

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Харківський державний університет харчування та торгівлі

**Кондратюк Н. В., Пивоваров Є. П., Неклеса О. П.**

**НАУКОВІ АСПЕКТИ ТЕХНОЛОГІЇ СОЛОДКИХ СТРАВ  
З КАПСУЛЬОВАНИМИ ПРОБІОТИЧНИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ**

**МОНОГРАФІЯ**

Харків  
ХДУХТ  
2015

УДК 664.144:579.22(082)

ББК 36.991.5+28.4

Т 38

Рецензенти:

д-р техн. наук, проф. Н. А. Ткаченко,  
д-р техн. наук, проф. А. М. Одарченко

Рекомендовано до видання вченою радою Харківського державного університету харчування та торгівлі, протокол № 2 від 24.09.2015 р.

**Кондратюк Н.В.**

Т 38 Наукові аспекти технології солодких страв з капсульованими пробіотичними мікроорганізмами : монографія / Н. В. Кондратюк, Є.П. Пивоваров, О.П. Неклеса. – Х. : ХДУХТ, 2015. – 139 с.

ISBN 978-966-405-343-0

У монографії обґрунтовано наукові теоретичні та практичні засади технології капсульованих продуктів із пробіотичними мікроорганізмами та солодких страв на їх основі; у контексті сучасної концепції харчових продуктів із пробіотичними (функціональними) властивостями обґрунтовано принцип виготовлення нових видів кулінарної продукції; запропоновано сучасні технології, види обладнання та способи підготовки сировини.

Монографія може бути корисна науковим працівникам, аспірантам, студентам, які навчаються за напрямом підготовки 6.051701 «Харчові технології та інженерія», а також для працівників закладів ресторанного господарства та харчової промисловості.

УДК664.144:579.22(082)

ББК36.991.5+28.4

© Кондратюк Н. В., Пивоваров Є. П.,  
Неклеса О. П., 2015

© Харківський державний університет  
харчування та торгівлі, 2015

ISBN 978-966-405-343-0

## ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	4
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА УЧАСНИКІВ ОБЛІГАТНОЇ МІКРОФЛОРИ ТА АНАЛІЗ АСОТИМЕНТУ КУЛІНАРНОЇ ПРОДУКЦІЇ З ПРОБІОТИЧНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ	7
1.1. Склад та властивості мікрофлори травного каналу людини	7
1.2. Шляхи корекції порушень мікрофлори	10
1.3. Характеристика пробіотиків та продукції на їх основі	10
1.4. Механізм дії пробіотиків та продуктів функціонального харчування	12
1.5. Характеристика біфідобактерій та їх роль у створенні структурованих продуктів нового покоління	14
РОЗДІЛ 2. АНАЛІЗ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНЗИТОРНИХ ФОРМ І СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ ПРОБІОТИЧНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ	23
2.1. Загальна характеристика транспортних форм для пробіотичних мікро- організмів	23
2.2. Аналіз складу поживних середовищ та умов культивування в них корисних бактерій	27
2.3. Технологічні та економічні аспекти виробництва та споживання капсульних форм пробіотичних мікроорганізмів	34
РОЗДІЛ 3. НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ СОЛОДКИХ СТРАВ З КАПСУЛЬОВАНИМИ ПРОБІОТИКАМИ	42
3.1. Інноваційна стратегія створення продуктів з капсульованими біфідо- бактеріями	42
3.2. Теоретичне обґрунтування вибору складових капсульованого продукту з пробіотичними культурами	46
3.3. Наукове обґрунтування параметрів гелеутворення в оболонках капсул з позиції квантово-хімічного моделювання	53
3.4. Визначення впливу, властивостей та складу розчинів технологічного середовища на характеристики альгінатних капсул	68
3.5. Наукове обґрунтування технологічних параметрів одержання харчових поживних середовищ для біфідоактерій	76
3.6. Вивчення колонієутворюючої здатності біфідобактерій в умовах <i>in vitro</i>	82
РОЗДІЛ 4. НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ СОЛОДКИХ СТРАВ З КАПСУЛЬОВАНИМИ ПРОБІОТИКАМИ	85
4.1. Обґрунтування виробництва солодких страв з капсульованими біфідо- бактеріями	85
4.2. Дослідження основних показників якості солодких страв з капсульова- ними біфідобактеріями	105
ВИСНОВОК	110
СПИСОК ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ	112
ДОДАТКИ	120

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ШКТ – шлунково-кишковий тракт  
ПМ – патогенна мікрофлора  
УПМ – умовно патогенна мікрофлора  
ФП – функціональні продукти  
ХП – харчові продукти  
ЗРГ – заклади ресторанного господарства  
КУО – колонієутворююча одиниця  
ВМС – високомолекулярна сполука  
КХМ – квантово-хімічне моделювання  
КМП – кисломолочний продукт  
ТМ – торговельна марка  
ММ – мануронат-мануронатний  
GG – гулуронат-гулуронатний  
MG – мануронат-гулуронатний  
GM – гулуронат-мануронатний  
ХСС – харчова структурна суміш  
КО – капсульні об'єкти  
ППЕ – поверхня потенційної енергії  
НПКПМ – напівфабрикат «Продукт капсульований з про біотичними мікроорганізмами»  
Харчова система «AlgNa-Ca<sup>2+</sup>» – альгінатна оболонка капсул  
МКО – механічна кулінарна обробка

## ПЕРЕДМОВА

Основним пріоритетом державної політики України є постійне покращення умов життя громадян. Це в рівній мірі відноситься і до забезпечення населення продуктами харчування. Але слідє констатувати, що нераціональне та неадекватне харчування українців руйнівнє діє на життєво необхідні системи та органи, стає причиною порушення внутрішньої мікрофлори, видовий та кількісний склад якої руйнується під впливом багатьох екзогенних та ендогенних факторів. За даними Міністерства охорони здоров'я у 65–75% дорослого населення і близько 95% дітей України виявлено дисбактеріози різного ступеню. Одним з регуляційних та ефективних шляхів ліквідації дисбактеріозів є застосування нових продуктів, в тому числі функціональних, які виступають джерелом мікроорганізмів-пробіотиків. Такі продукти успішно конкурують з лікарськими препаратами під час нормалізації мікрофлори організма споживача.

У монографії значну увагу приділено питанням метаболізма таких представників облигатної мікрофлори людини, як біфідобактерії, біологічна роль яких в організмі полягає у поліпшенні процесів ферментативного перетравлювання їжі, стимуляції перистальтики кишечника, виробітку життєво необхідних сполук. За таких умов розширення асортименту пробіотичних продуктів з біфідобактеріями є конче потрібним для багатьох українців. Однак при цьому, даний вид мікроорганізмів є найвразливішим для середовища шлунку: долаючи відділ шлунку, біфідобактерії у більшості гинуть, тому у даному науковому описі деталально викладено інформацію про шляхи отримання ефективних транзитних форм для доставки біфідобактерій до місць їх комфортного існування та метаболізма.

На ринку України через відсутність відповідних технологій виробництва, і науково-обґрунтованих рекомендацій до споживання, асортимент продуктів, що містять біфідобактерії, доволі обмежений. В галузі ресторанного господарства практично відсутній досвід виготовлення продукції, збагаченої біфідобактеріями. Все це вимагає наукового обґрунтування підходів до вибору нових технологічних рішень щодо виробництва бактеріальних препаратів та харчових продуктів на їх основі.

Вагомий внесок у вирішення цієї проблеми зробили вчені В. А. Шендеров, Л. В. Капрельянц, К. Г. Іоргачева, М. Д. Ардацька, Н. А. Тихомирова, Н. А. Дідух, О. П. Чагаровський, Н. Ф. Кігель, В. Н. Корзун, Г. Б. Рудавська. С. Vregni, Sheu T.-Y., Lee K.-Y., F. Haschke. Мікроекологічні розбалансування у різних біотопах порушують склад та функції нормальної мікрофлори. Такий стан прийнято називати дисбіозом (дисбактеріозом) [1].

Сьогодніне вирішення проблеми дисбіозу здійснюється двома шляхами, які формуються на розумінні ступеня розладу систем організму. Перший підпорядковує профілактику дисбактеріозу. Другий – його лікування. В обох випадках роль компонентів відновлювання мікрофлори відіграють пробіотичні культури з певними властивостями, такі як лакто- та біфідобактерії, кишкові палички, пропіоновокислі бактерії, аерококи та інші, що виділені з організму здорової людини.

Профілактику можна здійснити включенням до щоденного харчового раціону продуктів, які містять компоненти відновлювання мікрофлори (кефір, йогурт тощо) або включенням до раціонів БАД-пробіотиків. Лікування дисбіозів відбувається тільки під наглядом лікаря після ряду відповідних обстежень і базується на декількаразовому прийомі фармацевтичних препаратів протягом деякого часу.

Аналіз ринку продуктів, утворених за допомогою пробіотичних культур, або таких, що містять їх у своєму складі, у якості функціональних інгредієнтів показав, що розширенню асортименту даного виду кулінарної продукції перешкоджає по-перше, те, що життєдіяльність мікроорганізмів обмежується типом сировини, тобто активація процесів їх метаболізму відбувається тільки у молоці. По-друге, далеко не усі штами бактерій можуть бути використані у якості заквасок, тому що багатьом видам і штамам на їх основі не притаманне утворення казеїнового згустку, тобто вони не мають технологічних властивостей.

Проте розповсюдженню БАД-пробіотиків на ринку фармацевтичних товарів майже ніщо не перешкоджає.

Нижче представлені вимоги до мікроорганізмів, що використовуються у якості основи пробіотиків.

1. Вони повинні бути виділені з організму людини або тварини, для якої будуть призначені.

2. Вони повинні мати корисну дію на організм господаря, бути підданими лабораторним дослідженням та клінічним спостереженням.

3. Під час довготривалого використання вони не повинні викликати побічні ефекти.

4. Вони повинні мати колонізаційний потенціал, тобто зберігатися у травному тракті до досягнення максимальної позитивної дії (бути стійкими до значень рН, жовчним кислотам, антимікробним субстанціям, що продукуються індигенною мікрофлорою; добре адгезуються до епітелію відповідних слизових оболонок).

5. Вони повинні мати стабільні характеристики як у клінічному так і у технологічному плані.

6. Вони повинні мати високу швидкість росту та розмноження в умовах, близьких до кишкового тракту; під час культивування *in vitro* для накопичення біомаси слід створювати умови, максимально наближені до мікрооточення просвіту кишечника [2].

Як бачимо, споживання функціональних продуктів із пробіотичними властивостями являється мінімально ефективним, тому що на даний час бактерії не можуть бути доставлені у кількості щонайменше  $10^6$  колонієутворюючих одиниць (КУО) до відділів тонкого кишечника. У представленому асортименті кисломолочних продуктів харчування, створених на основі бактеріальних заквасок, дійсно поміщають необхідну кількість культур, але вони знаходяться у незахищеному стані і під час потрапляння до шлунку гинуть під комплексною дією соляної кислоти та пепсину. Навіть нещодавно винайдені штами бактерій, які у технологічній характеристиці мають позначку «стійкі до дії шлункового соку», долають ШКТ з великими втратами.

Для вирішення проблеми транспорту таких біологічних об'єктів було винайдено достатньо зручну форму доставки – капсулу, оболонка якої повинна надійно захищати бактерії під час проходження відділу шлунку та доставляти їх до органу-мішені, у якості якого виступає верхній відділ тонкого кишечника. Сучасні форми доставки вдосконалюються, але й досі не являються ідеальними. Результати даної роботи стали на шляху вирішення означеної проблеми і дозволяють зруйнувати бар'єр між поняттями технологічності на нетехнологічності штамів пробіотичних культур. У третьому розділі дисертаційної роботи описано технологію виготовлення капсул на основі альгінатної сировини із вмістом живих біфідобактерій, що знаходяться у поживному середовищі, в якості якого виступає молочна сироватка. У розділі четвертому представлені результати квантово-хімічних розрахунків, які дозволяють встановити механізм структуроутворення у системі натрій-кальцій альгінат та визначають роль розчинника у даній системі.

Автори вдячні за підтримку і консультації провідним вченим-розробникам найсучаснішого напрямку у харчових технологіях та інженерії – капсулювання – професору Пивоварову П.П., професору Гринченко О.О.

РОЗДІЛ 1

**ХАРАКТЕРИСТИКА УЧАСНИКІВ ОБЛІГАТНОЇ МІКРОФЛОРИ  
ТА АНАЛІЗ АСОРТИМЕНТУ КУЛІНАРНОЇ ПРОДУКЦІЇ З  
ПРОБІОТИЧНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ**

**1.1. Склад та властивості мікрофлори травного каналу людини**

Мікрофлора – це сукупність численних мікробіоценозів, які відповідають за здоров'я організму. Представники мікрофлори людини мешкають на шкірі та слизових оболонках усіх порожнин організму. Тільки у шлунково-кишковому тракті (ШКТ) налічується більш ніж 400 видів бактерій – представників 17 різних сімейств. Розмаїття видів та їх кількісне співвідношення на різних ділянках ШКТ являють собою мініатюрні гармонійні екосистеми (макроорганізм + мікрофлора), у разі існування яких всі учасники виконують взаємокорисні функції, знаходяться у симбіотичному стані та підтримують загальну рівновагу. Таке ideale або майже ideale співіснування називають *нормальною (здоровою) мікрофлорою*. [1].

Залежно від виконуваних функцій, мікрофлора людини розподіляється на облігатну та факультативну [3]. У нормі переважає облігатна або головна мікрофлора кишечника, яка складається з біфідобактерій, лактобацил, бактероїдів, еубактерій, ешерихій (*e.coli*) – кишкових паличок, фузобактерій тощо. Склад факультативної групи вельми варіабельний. Сюди входять лакто-негативні ентеробактерії, стафілококи, протей, гриби та ін. Багато з них знаходяться там тривалий час, проте патогенної дії не проявляють. Транзиторна факультативна мікрофлора представлена флавобактеріями, ацінетобактерами, деякими псевдомонадами.

