym zakresie stężeń na przeżywalność bakterii w czasie przechowywania.

Do dalszych badań wytypowano mieszanię II, charakteryzującą się najlepszym efektem poprawy przeżywalności, której zastosowanie spowodowało wzrost przeżywalności rzędu

12,2% w czasie przechowywania preparatów w warunkach chłodniczych oraz 4,3% w czasie przechowywania w temperaturze pokojowej.

W tej części artykułu przedstawiono wyniki dotyczące pierwszego etapu badań. Wyniki obejmujące drugi oraz trzeci etap badań zaprezentowano w drugiej części artykułu.

Wykaz pozycji literaturowych w części II artykułu.