На рис. 1.1 наведено якісно-кількісний склад мікрофлори людини у різних відділах організму.

Як видно з рис. 1.1, щільність мікрофлори найвища у товстому кишечнику. Тут оселені близько 400 видів мікроорганізмів із загальною біомасою близько 1,5 кг. Тому цілком доречно вважати, що товста кишка несе найбільш функціональне навантаження, порівняно із іншими біотопами ШКТ.

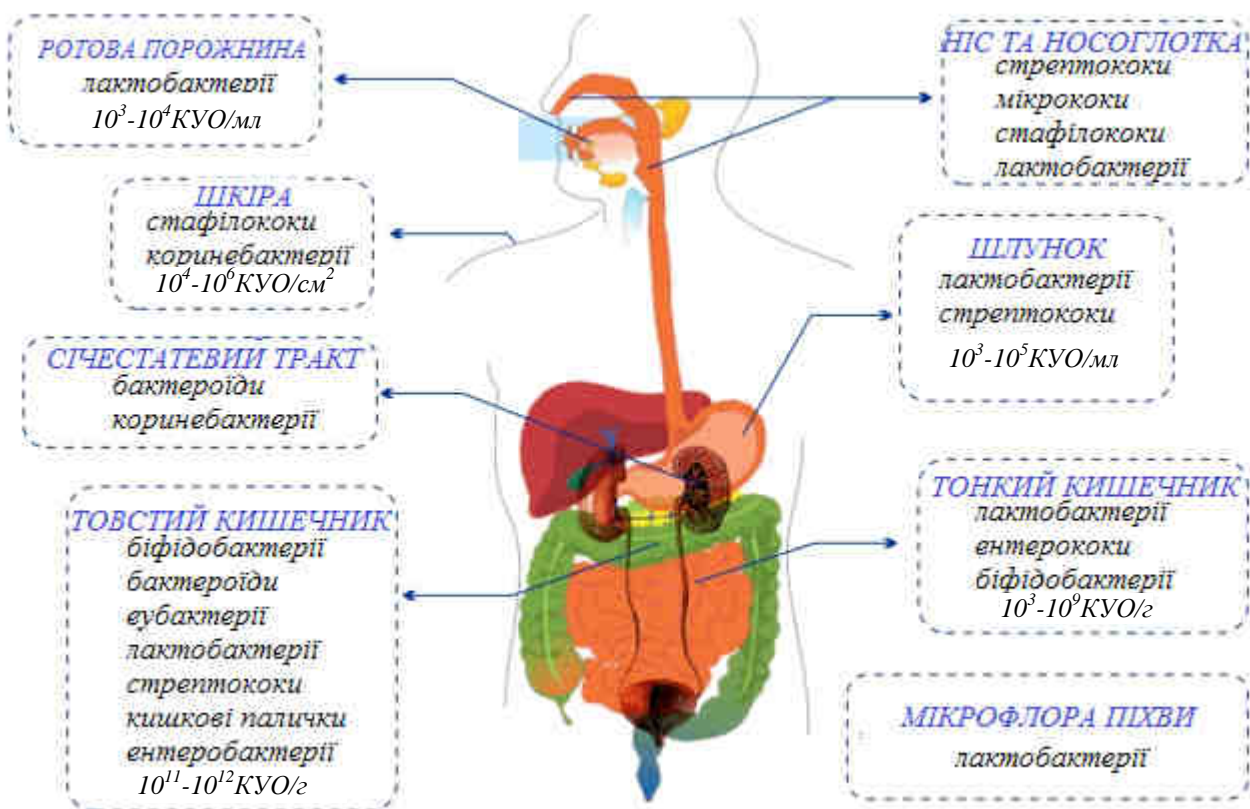
Головна (резидентна) мікрофлора товстої кишки на 90,0% складається з біфідобактерій, бактероїдів та лактобацил – представників класу анаеробів. До резидентної мікрофлори відносяться також ентерокок та пропіонобактерії, однак їх частка замала.

Супутня (факультативна) мікрофлора представлена головним чином, аеробами: ешерихіями, еубактеріями, фузобактеріями, коками загальною кількістю 10,0%. Менш ніж 1% складають багаточисельні представники залишкової мікрофлори, що відносяться як до аеробів, так і до анаеробів. Таким чином, 90,0% мікрофлори товстої кишки складають анаероби [1].

За думкою М. Д. Ардацької та співавторів, загальне число видів мікроорганізмів – більше 500. До основних, за своєю патогенетичною сутністю, належать род біфідобактерій та сімейство бактероїдів, які є анаеробами. За результатами клінічних досліджень, проведених у багатьох країнах світу, відношення



анаеробів до аеробів для нормального функціонування мікрофлори повинно становити 10:1 незалежно від локалізації.



**Рисунок 1.1 – Кількісний розподіл мікрофлори за видами в організмі людини**

За характером метаболізму бактерії товстої кишки класифікують на протеолітичні та цукролітичні.

Перші з них (бактероїди, протей, ешерихії, кластридії тощо) використовують у якості поживного субстрату продукти кишкового гідролізу білків і в результаті їх метаболізму утворюють токсичні речовини, у тому числі токсичні ароматичні амінокислоти, ендogenous канцерогени, сульфіді. Такі продукти викликають діарею, запалення, новоутворення. Більшість протеолітичних мікроорганізмів являються умовно-патогенними.

Цукролітична флора (біфідобактерії, лактобацили, деякі коки, пропіонобактерії) використовують у ході своєї життєдіяльності вуглеводні субстрати, що потрапляють у товсту кишку, а також поліцукри кишкового слизу. Метаболічні функції, притаманні цукролітичними мікробами, дуже корисні для організму «господаря», тому що підтримують його гомеостаз та нейтралізують негативний вплив протеолітичної мікрофлори.

Домінантними представниками цукролітичної мікрофлори на ділянках товстого кишечника являються біфідобактерії та лактобацили, життєдіяльність яких достатньо впливова на людину. Білоусова К. А. та співавтори розділяють корисні функції нормальної мікрофлори ШКТ на 3 основні групи:

- метаболістичні;
- захисні та імунні;
- антимуtagenні та антиканцерогенні.

Основні функції домінуючих представників нормальної мікрофлори представлені у табл. 1.1.

Таблиця 1.1 – Функції лакто- та біфідобактерій

Вид пробіотики	Місце існування	Функції та продукти метаболізму
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Облігатна пристінкова мікрофлора кишечника, просвіт товстого кишечника	<ul style="list-style-type: none"> <li>– мають конкурентний антагонізм щодо патогенної та умовно патогенної мікрофлори (ПМ та УПМ) внаслідок синтезу органічних жирних кислот, лізоцима, спиртів;</li> <li>– приймають участь в утилізації харчових субстратів та активізації пристінкового травлення;</li> <li>– сприяють синтезу амінокислот, білків, вітамінів;</li> <li>– покращують всмоктування <math>Ca^{2+}</math>, <math>Fe^{3+}</math>, вітаміну D;</li> <li>– мають імуномодельючу дію (перешкоджають деградації sIgA, стимулюють утворення інтерферону)</li> </ul>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Облігатна мікрофлора кишечника, що заселяє травний канал (від ротової порожнини до товстої кишки), вульвовагінальна ділянка	<ul style="list-style-type: none"> <li>– інгібують зростання ПМ та УПМ, внаслідок активізації синтезу органічних кислот (молочної, бурштинової, оцтової), перекису водню, бактеріоцинів (лектроліну, нізину, дактоцидіну, ацидофіліну);</li> <li>– підвищують активність імунної системи шляхом стимулювання фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів, макрофагів;</li> <li>– приймають участь у синтезі інтерферону, інтерлейкіну – 1;</li> <li>– характеризуються високою активністю ферментів, у тому числі лактази</li> </ul>
<i>Lactobacillus sporogenes</i>	Транзитрна мікрофлора кишечника	– діють у якості ферментів на вуглеводи, утворюючи молочну кислоту
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>		<ul style="list-style-type: none"> <li>– перешкоджає утворенню ПМ та УПМ;</li> <li>– забезпечує швидке та ефективне заселення кишечника ацидофільними лакто- та біфідобактеріями;</li> <li>– сприяють молочнокислому бродінню;</li> <li>– мають протипухлинну активність.</li> </ul>
<i>Streptococcus thermophilus</i>		<ul style="list-style-type: none"> <li>– мають високу антибактеріальну активність до ПМ, УПМ та вірусних інфекцій;</li> <li>– сприяє приживлянню лактобактерій;</li> <li>– покращує розщеплення та всмоктування лактози.</li> </ul>

## 1.2. Шляхи корекції порушень мікрофлори

*Пробіотики - це субстрати, які містять живі культури мікроорганізмів, та позитивно впливають на баланс мікрофлори кишечнику*  
(за Fuller R., 1992)

Видовий та кількісний склад мікрофлори руйнується під впливом багатьох екзогенних та ендогенних факторів: природних та техногенних токсинів,

стресів, лікарських засобів (антибіотиків, послаблюючих, сорбентів, стероїдів, психотропних препаратів).

Дуже негативну роль також відіграють дієти для схуднення та зловживання так званими «методами очищення» організму від шлаків. Крім того, майже усі хронічні захворювання ШКТ призводять до дисбалансу мікрофлори внаслідок послаблення захисних властивостей слизових.

*Пробіотики - це речовини, що важко засвоюються організмом і яким властива селективна стимуляція життєдіяльності певних видів мікроорганізмів, які складають мікрофлору нижніх відділів кишечника*  
(за M. Roberfroid and Glenn R. Gibson, 1999)

Основними засобами корекції вважаються такі, які лікують основне захворювання, тобто нейтралізують першопричину.

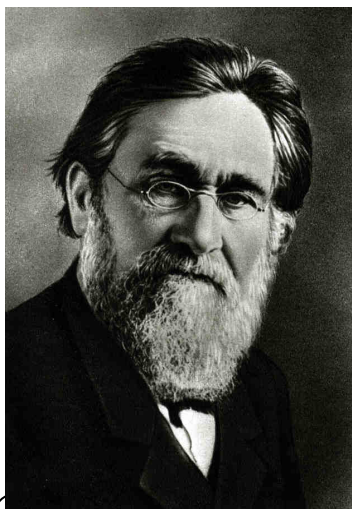
*Синбіотики - це субстрати, яким притаманні властивості пробіотиків та пребіотиків*

*Мультипробіотики - це дисбіотичні коректори, які складаються з кількох видів пробіотиків, що реалізують усі притаманні їм властивості*

У разі недостатності засобів впливу, використовують допоміжні компоненти коригування мікрофлори: пребіотики, синбіотики та пробіотики [3].

## 1.3. Характеристика пробіотиків та продукції на їх основі

Першим, хто виявив та зацікавився цілющим впливом мікроорганізмів на організм людини був І. Мечников. У 1907 році він довів, що багаточисельні асоціації мікробів, що заселяють кишечник відіграють важливу роль не тільки у фізичному, а ще й у духовному здоров'ї людини. І. Мечниковим також були представлені докази того, що шкіряні та слизові оболонки людини також вкриті



**І. І. Мечников**  
(1845–1916)

біоплівкою, до складу якої надходять сотні видів мікробів. У 1965 році D.M. Lilly та R.H. Stilwell ввели у використання термін «пробіотик» для визначення фармакологічних препаратів або біологічно активних добавок (БАД). До складу таких продуктів внесена культура, вилучена зі складу нормальної мікрофлори, яка має властивість покращити мікробний склад кишечника та організм «господаря» [4]. Однак, за Б. А. Шендеровим [2], поняття «пробіотик» у середині 60-х років ХХ століття стало використовуватись як антонім до поняття «антибіотик» і стало охоплювати мікробні метаболіти, що стимулюють зріст деяких корисних мікроорганізмів.

Достатньо суперечливими були дискусії різних вчених-мікробіологів щодо тлумачення терміна «пробіотик», але, нарешті, було визначено, що пробіотики – це живі мікроорганізми та речовини мікробного походження, що під час природного введення в організм сприяють покращенню фізіологічних функцій, позитивно впливають на біохімічні процеси та реакції поведінки господаря через оптимізацію його мікроекологічного статусу. Тобто будь-які мікроорганізми, їх структурні компоненти, метаболіти, а також речовини іншого походження, що позитивно впливають на функціонування мікрофлори «господаря» та покращують адаптацію останнього до навколишнього середовища у конкретній екологічній ніші, можуть розглядатися як пробіотики [2].

Деякі вчені, надаючи опис продуктів, дотримуються вищенаведеного принципу дії, проте використовують поняття «еубіотик». Слід зазначити, що складові, узагальнені такою назвою, не створюють казеїнового згустку і мають більший спектр лікувальних властивостей. Такі культури належать до фармакопейних бактерійних препаратів, прикладами яких є «Біфідумбактерин», «Лінекс», «Лактобактерин», «Біфікол», «Біфілонг» та інші.



Оскільки пробіотики здатні налагоджувати безліч функцій організму господаря, то й продукти, створені за їх участю, або на їх основі, визначають як «функціональні». З цього приводу бажано відмітити, що раціони харчування із вмістом таких інгредієнтів складають основу «функціонального харчування», а основні вимоги до «функціональних продуктів» висуваються такі:

**Рисунок 1.2 – Функціональні інгредієнти у складі фармацевтичних форм**

- 1) регулювання фізіологічних функцій;
- 2) просування біохімічних реакцій;
- 3) корегування психосоціальної поведінки людини;
- 4) нормалізація мікроекологічного статусу організму «господаря».

Тому ми розділяємо погляди [2], які ґрунтуються на розумінні, що «продукти функціонального харчування» це своєрідна форма пробіотиків і різниця заключається лише у способі їх доставки до організму: у вигляді капсули, пігулки чи іншої схожої з ліками для орального споживання форми, що містять препарат або БАД до їжі, або у формі традиційного харчового продукту. Перші заповнюють форму у концентраціях значно більших за фізіологічні, тому вони рекомендовані для вживання певний строк (14 - 30 днів), інші – поміщені у продукт – можуть потрапляти до організму без обмежень.



**Рисунок 1.3 – Функціональні інгредієнти у складі харчових продуктів**

#### 1.4. Механізм дії пробіотиків та продуктів функціонального харчування

Далеко не усі штами бактерій, знайдених в організмі людини, здатні називатися «технологічними культурами», більшість з них (майже 70%) відносяться до фармакопейних штамів.

*Технологічні пробіотичні культури* – це такі штами бактерій, які за певних умов здатні створювати молочні згустки та приймати участь у процесі кисломолочного бродіння. Представники технологічних штамів використовуються для виробництва кисломолочних продуктів.

Одержані ферментацією молока або іншої сировини КМП відомі людству ще 50 століть тому. Під час дії на молочну сировину ферментів виділяються кислоти, що знижує рівень рН до 4,6. Такі умови сприяють преципітації казеїну і накопиченню живих мікроорганізмів, які зберігають активність до кінця терміну придатності при обов'язковому охолодженні. Продуктами метаболізму є незамінні амінокислоти і речовини, які знижують сумарну кількість холестерину. Так, першим КМП, який віднесено до продуктів функціонального харчування являвся напій «Якулт», виготовлений у Японії у 1955 р. До його складу надходили сухе молоко, вода, декстроза, цукри, ароматизатори та лактобацили виду *casei*.

На сьогоднішній день для населення запропоновано широкий спектр КМП, створених на основі ферментації молока як лактобацилами, так і біфідобактеріями та ентерококами або їх сумішами. Такі функціональні інгредієнти або їх комплекси вводять до йогуртів, молочних завтраків швидкого приготування, різноманітних напоїв, заморожених десертів, сирів, неферментованого підсолоджене молоко [2].

Таким чином, автори кожної нової розробки у галузі функціональних продуктів прямують до створення «ідеального» продукту, якому були б властиві високі лікувальні і органолептичні показники. Для того, щоб чітко визначати присутність тих та інших були розроблені суворі правила створення подібних продуктів та вимоги до їх лабораторних досліджень перед прийняттям рішення до їх масового виготовлення.

Так, загальноприйняті вимоги до стартерних культур для виготовлення КМП складаються з:

- 1) притаманності до людського організму;
- 2) наявності стабільних генетичних характеристик;
- 3) стійкості до дії травних соків;
- 4) високої адгезії до епітелію товстої кишки;
- 5) здатності до нормалізації мікроекології товстого кишечника;
- 6) відсутності будь-якого патогенного потенціалу;
- 7) наявності позитивних результатів повної токсикологічної та фармакологічної експертизи.

У зв'язку з цим ми погоджуємось із думкою [2], що «ідеальний» КМП функціонального харчування повинен відповідати наступним вимогам (рис. 1.4).



**Рисунок 1.4 – Характеристика «ідеального» кисломолочного функціонального продукту**

На сучасному етапі розвитку технологій у напрямку виготовлення КМП доказово позитивним стало введення до складу їх рецептурної суміші речовин полицукрової природи. Користь створення означених композицій полягає у зростанні біомаси мікроорганізмів в організмі «господаря» за рахунок споживання бактеріями поліцукрів. Для цього використовують лактулозу, екстракти з кукурудзяних або пшеничних висівок активовані харчові волокна тощо [5]. Прикладом таких композицій є «Геролакт» та «Лактовіт» [6, 7]. Крім того, нещодавно ринок поповнився новими функціональними КМП – біопродуктами – біопростокваша, біоїогурт, біосметана, біокефір. Такі продукти є багатокомпонентними та мають задані функціональні властивості [5]. Наприклад, кисломолочний напій «Вітафор» [8] складається з п'яти пробіотиків, сімнадцяти амінокислот, вітамінів С, Е, РР та групи В.

Останні розробки авторів [5; 9] сприяли розвитку нових технологій заквашувальних препаратів прямого внесення. Сутність технологічного процесу складається у необхідності виготовлення материнської та виробничої заквасок, що значно перешкоджає вторинній контамінації.

Науковими розробками групи вчених [9] на ринку України представлено нові функціональні продукти: «Йогурт сухий у капсулах» [10], «Сухий молочний таблетований продукт «Лактовіт білковий» [11], «Сухий вуглеводний

продукт лікувально-профілактичної дії «Лактовіт» [12], бактеріальні концентрати «Старт» [13] та БМК [14] для одержання функціональних продуктів і «Біфідин» – для кормових продуктів [15]. На основі одержаних заквасок прямого внесення розроблено кисломолочний напій та КМП «Біовіт», а також кормовий продукт «Біокорм» [16–18]. Біфідогенний модуль складався з бактерій *B. adolescentis* 4400, *B. bifidum* 4101, *B. longum* 4200, які обрано за показниками стійкості до дії кислот. Торгівельні марки «Галактон», «Білосвіт-Умань», «Лакталіс-Україна», корпорація «Фанні» та інші також урізноманітнюють асортимент функціональних молочних продуктів на ринку України.

Як видно, серед усього представленого спектру, увагу приділено тільки кисломолочним продуктам, інші шляхи потребують нових наукових рішень.

### **1.5. Характеристика біфідобактерій та їх роль у створенні структурованих продуктів нового покоління**

Наукові праці авторів [19, 1, 4] описують головну ознаку дисбактеріозу, яка полягає у різкому зниженні рівня біфідофлори в організмі людини, оскільки саме цей тип мікроорганізмів являється достатньо нестійким до руйнуючої дії зовнішніх факторів. Пояснюється дане явище тим, що при переважанні у біотопі потенційно патогенних мікробів та накопиченні продуктів їх метаболізму, посилюється генетичний обмін, у зв'язку з чим утворюються видозмінені клонони, які володіють небажаною лікарською стійкістю, що призводить до виникнення небезпечних захворювань.

Біфідобактерії у товстій кишці знаходяться у кількості  $10^{8-11}$  КУО/г. Всього їх налічується близько 32 видів, найбільш поширені з яких *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. boum*, *B. breve*, *B. choerinum*, *B. dentium*, *B. eriksonii*, *B. globosum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. pseudolongum*, *B. suis*, *B. thermophilum*. Всього в організмі господаря налічується більше 500 видів різних бактерій, але тільки третина з них здатна сквашувати стерильне молоко і через 16–20 год створювати ніжний за консистенцією згусток помірної кислотності (70–90°Т).

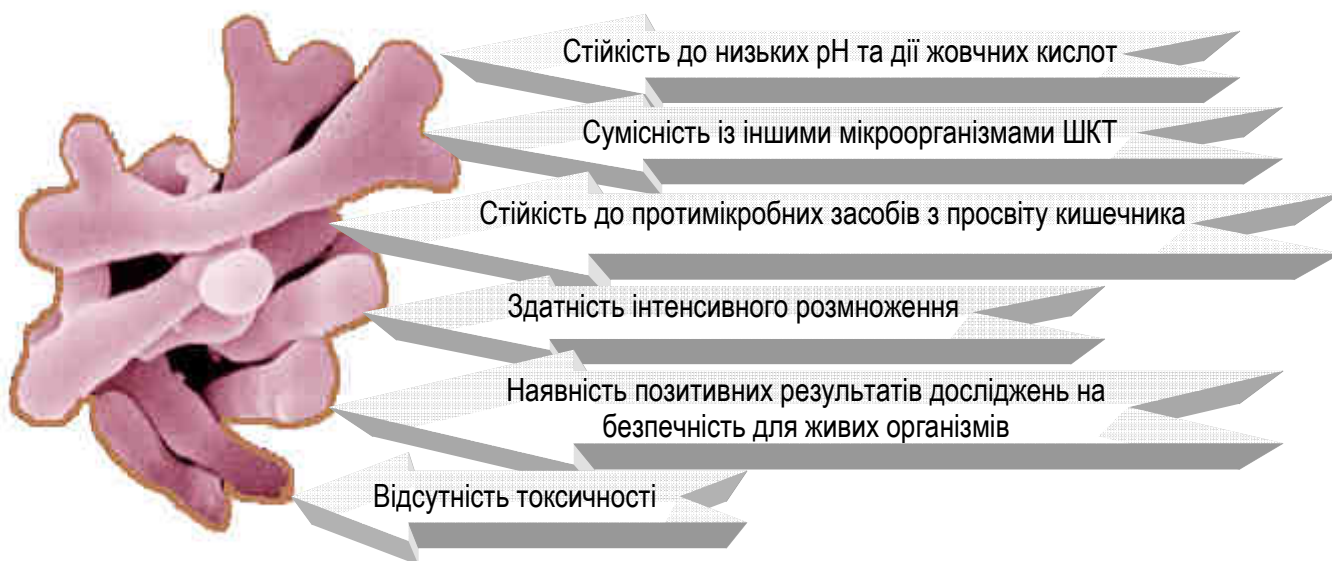
Продуктами метаболізму біфідобактерій являються ацетатна і молочна кислоти у молярному співвідношенні 3:2, при цьому вуглекислий газ не утворюється. Активний зріст мікроорганізмів відмічено за 37–40°С та рН 6,5–7,0.

За даними автора [20] домінантними мікроорганізмами у дітей на грудному вигодовуванні є *B. bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis* у співвідношенні 35:42:17:12. *B. adolescentis* зустрічається у кількості 1,5% або не виділяється взагалі. Під час дослідження вмісту кишечника грудних дітей на штучному вигодовуванні кількість *B. adolescentis* підвищується до 22,0% при одночасному зниженні домінантних штамів на 3–5%. У дорослому організмі превалюють

*B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis* і, нарешті, у похилому віці вміст *B. adolescentis* становить 65–70,0%. Тому, для продуктів дитячого харчування такий штам бактерій використовувати не бажано.

Біфідобактерії являються постачальниками ряду незамінних амінокислот, в тому числі і триптофану, а також вітамінів. Клінічними дослідженнями була

доведена їх антиканцерогенна та антимуутагенна активність. Крім того, біфідобактерії здатні знижувати рівень холестерину у крові. Все це дозволяє уважніше придивитись до них та розглянути можливості їх використання у харчовій промисловості в якості систем із багатофакторною регулюючою та стимулюючою дією на організм людини будь-якого віку та прийняти даний вид мікроорганізмів за основну категорію функціонального харчування. Проте не існує універсального штаму, якому за природних умов були б притаманні одночасне гальмування росту патогенної мікрофлори, нейтралізація дії холестерину та оксалатів, гідроліз лактози та активація протипухлинних та антиалергічних процесів. Під час відбору штамів, призначених для виробництва функціональних продуктів, слід звернути увагу на наявність наступних функцій (рис. 1.5).



**Рисунок 1.5 – Перелік вимог до вибору штамів біфідобактерій для «ідеального КМП продукту»**

За таких суворих вимог, далеко не всі штами біфідобактерій можуть бути потенційно технологічними для виготовлення фармацевтичних препаратів і продуктів харчування пробіотичної дії.

У 1956 році у Німеччині фірмою Topfer GmbH було винайдено саме такий штам біфідобактерій, який відповідав усім вимогам, на основі якого був створений перший лікувальний комерційний засіб із живими бактеріями – *еугалан*. Пізніше, у 1964 році німці створили перший дитячий біфідовміщуючий препарат «*Lactana B-milk*».

Першим вітчизняним лікувальним препаратом став «*Біфідумбактерин*», розроблений у 1972 році співробітниками Московського НДІ епідеміології та мікробіології ім. Г. М. Габричевського. На основі «*Біфідумбактерину*» (сухого) розроблений його аналог – «*Біфіліз*», збагачений лізоцимом, що є корисним продуктом метаболізму біфідобактерій. Саме цей фармацевтичний винахід було включено до рецептурної суміші плавленого сиру [2].



Усередині 60-х років германські вчені дослідили дію біфідобактерій на процес зквашування молока. Отримані результати у 1968 р. дозволили розробити технологічну схему виробництва КМП, який містить живі біфідобактерії.

Сьогодні асортимент кулінарної продукції із вмістом живих біфідокультур урізноманітнюють не тільки молоко і сири, а також десерти, морозиво, цукерки.

Аналіз українського ринку харчових продуктів, що містять пробіотичні культури наведено у табл. 1.2.

Таблиця 1.2 – Ринок пробіотичних кисломолочних продуктів на Україні [21]

Виробник	Торгівельна марка	Бренд	Кількість бактерій, КУО/г	Вид бактерій
1	2	3	4	5
«Лакталіс»	«Імун+»	Йогурт питний	$10^7$	L. Rhamnosus Immunalis
«Вимм Билль Данн»	«NEO 2bio»	Йогурт питний	$10^7$	Bifidobacterium
«Вимм Билль Данн»	«NEO2Bio»	Напій кефірний збагачений	$10^7$	Bifidobacterium
«Вимм Билль Данн»	«Чудо»	Біоїогурт	$10^8$	Bifidobacterium
«Вимм Билль Данн»	«Веселий молочник»	Біпродукт кисломолочний біокефір	$10^7$	Bifidobacterium
«Danone»	«Actimel»	Йогурт питний	$10^7$	L Casei Imunitass
«Danone»	«Активиа»	Йогурт питний	$10^8$	Біфідобактерії ActiRegularis
«Danone»	«Активиа»	Йогурт в'язкий	$10^7$	Біфідобактерії ActiRegularis
«Danone»	«Активиа» Кефирная	Біфідопродукт кефірний класичний питний	$10^8$	Біфідобактерії ActiRegularis
«Danone»	«Живинка» Біокефірна	Біопродукт кисломолочний кефірний	$10^7$	Bifidobacterium
«Unimilk»	«БіоБаланс»	Тан	$10^7$	бактерії LGG
«Unimilk»	«БіоБаланс»	Біопродукт кисломолочний	$10^6$	бактерії LGG
«Unimilk»	«БіоБаланс»	Біопродукт йогуртний	$10^7$	бактерії LGG
ВАТ Кременчуцький міськмолкозавод	«Літній день»	Біокефір	$10^7$	Bifidobacterium
Радехівський молокозавод	«Гурманіка»	Йогурт питний	$10^7$	Bifidobacterium
ЗАТ «Юрія»	«Волошкове поле»	Біфідо-йогурт питний	$10^6$	Bifidobacterium

## Продовження таблиці 1.2

1	2	3	4	5
ЗАТ «Юрія»	«Волошкове поле»	Біопродукт кефірний	10 <sup>6</sup>	Bifidobacterium
ОАО «Галактон»	«Біо Баланс»	Біойогурт	10 <sup>8</sup>	L.rhamnosus
ОАО «Галактон»	«Біо Преміум»	Біокефір збагачений кальцієм	10 <sup>7</sup>	Bifidobacterium
ЗАО «Галичина»»	«Галичина»	Йогурт елітний питний солодкий	10 <sup>8</sup>	Bifidobacterium та L.casei
ЗАО «Галичина»	«Галичина»	Біокефір	10 <sup>7</sup>	Bifidobacterium
Філія «Сумський молочний завод» ДП «Аромат»	«Добряна»	Біойогурт	10 <sup>9</sup>	Bifidobacterium
ООО «Молочний дім»	«Білосвіт»	Біопродукт кисломолочний біо-кефірний	10 <sup>8</sup>	Bifidobacterium

Однак для того, щоб користь споживаних продуктів була виправданою, бактерії повинні долати шлунково-кишковий тракт у кількості, що була внесена у продукт спочатку, при чому без втрати метаболізуючої та репродуктивної функцій. Не дивлячись на те, що ринок кисломолочних продуктів України достатньо широкий та розгалужений за вмістом і складом заквашувальних культур, багато розробок українських вчених, на жаль, залишається поза увагою виробників. Так у табл. 1.3 міститься інформація про корисні продукти, які не можуть задовольнити потреби споживачів у зв'язку з їх обмеженим випуском.

Таблиця 1.3 – Нові розробки українських вчених на ринку продуктів оздоровчого призначення [21]

Назва продукту	Нормативний документ
Функціональний молочний продукт «Біфідка» з біфідобактеріями для дитячого харчування	ТУ У 15.5.-00419880-032-2003
Ферментований молочний напій діабетичного призначення	ТУ У 15.5-02071062-001:2008
Йогурт діабетичного призначення	ТУ У 15.5-02071062-002:2008
Геро-маслянка	ТУ У 15.5-02071062-003:2008
Напій з імуномодулюючими властивостями	ТУ У 15.5-02071062-004:2008
Ферментований функціональний молочний напій	ТУ У 15.5-02071062-005:2008
Кисломолочний продукт «Біфідо-лактон»	ТУ У 15.5-02071062-006:2008
Молоко діабетичного призначення	ТУ У 15.5-02071062-007:2008
Молочний напій «Біфідо-лактон»	ТУ У 15.5-02071062-008:2008
Сметана функціонального призначення	ТУ У 15.5-02071062-009:2008
Кисломолочний сир функціонального призначення	ТУ У 15.5-02071062-010:2008
М'який сир функціонального призначення	ТУ У 15.5-02071062-011:2008
Ферментований геро-напій	ТУ У 15.5-02071062-012:2008

Акціонерним товариством «Русский йогурт» було розроблено спосіб приготування квасу на основі біфідобактерії *Bifidobacterium longum* ЦМПМ В-2000, та/або *Bifidobacterium bifidum* ЦМПМ В-3300, та/або *Bifidobacterium bifidum* ЦМПМ В-3190 (у вигляді монокультури або їх суміші). Наразі дія обраних штамів на організм людини не достатньо вивчена. Вченими Новосибірську представлено на ринку продуктів пробіотичної дії пиво з біфідобактеріями [21].

Автором О.М. Антоненко [22] деталізовано корисну дію на організм людини продукції ТМ «Активія», що містить унікальні біфідобактерії *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (ВВ-12, комерційна назва – Actiregularis), які покращують травлення та засвоювання корисних речовин їжі. Даний штам характеризується високою кислотостійкістю і долає ШКТ із втратами лише у два порядки, порівняно зі штамми, на які збагачені інші кисломолочні аналоги. Це дозволяє збільшити терміни зберігання готової продукції майже вдвічі. Але означений продукт дозволений для вживання лише дорослим людям, оскільки внесена культура до складу дитячої мікрофлори не відноситься, а у багатьох випадках є антагоністичною навіть і для дорослих споживачів.

Розробниками [23] створено рецептурну суміш питного йогурту, де здійснено контроль за жировим модулем засобом внесення олії (соняшникової або кукурудзяної). Така розробка здатна збагатити класичні йогурти на поліненасичені жирні кислоти, але процес гомогенізації одержаної харчової маси потребує використання складної стабілізаційної суміші «Мультек-Тех-ММ» або «Лігом-А», або стабілізаторів (пектину, карагінану, агару тощо), що впливає на вартість продукту та зменшує кількість білкового модулю у 100 г готового продукту.

Автори [5; 24] описують існуючий асортимент молочних сніданків швидкого приготування, різноманітних напоїв, заморожених десертів, сирів, неферментованого підсолоджене молоко із використанням учасників облігатної мікрофлори.

Науково-дослідною групою [25] розроблено принципово нову композицію мікроорганізмів, здатних створювати щільний гелеподібний згусток лише за  $(2,5-3,5) \times 3600$  с. У якості складової лактобактерій використано штам *Lactobacillus acidophilus*, у якості біфідогенного компонента – рідкий концентрат біфідобактерій, що містить суміш штамів *Bifidobacterium bifidum* та *Bifidobacterium longum*, у якості молочнокислих стрептококів використано в'язкі штами термофільного стрептококу виду *Streptococcus thermophilus*. Авторами встановлено чітке співвідношення біфідо-, лактобактерій та стрептококів (0,3:1,0:3,0 відповідно), що надало можливість одержати продукт із гелеподібною консистенцією. Недоліком такої розробки є низька концентрація біфідобактерій у відділах кишечника людини після долання ШКТ.

Розробниками симбіотичного кисломолочного продукту «Біфацил» [26] запропоновано рецептурну суміш також на консорціумі лакто-, біфідобактерій та стрептококів. Порівняно з попереднім, даний продукт має рідку (питну) консистенцію. Слід відмітити, що у якості біфідогенного чинника використано фармакопейну кислотостійку культуру *Bifidobacterium adolescentis* штам МС-42 [27], який використовується для лікування імунодефіциту, проявляє високу

стійкість до дії антибіотиків та виліковує інфекційні хвороби та дисбіози різної етіології [27].

Авторами [28] створено композиційну суміш для виготовлення кисломолочного напою з біфідобактеріями, молочнокислими стрептококами, лактобактеріями, кефірними грибками та дріжджами з додаванням фруктово-ягідних, овочевих сумішей, екстрактів ягід і трав із вмістом етилового спирту 0,5–2,5%. Але клінічні дослідження даного продукту не проводились і поведінку внесених культур відносно дії алкоголятів не досліджено.

Одними з найкорисніших кисломолочних продуктів спеціалістами інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного (НАН України) відмічено «Лактонію» та «2 bio» NEO [29]. Мікроорганізми до складу «Лактонії» не входять, але продукт містить один із найякісніших природних субстратів – лактулозу, яка дозволяє швидко відновити мікрофлору організму-«господаря» та сприяє засвоюванню вітамінів, мінералів (особливо кальцію), що містяться у їжі.

Під брендом NEO компанією «Вімм-Білл-Данн» запропоновано продукт синбіотичного призначення, до складу якого входять не тільки біфідо- та молочнокислі бактерії, а ще й пребіотики – сироватка суха, пектин, гуарова камедь. Рідку основу збагачено на сік алое [29].

В Україні ринок молочних продуктів із пробіотичними властивостями включає різноманітні кисломолочні біопродукти, що виробляються на симбіотичних заквасках, до складу яких входять лактобактерії, біфідобактерії та стрептококи; питні біонапої, які виготовляються з використанням чистих культур біфідо- або лактобактерій; кисломолочна продукція компанії «Данон», що виробляється на симбіотичних заквасках із вмістом йогуртових культур та біфідобактерій; кисломолочні напої «Біфілайф», «Біфівіт», для сквашування яких використовують біфідобактерії та термофільний стрептокок [30]. Проте, слід зазначити, що до складу багатьох кисломолочних напоїв промислового виробництва входять модифіковані крохмалі, барвники, ароматизатори, що зменшують рівень корисного впливу на організм людини даних продуктів.

Слід відмітити продукцію Державного дослідницького підприємства бактеріальних заквасок «Альба-ТІММ». Результати їх технологічної діяльності використовують під час виробництва молочних продуктів більш ніж 300 українських виробників – «Лакталіс-Україна» (ТМ «President»), Куп'янський молочноконсервний комбінат (ТМ «Заріччя»), Київський міськмолзавод № 3 (ТМ «Слов'яночка»), молочний комбінат «Придніпровський» (ТМ «Злагода»), Лубенський молочний завод та ін. Дане виробництво виготовляє високоякісні бактеріальні закваски, які розповсюджуються не лише на території України та країн СНД, а ще й входять до складу продукції багатьох виробників далекого зарубіжжя (Данії, Південної Кореї, Південноафриканської Республіки тощо). На основі бактеріальних заквасок «Альба-ТІММ» розроблено широкий асортимент продукції для виготовлення йогуртів та інших КМП у домашніх умовах – з використанням йогуртниць, термосів [31].

Автори кожної нової розробки у галузі функціональних продуктів прямують до створення «ідеального» продукту, якому були б властиві високі лікувальні та органолептичні показники.

У зв'язку з цим «ідеальний» КМП функціонального харчування повинен відповідати наступним вимогам [20]:

- бути створений на основі певних стартових культур;
- кількість живих мікроорганізмів, що надходять до складу КМП, повинна бути не менш ніж  $10^6$ – $10^7$  КУО/г готового продукту протягом усього терміну придатності;
- виготовлення КМП повинно відбуватись в асептичних умовах;
- систематичне споживання КМП повинно із об'єктивною доказовістю позитивно впливати на конкретні фізіологічні функції, біохімічні або поведінкові реакції людського організму;
- тривале щоденне споживання КМП (не менше 4–5 тижнів) у фізіологічних кількостях не повинно призводити до будь-яких побічних ефектів.

На сучасному етапі розвитку технологій у галузі виготовлення КМП відбувається введення до складу їх рецептурної суміші речовин полісахаридної природи, що сприяє зростанню корисної мікрофлори. Для цього використовують лактулозу, екстракти з кукурудзяних або пшеничних висівків, активовані харчові волокна, фруктозу тощо [30; 32].

Авторами [33] запропоновано спосіб корекції вуглеводного складу харчових продуктів загального та спеціального призначення засобом введення інуліну або інулінвміщуючої сировини. Представлена суміш активізує процеси зростання та розмноження учасників облігатної мікрофлори, зокрема біфідобактерій, але клінічних підтверджень цієї пропозиції авторів не представлено.

Нещодавно ринок поповнився новими функціональними КМП – біопродуктами – біопростокваша, біоюгурт, біосметана, біокефір. Такі продукти є багатокомпонентними та мають задані функціональні властивості [32]. Наприклад, кисломолочний напій «Вітафлор» складається з п'яти пробіотиків, сімнадцяти амінокислот, вітамінів С, Е, РР та групи В [34].

Акціонерним товариством «Русский йогурт» розроблено спосіб приготування квасу на основі біфідобактерії *Bifidobacterium longum* ЦМППМ В-2000, *Bifidobacterium bifidum* ЦМППМ В-3300 та *Bifidobacterium bifidum* ЦМППМ В-3190 (у вигляді монокультур або їх суміші). Але дію обраних штамів на організм людини вивчено не достатньо [35].

Науковою школою [36] запропоновано технологію ферментованих молочних напоїв діабетичного призначення з використанням комплексів синбіотиків. У якості біфідогенного модулю використано мікроорганізми з музею культур Одеської національної академії харчових технологій, притаманних людському організму. Окреслена група продуктів містить незахищені біфідобактерії, що є основним недоліком розробки.

Авторами [37] запропоновано спосіб виробництва кисломолочного лікувально-профілактичного продукту «Біфідка», який знайшов свій контингент споживачів серед дітей шкільного віку. До складу продукту входять консорціями штамів біфідобактерій. Проте у досліджуваних зразках пулу кишечника дітей, які харчувались даним продуктом, встановлено високу концентрацію біфідобактерій, внесених до рецептурної суміші, що вказує на

недостатню засвоюваність цих штамів у зростаючому організмі. Сучасний ринок фармацевтичних препаратів також зосереджує свою увагу на виробництві лікарських засобів із пробіотичним ефектом. До їхнього складу найчастіше надходять такі культури: *B. bifidum*, *B. longum*, *B. lactis*. У значно меншій кількості використовують *B. breve* та *B. adolescentis*.

Слід відмітити, що технології приготування продуктів функціонального призначення (ПФП) з використанням різних штамів біфідобактерій істотно різняться. Проте кожний технологічний процес проходить декілька однакових етапів (рис. 1.6).



**Рисунок 1.6 – Загальні етапи технологічного процесу виробництва ПФП**

На першому етапі підготовлюють стартерні культури згідно вищезначеними вимогами (рис.1.6). Для виготовлення кожної наступної партії продукту використовують нову упаковку (ампулу) пробіотика. Такі заходи дозволяють уникнути гибелі стартерних культур або можливості виникнення їх клонів. Бажано, щоб виробничі культури були в змозі нарощувати біомасу (протягом 6–18 годин) у такій кількості, яка б наприкінці процесу становила не менш  $10^7$  КУО/г готового продукту.

На другому етапі здійснюють підготовку сировини та матеріалів, перевіряють відповідність до вимог, стерилізують (окрім мікроорганізмів) у спеціальних апаратах ( $t = 140^\circ\text{C}$ ;  $\tau = 3\text{--}5$  с) або піддають стерилізації в автоклаві чи шляхом ультрафільтрації.

На наступному етапі відбувається процес заквашування живильної основи шляхом внесення у асептичні ферментатори виробничої закваски в необхідному об'ємі і контроль за процесом згідно з параметрами, що регламентуються (кількість життєздатних клітин, рН, температура, вміст кисню, час ферментації, тощо). Найчастіше біфідозакваски вносять в охолоджене до  $40\text{--}42^\circ\text{C}$  молоко. Для швидкого отримання згустку бажаної консистенції до біфідобактерій додають лактобацили та молочні стрептококи. Після чого відбувається інкубація при  $38^\circ\text{C}$  протягом 6–7 год. Рівень рН при цьому не повинен перевищувати  $4,8\pm 0,4$ . На завершенні цього етапу згусток охолоджують до  $20\text{--}25^\circ\text{C}$  та розфасовують. При цьому час не повинен перевищувати 2 год.

На передостанньому етапі продукт розливають за асептичних умов, після цього протягом 8–10 год. охолоджують до 6°C. Прискорення цього етапу негативно відбивається на консистенції готового продукту.

Завершувальним етапом процесу виготовлення продуктів функціонального призначення є контроль готової продукції за органолептичними, мікробіологічними, фізико-хімічними та іншими показниками.

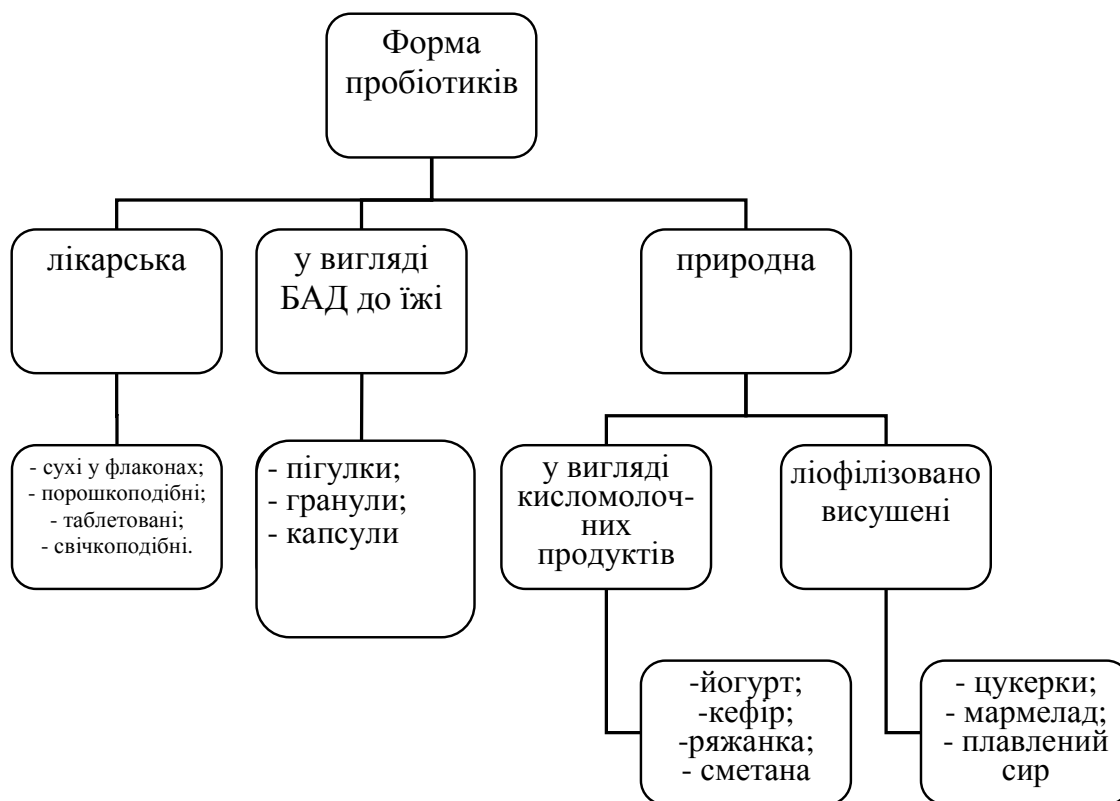
Отже, станом на сьогодні, ціком доведено, що харчова індустрія виходить на новий рівень модернізації виробництв, направлений на забезпечення високої якості продукції, одержання прибутку, але перш за все – надання ринку розширеного асортименту продукції, в якій основним джерелом формування біологічної цінності виступають представники мікрофлори людини.

РОЗДІЛ 2  
**АНАЛІЗ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНЗИТОРНИХ ФОРМ  
І СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ ПРОБІОТИЧНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ**

**2.1. Загальна характеристика транспортних форм для пробіотичних мікроорганізмів**

На основі пробіотичних мікроорганізмів створено широкий асортимент препаратів, рекомендованих для лікування та профілактики дисбіозів, гострих та хронічних кишкових інфекцій, алергій, імунодефіцитів та інших патологій. Крім цього, доказовий лікувально-профілактичний ефект мають і харчові продукти із вмістом біфідобактерій, лактобацил, ацидофільної та болгарської палички, кефірних грибків, стрептококів, молочнокислих мікроорганізмів тощо.

На рис. 2.1 схематично представлено класифікацію форм пробіотиків.



**Рисунок 2.1 – Класифікація форм пробіотиків**

Лікарська форма – зручний стан, у якому фармацевтичний засіб потрапляє до організму людини та надає необхідного лікувального ефекту. снує декілька таких форм: порошок, розчин, мазь, таблетки, гранули, капсули. Твердим формам надають бажану геометрію для забезпечення максимальної дії лікарського засобу та зручності під час прийому [38].

Порошок – тверда лікарська форма для внутрішнього та зовнішнього застосування, яку одержують у результаті подрібнення та змішування сипучих лікарських речовин (однієї або декількох), у разі чого збільшується їх адсорбційна



активність та розчинність. Недоліками порошків є те, що в результаті збільшення питомої поверхні, за рахунок подрібнення лікарської речовини, легко втрачається кристалізаційна вода, з'являється ймовірність негативного впливу CO<sub>2</sub>, кисню, вологи, світла. Також порошки піддаються стороннім запахам, адсорбуючи пари летких речовин.

Авторами [39] запропоновано суміш, до складу якої входять лакто- та біфідобактерії з титром 10<sup>7</sup>–10<sup>10</sup> КУО/г. Для прискорення процесів активації бактерій у ШКТ до складу суміші введено сухий яєчний білок та вуглеводна частина глюкозної патоки (олігостимулін) з сухою молочною сироваткою. Для покращення органолептичних властивостей суміш збагачено сухими фруктовоягідними соками, аскорбіновою кислотою, сахарозою, соєвим молоком. Одержана суміш стала основою продукту «Наріне», що має лікувальний ефект, тому не використовується для виготовлення харчових продуктів широкого вжитку.

Пігулки – тверда дозована лікарська форма, яку одержують шляхом пресування фармацевтичних речовин разом із допоміжними компонентами. Існує два типи пігулок: пресовані та тритураційні (із формованням у 1...2%-му розчині нітрогліцерину). Недоліки пігулок полягають у тому, що під час зберігання, вони піддаються цементації, або навпаки – руйнуванню. Крім того, допоміжні складові, призначені для покращення пресування, можуть викликати побічні ефекти. Наприклад, тальк подразнює слизову ротової порожнини та ШКТ.

Гранули – тверда лікарська форма, одержана під час перетворення порошкоподібного матеріалу у частинки (зерна) певної величини. Гранули досить сипкі, що забезпечує рівномірну швидкість їх розчинення, але недоліком даної форми є неможливість досягнення абсолютної однорідності.

Розрізняють два види гранулювання: вологе та сухе. Пробиотики піддають сухому гранулюванню, яке полягає в ущільненні первинного порошкоподібного матеріалу із одержанням грануляту [40]. У праці [41] досить детально описані обидва методи одержання гранульованих продуктів.

Капсули – спеціальні оболонки. Згідно з існуючою термінологією, капсулюванням (від лат. *capsula* – коробочка, футляр) називають процес поміщення дрібних частинок речовин у тонку оболонку плівко утворювача, а речовину, що підлягає капсулюванню та утворює ядро капсули, називають умістом капсул або активною чи основною речовиною – інкапсулянт [42]. Така форма характеризується високою точністю дозування, надійним захистом внутрішнього умісту від дії світла, повітря та вологи, сторонніх запахів; не дозволяє смаковим рецепторам відчутти гіркий смак умісту і доставляє його до органів-мішеней. Сферична форма та невеликий розмір капсул сприяють їх легкому ковтанню. У ШКТ капсули швидко набрякають, легко всмоктуються та взагалі характеризуються високою біологічною активністю.

В основу капсулювання покладено процеси формування за певних умов на поверхні частинок речовин нової фази – оболонки, здебільшого з розчинів або розплавів полімерів (плівкоутворювачів), яка й виконує відокремлюючу функцію їх одна від одної та від зовнішнього середовища [43; 44].

На сьогоднішній день широке застосування у виробництві фармацевтичних препаратів та функціональних харчових продуктів знайшли желатинові капсули [45]. Ученими [46] розроблено спосіб виготовлення желатинових капсул, що містять біфідобактерії. Сутність такого винаходу полягає у попередньому вирощуванні біомаси бактерій, її концентрування з додаванням захисного середовища, подальшого висушування (ліофілізацією) та змішування з попередньо стерилізованим наповнювачем лактозою, який одночасно відіграє роль захисної речовини та субстрату для *B. bifidum*.

Проте желатин є досить гігроскопічним та має високу здатність до обсіменіння патогенною мікрофлорою. Перша проблема вирішується суворим дотриманням умов зберігання, а друга – додаванням консервантів, таких як ніпагін, ніпазол або сорбінова кислота [40; 47], поліетиленгліколь та гліцерин [48], що утримує використання таких оболонки у харчовій промисловості. Крім того желатинові плівки піддаються дії пепсину і поступово розчиняються у середовищі шлунка, що перешкоджає їх використанню у технологіях капсулювання біфідобактерій і вимагає від виробників зміцнення желатинових мас за рахунок введення спеціальних інгредієнтів із метою модифікації їх властивостей і забезпечення контрольованого вивільнення вмісту (біологічно-активної або лікарської речовини) в потрібній ділянці шлунково-кишкового тракту. Саме тому, не зважаючи на всі переваги використання желатину для формування оболонки капсул, інтенсивно розвиваються напрямки використання інших полімерів рослинного та тваринного походження: білків, декстринів, пектинів, камедей, крохмалів, восків, похідних целюлози тощо [49–51].

Сучасні фармацевтичні технології використовують оболонки, створені на основі розмаїття нешкідливих полімерів, але їх постійне вживання може негативно вплинути на органи та системи травлення. У харчовій промисловості вчені дослідили властивості полісахарів. Так, розробниками [52] описано спосіб одержання сухого препарату на основі біфідо- або лактобактерій, що включає нарощування біомаси з наповнювачем, у якості якого використано гуміарабік та олігосахариди (у деяких варіантах гідрооксипатит або лактозу). Створену суспензію піддано розпилювальному сушінню з утворенням мікрокапсул. Додатково створену систему поміщали у желатинові капсули. На жаль, створені системи не мають клінічних досліджень.

Аналіз літературних джерел свідчить, що численні розробки в області капсулювання біологічно-активних [53] та лікарських речовин стосуються використання полісахариду морських водоростей – альгінату натрію, як гелеподібної матриці для включення цих речовин або, як модифікуючої добавки, сумісно з іншими полімерами [54–60]. Це зумовлено здатністю солей альгінової кислоти до біодеградації, відсутністю токсичності, стабільністю у фізіологічних умовах ротової порожнини та здатністю до формування їстівних плівок [61; 47]. Відомо, що солі альгінової кислоти виявляють імуностимулюючу, протиалергенну та протизапальну дію, зв'язувати в шлунково-кишковому тракті людини екзогенні та ендогенні сполуки, зокрема солі важких металів та радіонукліди, виступати засобами детоксикації організму людини та надавати харчовим продуктам з їх умістом лікувально-профілактичних властивостей [56; 57; 62].

Вивчення впливу різноманітних чинників на масоперенос речовин у системі гелю «AlgNa-Ca<sup>2+</sup>» надасть можливість створення систем із різною проникністю для високо- та низькомолекулярних речовин, які розрізняються за швидкістю вивільнення активних речовин. Дослідження, проведені у цьому напрямку, підтверджують пролонговану дію створених препаратів або продуктів на організм людини. Особливості хімічної будови солей альгінової кислоти забезпечують стабільність капсульних продуктів на їх основі під впливом шлункового соку та програмоване виділення вмісту капсул внаслідок біодеградації в кишечнику.

Капсульні сферичні оболонки стали основою нової транзитної форми лікарських сполук – мікрокапсул. Мікрокапсулювання – процес уміщення в оболонку мікроскопічних частинок твердих, рідких чи газоподібних лікарських сполук. Розміри мікрокапсул знаходяться в межах від 100 до 500 мкм [50; 51; 57].

Авторами [61] розроблено спосіб одержання мікрокапсул рідкофазних матеріалів із обмеженою у воді розчинністю шляхом модифікації желатину в розчині. Але перетравлюваність модифікуючого агента не досліджувалась. У праці [58] дослідниками зроблено спробу ввести мікроорганізми у молоко і піддати такі композиції мікрокапсулюванню. Але це відноситься до фармацевтичних розробок.

Капсулювання та мікрокапсулювання – порівняно молоді напрями у технології, які сьогодні зайняли помітне місце у багатьох галузях народного господарства, забезпечуючи досягнення якісно нових ефектів [49–51; 54–58; 61]. Іноді вчені проводять паралель між процесами капсулювання та мікрокапсулювання, але ці процеси збігаються тільки в плані поняття «оболонка». За властивостями більших можливостей мають капсули, оскільки речовини-біоактиватори можуть знаходитись у комплексі із допоміжними речовинами.

Сучасні методи забезпечують можливість капсулювання як гідрофільних, так і гідрофобних матеріалів, та дозволяють одержувати продукти з різними розмірними характеристиками (нанокапсули – менше 1 мкм, мікрокапсули – 1...500 мкм, капсули – до 6,5 мм); різним співвідношенням оболонки до внутрішнього вмісту (від 5:95 до 50:50); різними характеристиками оболонки (товщиною, структурою, проникністю, міцністю, еластичністю, стабільністю до дії води, температури, тиску тощо); різним агрегатним станом основної речовини (рідким, твердим чи газоподібним).

Вивільнення внутрішнього вмісту капсул відбувається в результаті руйнування оболонки після роздавлювання, розчинення, плавлення, нагрівання, спалювання або за рахунок поступового виділення речовин у середовище шляхом дифузії через проникнену оболонку капсули зі швидкістю, що залежить від її товщини та пористості.

У більшості випадків плівкоутворюючий матеріал являє собою рідиноподібну фазу (розплав або розчин), у такому стані він може з легкістю розподілятися по поверхні речовини, що підлягає капсулюванню, та вкрити її суцільною плівкою, яку подальшими способами переводять у твердий стан. В якості матеріалів для оболонок, що забезпечують герметичність капсул, використовують велику кількість натуральних і синтетичних полімерів.

Але спектр плівкоутворювачів, придатних до використання у складі харчових продуктів та медичних препаратів, обмежується вимогами щодо їх токсичності для організму людини. Вибір матеріалу оболонки залежить від призначення, властивостей та способу вивільнення основної речовини, а також від обраного методу капсулювання [42; 43].

Таким чином, на сьогоднішній день капсульні продукти є перспективними засобами цілеспрямованої доставки нутрієнтів у визначені ділянки ШКТ із максимальним забезпеченням біодоступності, аутентичності та біологічної цінності харчових продуктів.

## **2.2. Аналіз складу поживних середовищ та умов культивування в них мікроорганізмів**

Для процесів зростання і розмноження мікроорганізми повинні отримувати всі речовини, які необхідні для біосинтезу клітинних компонентів і здобуття енергії. Ці речовини, так звані поживні, повинні міститися в культуральному (поживному) середовищі, при цьому в кількостях, відповідних специфічним потребам даного мікроорганізму.

Поживні середовища мають виняткове значення в мікробіології. Правильний підбір складу середовища забезпечує можливість виділення мікроорганізмів, здобуття чистих культур, вивчення їх морфологічних і фізіологічних особливостей, ідентифікації, сприяє швидкій і правильній діагностиці інфекційних захворювань і багато іншого [63].

За складом поживні середовища для культивування мікроорганізмів діляться на дві групи – натуральні та синтетичні. Для практичних досліджень широко використовують натуральні (природні) середовища, які складаються з продуктів тваринного або рослинного походження і мають невизначений хімічний склад. До таких середовищ відносяться овочеві або фруктові соки, тваринні тканини, кров, молоко, яйця, жовч, сироватка крові, а також відвари і екстракти, отримані з різних природних субстратів – м'яса, різних частин рослин, ґрунту. На натуральних середовищах добре розвиваються багато мікроорганізмів, оскільки в таких середовищах є, як правило, всі компоненти, необхідні для їх зростання і розвитку [63–65].

Проте ці середовища мають складний непостійний хімічний склад і мало придатні для вивчення фізіології, обміну речовин мікроорганізмів, оскільки в значній мірі не дозволяють врахувати вжиток компонентів середовища і утворення продуктів обміну в ході розвитку. Натуральні середовища використовуються, головним чином, для підтримки культур мікроорганізмів, накопичення їх біомаси і діагностичних цілей. Прикладами натуральних середовищ невизначеного складу, які широко застосовуються в лабораторній практиці, служать пептонний для м'яса бульйон і пептонний для м'яса агар, картопляні середовища і багато ін. [58; 63].

До натуральних середовищ невизначеного складу відносять і так звані напівсинтетичні середовища, до складу яких, разом із з'єднаннями відомої

хімічної природи, входять речовини невизначеного складу. До напівсинтетичних середовищ відносяться, наприклад, пептонний для м'яса бульйон з глюкозою, середовище Ендо, середовище Сабуро і тому подібне.

До напівсинтетичних середовищ слід відносити також середовища, які містять сполуки відомого складу, – вуглеводи, нітрати, фосфати та інші і, в незначних кількостях, сполуки невизначеного складу – гідролізат казеїну, дріжджовий автолізат, кукурудзяний екстракт, що додаються як чинники зростання.

Поживні середовища є синтетичними, якщо містять лише хімічно чисті сполуки в точно вказаних концентраціях, тобто склад їх повністю відомий. Перевагами таких середовищ є стандартність і відтворюваність з високою мірою точності. Ці середовища найбільш зручні для дослідження обміну речовин мікроорганізмів [63].

Для розробки синтетичних середовищ необхідно знати потреби мікроорганізмів в джерелах харчування і основні особливості їх обміну речовин. Існує велика кількість синтетичних середовищ, що не поступаються своєю якістю натуральним середовищам невизначеного складу. Проте для небагатьох видів патогенних бактерій використовують лише синтетичні середовища. Їх застосовують, головним чином, для експериментального вивчення метаболізму мікроорганізмів, рідше для аналітичних цілей, діагностики і зберігання культур.

За призначенням розрізняють поживні середовища загального призначення (універсальні) і спеціальні поживні середовища [63].

Поживні середовища загального призначення придатні для вирощування багатьох видів мікроорганізмів і можуть застосовуватися як основа для приготування спеціальних поживних середовищ. До них відносяться, наприклад, пептонний для м'яса бульйон, пептонний для м'яса агар, бульйон Хоттінгера, агар Хоттінгера, сусло рідке, сусло-агар тощо [63].

Спеціальні поживні середовища призначені для вибіркового культивування певних видів мікроорганізмів, вивчення їх властивостей і зберігання. Розрізняють наступні види спеціальних середовищ: елективні (вибіркові), диференціально-діагностичні (індикаторні), консервуючі [63].

Елективні середовища застосовуються, головним чином, для виділення мікроорганізмів з місць їх природного проживання або для здобуття накопичувальних культур. Ці середовища забезпечують переважний розвиток одного виду або групи мікроорганізмів.

Вибірковість поживного середовища для певних видів мікроорганізмів досягається шляхом створення оптимальних для них умов (рН, Eh, концентрація солей, склад поживних речовин), тобто позитивною селекцією або шляхом додавання в середовище речовин, пригноблюючих інші мікроорганізми (жовч, азид натрію, телурит калія, антибіотики та ін.), тобто негативною селекцією. Супутні мікроорганізми або зовсім не зростають на таких середовищах, або розвиток їх в значній мірі затримується [63, 65].

Диференціально-діагностичні середовища застосовують для вивчення біохімічних властивостей і диференціювання одного вигляду (роду) мікроорганізмів від іншого по характеру їх ферментативній активності.

Склад цих середовищ підбирають з таким розрахунком, аби чітко виявити найбільш характерні властивості певного виду. Диференційні властивості поживного середовища створюються внесенням субстрата, до якого визначається відношення мікроорганізму (наприклад, цукрів, амінокислот та ін.), відповідних індикаторів (наприклад, рН-індикаторів бромтимолблау, фуксин та ін.; Eh-індикаторів) [63].

Консервуючі (транспортні) середовища використовуються широко в клінічній практиці для збереження життєздатності мікроорганізмів в період від моменту узяття біоматеріалу до посіву. Основна мета їх використання – зберегти життєздатність збудника і запобігти розмноженню супутньої мікрофлори в період транспортування зразків.

По консистенції поживні середовища бувають рідкі, напіврідкі, щільні, сипкі і сухі [63].

Рідкі середовища частіше застосовують для вивчення фізіолого-біохімічних особливостей мікроорганізмів, для накопичення біомаси або продуктів обміну, а також підтримки і зберігання багатьох мікроорганізмів, що погано розвиваються на щільних середовищах.

Напіврідкі середовища зазвичай використовують для зберігання культур, рідше – для накопичення біомаси (наприклад, анаеробів).

Щільні середовища використовують для виділення чистих культур мікроорганізмів, вивчення морфології колоній, діагностичних цілей, для зберігання культур, кількісного обліку мікроорганізмів, визначення їх антагоністичних властивостей і у ряді інших випадків.

Сипкі середовища зазвичай використовують для зберігання посівного матеріалу, культур-продуцентів в мікробіологічній і медичній промисловості. До них відносяться, наприклад, розварене пшоно, висівки, кварцевий пісок, просочені поживним розчином.

Сухі поживні середовища є порошками або гранулами з вологістю, що не перевищує 10% і легко розчинні у воді. Вони випускаються згідно відповідних технологій на виробництвах в різних масштабах, зручні для зберігання, транспортування і приготування готових до вживання середовищ.

Найважливішою властивістю всіх поживних середовищ, що впливає на процеси життєдіяльності мікроорганізмів, є їх кислотність (лужність), що виражається як негативний логарифм концентрації водневих іонів – рН.

Значення рН робить вплив на процеси дисоціації кислот і підстав в середовищі, розчинність поживних речовин, транспорт їх в клітину, на активність ферментів і багато що інше, визначаючи тим самим можливість зростання мікроорганізмів навіть на оптимальному за складом середовищі.

Для переважної більшості мікроорганізмів, у тому числі і патогенних, сприятливою для зростання і розмноження є нейтральна реакція середовища (рН  $7,0 \pm 0,5$ ), хоча ці процеси з тією або іншою інтенсивністю можуть проходити і в ширшому діапазоні значень цього показника [63].

Деякі представники з сапрофітних бактерій добре зростають при рН 8,2–8,5, інші – при рН 4,0–5,0.

Міцеліальні гриби і дріжджі є ацидофільними організмами і віддають перевагу слабокислим значенням рН 4,0–6,0.

Рівень рН необхідно контролювати не лише після приготування середовища і після стерилізації, але і безпосередньо перед використанням, оскільки рН середовища може змінитися в процесі її зберігання [65].

До потрібного значення цей чинник доводять з використанням розчинів кислот ( $\text{HCl}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), лугів ( $\text{NaOH}$ ,  $\text{KOH}$ ) або солей, що мають лужну реакцію ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ).

Враховуючи, що в процесі зростання мікроорганізмів в середовище можуть виділятися метаболіти (кислі або лужні), змінюючі рН, до складу середовищ часто додають буферні суміші, переважно фосфатні буфери, що обдають максимальною буферною ємністю у фізіологічно важливому діапазоні рН (біля нейтрального значення). Буферними властивостями володіють і деякі органічні речовини – амінокислоти, поліпептиди, білки, оскільки є амфотерними сполуками і здатні реагувати як з кислотами, так і з лугами, нейтралізуючи їх.

Значущість рН для життєдіяльності мікроорганізмів визначається і його впливом на рівень іншого найважливішого показника поживного середовища – окислювально-відновного потенціалу [63].

Окислювально-відновний потенціал (ОВП) – показник міри окисленості або відновності середовища встановлюється завдяки наявності в ній окислювачів, відновників і дії вільного кисню.

Цей показник лежить в основі розділення мікроорганізмів на дві великі групи – аеробів і анаеробів.

В даний час не викликає сумнівів той факт, що залежність процесів зростання мікроорганізмів від наявності вільного кисню визначається не стільки прямою його дією на мікробні клітки, скільки непрямою, а саме підвищенням міри окислення середовища (рівня ОВП) [63].

Процеси зростання і розмноження мікроорганізмів засновані на сукупності послідовно протікаючих ферментативних реакцій, для кожної з яких необхідний свій рівень ОВП. Цим визначається значна важливість цього чинника в мікробіології.

Для кожного мікроорганізму необхідна своя зона ОВП, в якій можливе його зростання, подібно до того, як є своя оптимальна зона і рН.

Величину ОВП визначають, головним чином, електрометрія, виражають у вольтах (В) або милливольтгах (мВ) і позначають символом  $E_h$ .

При визначенні ОВП необхідно враховувати, що він залежить і від рН середовища – в кислому середовищі ОВП вище, ніж в середовищах при нейтральному і лужному значенні рН. З цього виходить, що окислювально-відновний стан середовищ можна характеризувати лише за двома показниками –  $E_h$  і рН, які слід визначати одночасно.

У зв'язку з цим, при визначенні ОВП інколи використовують інший символ –  $r\text{H}_2$ , об'єднуючий величини  $E_h$  і рН. Цей символ зручний в роботі, проте використання його привносить деяку неточність в результати виміру.

Від рівня ОВП середовища залежить накопичення біомаси як аеробів, так і анаеробів, проте в аеробів ця залежність менш помітна, оскільки на поживно-

му середовищі, не ізольованому від повітря (у судинах, пробірках з ватяно-марлевими пробками, в чашках Петрі), рівень цього чинника відповідає рівню, необхідному для їх зростання.

Гальмування росту може спостерігатися лише за надлишкової аерації, а отже, і при дуже високому ОВП. Вірогідність такого інгібування особливо велика при підвищеній інтенсивності аерування сольових поживних середовищ, що мають малу буферну ємкість.

Облігатні анаероби проявляють підвищену чутливість до цієї умови в середовищі і припиняють розмножуватися при Eh вище 0,1В. Створення або підтримка Eh середовища на заданому рівні є складнішим завданням, ніж регуляція рН.

У разі, коли треба підвищити Eh, в середовище додають один з перелічених нижче окислювачів:  $K_3Fe(CN)_6$ ,  $K_2Cr_2O_7$ ,  $KMnO_4$ ,  $H_2O_2$  тощо – або різними способами збільшують доступ кисню повітря, враховуючи особливості способу культивування [63].

Для зниження Eh поживного середовища використовують багато прийомів:

- загушують для ускладнення процесу дифузії кисню повітря;
- витісняють повітря кип'ятінням або інертними газами – аргоном, азотом, гелієм;

- додають до середовища редуруючі речовини: органічні (цистеїн, аскорбінова кислота, тіогліколят натрію, L-тирозин, глютатіон, подрібнене м'ясо); неорганічні (гідросульфід натрію ( $Na_2S_2O_4$ ), гексацианоферрат калія  $K_4[Fe(CN)_6]$ , різні сульфіди) відновники [63].

Залежно від міри чутливості анаеробної культури до кисню використовують той або інший прийом, або декілька одночасно.

При виборі окислювачів або відновників для регуляції Eh середовища слід враховувати їх можливу дію, як компонента середовища, на властивості конкретної культури мікроорганізму. При цьому дуже важливим залишається контроль за рН, який впливає безпосередньо на активність мікроорганізмів і на рівень окислювально-відновного потенціалу в середовищі.

Підтримувати певний рівень рН особливо необхідно при культивуванні патогенних мікроорганізмів, які володіють максимально вираженою пристосувальницькою функцією до існування в організмі людини у досить вузькому діапазоні цього показника.

Більшість мікроорганізмів, у тому числі і патогенних, особливо активно зростають при нейтральному і слаболужному значенні рН [64; 66; 67].

Рівень рН та ОВП поживного середовища вимірюється потенціометрично, агаризовані середовища заздалегідь розплавляють і охолоджують до 40–45°C.

З вищенаведеного стає очевидним, що, користуючись описаними прийомами та, здійснюючи контроль за рН та Eh середовища, можна створити, врешті, такі умови, які дозволять підтримувати рівень життєвої активності облігатних анаеробів (біфідобактерій) поза умов організму людини з керованим терміном та рівнем їх метаболізму у розроблених середовищах.

Такий крок є необхідним для формування високого рівня кліткових



популяції саме біфідобактерій, оскільки вплив їх діяльності є важливим для організму будь-якої людини. У табл. 2.1 наведено інформацію про можливість ферментації вуглеводів (за переліком) деяких видів біфідобактерій, що заселяють кишечник людини.

Таблиця 2.1 – Характеристика отриманих штамів біфідобактерій

Найменування показника	Вид біфідобактерій				
	B. bifidum n=77	B. longum n=32	B. infantis n=19	B. breve n=18	B. adolescentis n=23
Врожайність клітин в молоці, $10^8$ КОЕ/см <sup>3</sup>	2,9...7,5	12...19	2,6...6,7	8,6...11,2	5,1...7,8
Вуглеводи, що ферментуються					
Інулін	–	–	–	±	±
Арабіноза	–	+	–	–	+
Целобіоза	–	–	–	±	+
Фруктоза	+	+	+	+	+
Галактоза	–	+	+	+	+
Глюкоза	+	+	+	+	+
Глюконат	–	–	–	–	+
Лактоза	+	+	+	+	+
Мальтоза	–	+	+	+	+
Манит	–	–	–	±	±
Маноза	–	±	±	+	±
Меліцитоза	–	+	–	±	+
Мелібіоза	±	+	+	+	+
Рафіноза	–	+	+	+	+
Рамноза	–	+	–	–	–
Рибоза	–	+	+	+	+
Саліцин	–	–	–	+	+
Сорбіт	–	–	–	±	±
Сахароза	–	+	+	+	+
Трегалоза	–	–	–	±	±
Ксилоза	–	±	±	–	+
Крохмаль	–	–	–	–	+

Одними з продуктів ферментолізу вуглеводів є ацетатна та молочна кислоти. Окремі штами здатні накопичувати ще й мурашину та янтарну кислоти. В результаті зниження рН середовища кишечника покращується асиміляція заліза, кальцію, вітаміну D, гальмуються гнилісні процеси, інактивуються небезпечні ферменти, попереджається асиміляція аміаку та інших токсичних метаболітів. Органічні кислоти, утворені біфідофлорою, являються постачальниками енергії та покращують трофіку епітеліоцитів [68].

Біфідобактерії не продукують каталазу, вуглекислий газ, сірководень, не відновлюють нітрати в нітрит, не розріджують желатин [69].

Відома здатність біфідобактерій синтезувати окремі амінокислоти, полісахариди, вітаміни В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, D, рибофлавін, тіамін, піридоксин, пантотенову і фолієву кислоти та інші біологічно активні метаболіти, які складають другу групу продуктів життєдіяльності мікроорганізмів. Проте слід враховувати, що ці властивості мають не лише міжвидові, але і внутривидові відмінності.

Штами з високою біосинтетичною активністю зустрічаються достатньо рідко. Більшість біфідобактерій самі потребують різних вітамінів, амінокислот та інших чинників зростання [70]. Зниження концентрації біфідобактерій нижче за фізіологічну норму є одним з патогенетичних чинників дисфункції органів травної системи і порушень нормальної діяльності багатьох інших органів і систем.

Отже, встановлення багатогранних, позитивних дій біфідобактерій на здоров'я людини сприяло широкому вживанню цих мікроорганізмів у складі пробіотиків. На основі живої біфідофлори створено широкий асортимент препаратів, пропорованих для корекції дисбіотичних порушень, лікування гострих і хронічних кишкових інфекцій, алергій, імунодефіцитів та інших патологічних станів.

На жаль, асортимент харчових продуктів із вмістом таких пробіотичних культур та їх консорціумів досить обмежений, тому що існує багато перешкод їх існуванню в організмі. Так, накопиченню біомаси у системі перешкоджає низький рівень рН, присутність кисню, осмотичний тиск, недостатній рівень або відсутність олігосахаридів. У разі розробки таких середовищ, які б враховували означені критерії для підтримки активного метаболізму біфідобактерій, можна було б отримувати терапевтичний ефект і від споживання звичайних харчових продуктів, збагачених на дану групу мікроорганізмів.

Найбільш оптимальним є внесення біфідобактерій в капсули, оскільки вони є суворими анаеробами і присутність кисню є однією з причин низького накопичення біомаси бактерій.

Капсульна оболонка є непроникненою для кисня повітря, що надасть можливості високого рівня життєздатності біфідобактеріям. Але для процесів зростання і розмноження, бактерії повинні отримувати всі речовини, які необхідні для біосинтезу клітинних компонентів і здобуття енергії. Вони повинні міститися в культуральному (поживному) середовищі, при цьому в тих кількостях, що відповідають специфічним потребам біфідобактерій [54].

У харчовій промисловості дослідження тільки-но набирають оберти [5]. Наразі вивчено та підтверджено високий рівень життєздатності біфідобактерій у природних рідких поживних середовищах, за які були обрані молоко та сироватка молочна (відновлені з сухих).

Все це стало основою створення продуктів нового покоління, корисна дія яких безперечна та здатна розповсюдитись на багато груп товарів масового споживання (майонези, соуси, пасти, солодкі сиркові маси, джеми тощо).

### 2.3. Технологічні та економічні аспекти виробництва та споживання капсульних форм пробіотичних мікроорганізмів

Капсулювання або мікрокапсулювання – порівняно молодий напрямок хімічної технології, який сьогодні зайняв помітне місце у багатьох галузях народного господарства, забезпечуючи досягнення якісно нових ефектів. Загальним для цього напрямку є те, що одержувані продукти представляють собою окремі часточки речовин з новими властивостями, в основному, кулеподібної форми, отримання яких можливе завдяки використанню плівкоутворюючих матеріалів [50; 51].

Капсулюванню різноманітних матеріалів та речовин щорічно присвячується значна кількість наукових публікацій, що висвітлюють особливості виготовлення та застосування капсульних продуктів у фармацевтичній, харчовій, хімічній, фотографічній, текстильній, нафтопереробній промисловості, а також у сільському господарстві, біотехнології та медицині [49–51; 54–56; 71].

Згідно існуючої термінології, капсулюванням (від лат. *capsula* – коробочка, футляр) називають процес заключення дрібних частинок речовин в тонку оболонку плівкоутворювача, а речовину, що підлягає капсулюванню та утворює ядро капсули, називають «умістом капсул» або «активною чи основною речовиною» чи «інкапсулянт» [42]. В основі процесів капсулювання лежать процеси формування за певних умов на поверхні частинок речовин нової фази – оболонки, здебільшого з розчинів або розплавів полімерів (плівкоутворювачів), яка й виконує функцію їх роз'єднання одна від одної та від зовнішнього середовища [43; 44].

Сучасні методи капсулювання забезпечують можливість капсулювання як гідрофільних, так і гідрофобних матеріалів та дозволяють отримувати капсульні продукти з різними розмірними характеристиками (нанокапсули – менше 1 мкм, мікрокапсули – 1–500 мкм, капсули – до 6,5 мм); різним співвідношенням оболонки до внутрішнього умісту (від 5:95 до 50:50); різними характеристиками оболонки (товщиною, структурою, проникністю, міцністю, еластичністю, стабільністю до дії води, температури, тиску тощо); різним агрегатним станом основної речовини (рідким, твердим чи газоподібним).

Вивільнення внутрішнього умісту капсул відбувається в результаті руйнування оболонки внаслідок роздавлювання, розчинення, плавлення, нагрівання, спалювання або за рахунок поступового виділення речовин у середовище шляхом дифузії через проникну оболонку капсули зі швидкістю, що залежить від її товщини та пористості.

Аналіз літературних джерел свідчить, що численні розробки в області капсулювання біологічно-активних та лікарських речовин стосуються використання полісахариду морських водоростей – альгінату натрію як гелеподібної матриці для включення цих речовин або як модифікуючої добавки сумісно з іншими полімерами [42; 59–60]. Це зумовлено здатністю солей альгінової кислоти до біодеградації, відсутністю токсичності, стабільністю у фізіологічних умовах ротової порожнини та здатністю формувати їстівні плівки.

У більшості випадків плівкоутворюючий матеріал являє собою рідиноподібну фазу (розплав або розчин), в такому стані він може з легкістю розподілитися по поверхні речовини, що підлягає капсулюванню, та вкрити її суцільною плівкою, яку потім різними способами переводять у твердий стан. В якості матеріалів для оболонок, що забезпечують герметичність капсул, використовують велику кількість натуральних і синтетичних полімерів. Але спектр плівкоутворювачів, придатних до використання у складі харчових продуктів та медичних препаратів, обмежується вимогами щодо їх токсичності для організму людини. Вибір матеріалу оболонок залежить від призначення, властивостей та способу вивільнення основної речовини, а також від обраного методу капсулювання [42; 43].

Практично всі методи капсулювання об'єднує загальна ознака – застосування розчинів плівкоутворювачів, які термодинамічно несумісні з речовинами, що підлягають капсулюванню. Звичайно, для капсулювання неполярних гідрофобних рідин та нерозчинних у воді речовин використовують водні розчини полімерів, а для капсулювання полярних гідрофільних речовин середовищем для проведення процесу слугують неполярні органічні рідини. Зазначений принцип є основою здійснення процесів капсулювання та базується на поверхневих явищах, які виникають на межі поділу фаз рідин, що не змішуються.

Оскільки капсулюванню підлягають речовини з різними фізико-хімічними властивостями, на практиці застосовується значна кількість методів здійснення процесу та їх комбінацій, які умовно поділяють на фізичні (напилювання в псевдозрідженому шарі, розпилювання, екструзія, конденсація парів), хімічні (утворення нової фази шляхом зшивання полімерів, поліконденсації та полімеризації) та фізико-хімічні (коацервація, осадження введенням нерозчинника, утворення нової фази при зміні температури, випаровування леткого розчинника, затвердіння диспергованих розплавів, екстракційне заміщення).

Одними з найперших розроблених та детально вивчених методів капсулювання були методи з використанням в якості плівкоутворюючого матеріалу желатину, який при охолодженні утворює гелі зі зв'язуванням значної кількості вологи та здатен формувати на поверхні капсул твердоподібні оболонки. Умовою ефективного відкладання полімеру (желатину) на поверхні краплин іншої рідини є обмежене змочування капсулюємої речовини плівкоутворюючим матеріалом. За забезпечення цієї умови (при використанні рідин, що не змішуються, наприклад, водного розчину желатину та олії) під час капсулювання відбувається формування краплин, які внаслідок дії поверхневих сил набувають кулеподібної форми (термодинамічно найбільш вигідної), поверхня яких обволікається плівкоутворюючим матеріалом, несумісним зі складовими інкапсулянту. З фізико-хімічної точки зору саме обмежена здатність до змішування реагуючих речовин забезпечує утворення чіткої границі поділу фаз, що заважає розтіканню плівкоутворюючого матеріалу по поверхні краплин.

Затвердіння оболонок желатинових капсул на практиці найчастіше здійснюють шляхом їх охолодження у розчинах неполярних речовин (олії) також з метою запобігання розчинення оболонки капсул. Механізм фазових перетворень розчину желатину полягає у зміні конформації макромолекул полімеру при охолодженні та утворенні просторової сітки гелю, що стабілізу-

ється водневими зв'язками, гідрофобними та іншими силами міжмолекулярної взаємодії. Внаслідок переходу системи з рідиноподібного у твердоподібний стан відбувається утворення гелеподібної оболонки капсул та фіксується їх кулеподібна форма.

На сьогоднішній день желатинові капсули знайшли дуже широке застосування при виробництві фармацевтичних препаратів та у технології функціональних харчових продуктів. Розробка технологічних прийомів введення спеціальних інгредієнтів до складу желатинових мас, в тому числі полісахариду морських водоростей – альгінату натрію, з метою модифікації їх властивостей дозволила вдосконалити процес виготовлення капсул, підвищити їх стабільність та забезпечити контрольоване вивільнення умісту (біологічно-активної або лікарської речовини) в потрібній ділянці шлунково-кишкового тракту. В желатинові оболонки для харчових та профілактичних цілей традиційно капсулюють олії, зокрема жир риб'ячий, ефірні масла та жиророзчинні вітаміни. Отже, спектр речовин, що можуть бути інкапсульовані в желатинові оболонки, обмежується їх полярністю, а самі капсули володіють високою лабільністю до дії температури. Треба відзначити, що до недоліків здійснення процесу, відноситься й необхідність відмивання капсул від олії, що часто використовується як формуюче середовище. Екстракція речовин до олії вимагає проведення операцій її очищення та регенерації з застосуванням органічних розчинників, що, в свою чергу, потребує спеціального устаткування для безпечного проведення процесу.

Тому не зважаючи на всі переваги використання желатину для формування оболонок капсул інтенсивно розвивається напрямок використання й інших полімерів рослинного та тваринного походження в технологіях отримання капсульних продуктів [49–51].

Проблемам застосування капсулювання в харчовій промисловості присвячено праці, в яких узагальнено методи отримання капсульних форм харчових інгредієнтів та систематизовано дані стосовно технологічних аспектів їх виготовлення й застосування у складі продуктів харчування. Відзначено, що як плівкоутворюючі матеріали під час капсулювання, доцільно використовувати такі речовини, як білки, декстрини, пектини, альгінати, камеді, крохмалі, віск та ліпіди, похідні целюлози тощо.

Аналіз патентної та науково-технічної літератури показав, що більшість розробок в цій галузі стосується капсулювання лабільних до впливу кисню повітря, зволоження або температури систем: олій, ароматизаторів, біологічно-активних речовин, вітамінів, ферментів, пігментів, барвників, емульгаторів, ефірних масел та ін.

Застосування капсулювання для іммобілізації ароматичних речовин має значні перспективи та дозволяє захистити леткі сполуки, що входять до їх складу, від випаровування, забезпечити стабільність ароматизаторів при зберіганні та точно встановити умови, за яких відбувається вивільнення ароматичних речовин. Зокрема, значний інтерес представляє створення капсульних ароматизаторів для використання у складі екструдованих харчових продуктів, які в процесі виробництва підлягають термічному та механічному

впливу, – сухих сумішах для супів та напоїв, швидкорозчинних каві, кондитерських виробках тощо.

Дослідженнями вчених [42] підтверджено ефективність використання капсулювання для захисту жирів риб, в тому числі й акул, та рослинних олій, що характеризуються високим ступенем ненасиченості, від окислення. В даних роботах було досліджено вплив різних факторів: концентрації речовин, виду матеріалу оболонки (модифікована целюлоза, декстрини, ізоляти білку сої, альгінат натрію), зволоження на здатність ліпідів до окислення та підтверджено високу стабільність інкапсульованих жирів та олій, що дозволяє збільшувати термін їх зберігання.

Таким чином, на сьогоднішній день капсульні продукти пропонуються як перспективні засоби цілеспрямованої доставки нутрієнтів у визначені ділянки кишково-шлункового тракту, забезпечуючи їх максимальну біодоступність, підвищуючи аутентичність та біологічну цінність харчових продуктів.

Аналіз літературних джерел свідчить, що численні розробки в області капсулювання біологічно активних та лікарських речовин стосуються використання полісахариду морських водоростей – альгінату натрію як гелеподібної матриці для включення цих речовин або як модифікуючої добавки сумісно з іншими полімерами [54–58]. Це зумовлено здатністю солей альгінової кислоти до біодеградації, відсутністю токсичності, стабільністю у фізіологічних умовах ротової порожнини та здатністю формувати їстівні плівки [47; 71].

Крім того, згідно існуючих даних, солі альгінової кислоти здатні виявляти імуностимулюючу, протиалергенну та протизапальну дію, зв'язувати в шлунково-кишковому тракті людини екзогенні та ендогенні з'єднання, зокрема солі важких металів та радіонукліди, виступати засобами детоксикації організму людини та надавати харчовим продуктам з їх використанням лікувально-профілактичних властивостей [56; 57; 62].

Дослідження впливу різноманітних факторів на масоперенос речовин в гелях альгінату кальцію свідчить про можливість створення на цій основі систем, які володіють різною проникністю для високо- та низькомолекулярних речовин та характеризуються різною швидкістю вивільнення активних речовин, що може бути використано для забезпечення їх пролонгованої дії на організм людини. Особливості хімічної будови солей альгінової кислоти забезпечують стабільність капсульних продуктів на їх основі під впливом шлункового соку та програмоване виділення умісту капсул внаслідок біодеградації в кишечнику [10].

Загальноприйнятим методом отримання альгінових капсул є екструзія розчину альгінату натрію з різноманітними наповнювачами у вигляді краплин розміром 0,1–3,0 мм до формуючого середовища – розчину хлориду кальцію. Цей метод отримав назву дифузійного зовнішнього гелеутворення. При цьому на початковому етапі в результаті іонотропного гелеутворення формуються міцні еластичні оболонки з альгінату кальцію на поверхні краплин, але внаслідок вирівнювання концентрацій іонів кальцію через певний час капсули перетворюються на суцільні гелеподібні гранули. Розмір гранул залежить від діаметру каплеутворюючих фільтрів екструзійного пристрою та в'язкості розчину [72; 73].

З врахуванням вищенаведеного використання альгінату натрію для отримання харчових капсульних продуктів є перспективним і актуальним у напрямку розробки технології капсулюваних напівфабрикатів з рідким внутрішнім умістом. Це дозволить не тільки розширити асортимент кулінарної продукції, а ще й дозволить отримати продукти з подовженим терміном зберігання, стане чинником маскуванню смаку та запаху, але ні у якому разі не знизить харчову та біологічну цінність продукту.

Розгляд фізико-хімічних основ структурування у системі «кальцій-натрій альгінат» та вивчення сучасних технологій дозволяє прогнозувати можливість використання технології капсулювання для створення продуктів нового покоління з пробіотичними властивостями.

З аналізу результатів експериментальних досліджень, що направлені на модернізацію існуючих технологій зі створення найкорисніших пробіотиків досить чітко визначається тенденція їх виготовлення разом із поживним середовищем, при чому у найкращій для засвоєння фази – рідкий. На основі розуміння механізму сумісної дії пробіотичних культур та пребіотиків на організм людини, запропоновано новий спосіб доставки біфідобактерій до відділів тонкого кишечника засобом розміщення їх у порожнині альгінатної капсули разом із рідким поживним середовищем, в якості якого було обрано молочну сироватку.

Молочна сироватка є побічним продуктом при виробництві незбираних сирів, сиру, казеїну і відноситься до вторинної молочної сировини. Залежно від вигляду продукту, що виробляється, отримують підсирну, сирну і казеїнову сироватку. В процесі виробництва сирів, сиру і казеїну в молочну сироватку переходять близько 50% сухих речовин молока.

Ступінь переходу основних компонентів молока в молочну сироватку визначається головним чином розміром їх часток (табл. 2.2). Склад і властивості молочної сироватки, обумовлені виглядом основного продукту, технологією його виготовлення і вживаними реагентами.

Таблиця 2.2 – Перехід складових молока у молочну сироватку

Компоненти молока	Розмір часток, нм	Ступінь переходу компонентів молока до сироватки, %	
		Межі коливань	Середнє значення
Молочний жир	2000...5000	6,3...12,4	7,7
Білки			
– казеїн	100...200	21,4...25,1	22,5
– альбумін	15...50	1,0...10,0	95,0
– глобулін	25...50	90,0...100,0	95,0
Лактоза	1,0...1,5	88,0...99,3	96,2
Мінеральні солі	0,2...2,0	61,8...68,5	81,1
Сухі речовини	-//-	49,2...50,7	49,9

З наведених у таблиці даних видно, що основний об'єм в сухих речовинах сироватки займає лактоза (близько 70,0%). Інших компонентів (нецукрів) припадає на частку 30,0%.

В цілому об'ємний розподіл основних компонентів молочної сироватки можна представити наступним рядом:

лактоза > білкові речовини > мінеральні речовини > жир

Біологічна цінність молочної сироватки обумовлена білковими азотистими сполуками, що містяться в ній, вуглеводами, ліпідами, мінеральними солями, вітамінами, органічними кислотами, ферментами, імунними тілами і мікроелементами. У сироватці виявлені практично всі 200 сполук, які встановлені до теперішнього часу в молоці. У молочної сироватці в середньому міститься 0,134 мг/100 мл азоту, з якого близько 65% є білковими азотистими сполуками, а решта – небілковими. Слід враховувати, що залежно від виду молочної сироватки, кількість складових її компонентів може коливатись (табл. 2.3).

Таблиця 2.3 – Склад різних видів молочної сироватки

Вид сироватки	Вміст, %							
	Сухі речовини		Лактоза		Білкові речовини		Мінеральні солі	
	межі коливань	середнє значення	межі коливань	середнє значення	межі коливань	середнє значення	межі коливань	середнє значення
Підсирна	4,5...7,2	6,5	3,9...4,9	4,5	0,5...1,1	0,7	0,3...0,8	0,5
Сирна	4,2...7,8	6,0	3,2...5,1	4,2	0,5...1,4	0,8	0,5...0,8	0,6
Казеїнова	4,5...7,5	6,8	3,5...5,2	4,5	0,5...1,5	1,0	0,3...0,9	0,7

Вміст сироваткових білків в молоці, а отже, і в сироватці, у середньому складає 0,74% (з деяким збільшенням восени в зменшенням весною).

Амінокислотний склад сироваткових білків найбільш близький до амінокислотного складу м'язової тканини людини, а за вмістом незамінних амінокислот і амінокислот з розгалуженим ланцюгом: валіну, лейцину і ізолейцину, вони перевершують всі останні білки тваринного і рослинного походження. Крім того, приблизно 14% білків молочної сироватки знаходиться у вигляді продуктів гідролізу (амінокислот, ди-, три- і поліпептидів), які є ініціаторами травлення і беруть участь в синтезі більшості життєво важливих ферментів і гормонів. Також білки молочної сироватки помітно знижують рівень холестерину в крові і володіють захисними функціями, зокрема, лактоферин зв'язує залізо.

Концентрація амінокислот і пептидів в крові активно зростає упродовж першої години після прийому їжі на основі білків молочної сироватки. При цьому не порушується кислотоутворююча функція шлунку, тобто виключається можливість розладів та утворення у ньому газів. Білки молочної сироватки (лактальбумін, лактоглобулін і імуноглобулін) мають найвищу швидкість розщеплювання серед цілісних білків. Засвоюваність білків молочної сироватки виключно висока, що підтверджують дані табл. 2.4.



Таблиця 2.4 – Амінокислий склад харчових білків (г/100г білка)

Амінокислота	Шкала ФАО/ ВООЗ	Білок яйця	Казеїн	Білок сироватки	Соевий білок	Білок рибу	Білок риби
Ізолейцин	4,0	5,5	6,1	6,2	4,9	4,4	4,5
Лейцин	7,0	9,9	9,2	12,3	8,2	8,6	8,6
Лізин	5,5	7,9	8,2	9,0	6,3	3,8	9,3
Метіонін+Цистін	3,5	6,5	3,14	5,7	2,6	3,8	5,1
Фенілалнін+ Тірозін	6,0	11,1	11,3	8,2	9,0	8,6	8,2
Треонін	4,0	5,8	4,9	5,2	3,8	3,5	4,5
Триптофан	1,0	1,7	1,7	2,2	1,3	1,4	1,1
Валін	5,0	7,7	7,2	5,7	5,0	6,1	5,0

Вуглеводи в молочній сироватці такі ж, як і в молоці – моноцукру, олигосахара і аміноцукри. Основний вуглевод – лактоза (90%). Крім того, в сироватку переходять всі вуглеводвмісні сполуки молока, не зв'язані з казенном і жиром.

З моноз в сироватці виявлені глюкоза і галактоза. У сирній сироватці міститься 0,7–1,6% глюкози, що обумовлене гідролізом лактози при виробництві сиру кисломолочного, а в підсирній сироватці – слюди.

З аміноцукрів в сироватці виявлена нейрамінова кислота та її похідні, у тому числі сиалова кислота, а також кетопентоза. У сироватці містяться серологічні активні олігосахариди, наближені до групових речовин (L), що містяться у крові. З інших вуглеводів в молочній сироватці виявлені арабіноза, лактулоза та амілоїд.

У молочній сироватці міститься від 0,05 до 0,45% жиру, що обумовлене його кількістю у вихідній сировині і технологією вироблення основного продукту [69]. У сепарованій сироватці кількість жиру становить 0,05–0,2%.

Жир в сироватці диспергує більше, ніж в молоці, що позитивно впливає на біохімічні процеси, які протікають в організмі людини і тварин.

Мінеральні речовини в сироватки знаходяться в різній формі – дійсного і молекулярного розчинів, колоїдному і нерозчинному стані, у вигляді солей органічних і неорганічних кислот. Так, на неорганічні солі містять 67,0% фосфору, 78,0% кальцію, 80,0% магнію.

Харчова та дієтична цінність білків молочної сироватки зумовлює доцільність їх виділення і збагачення ними харчових продуктів або використання нативної сироватки у складі багатьох харчових систем, що привносить до організації роботи маолокопереробних підприємств вагомі економічні переваги.

Білки молочної сироватки містять більше незамінних амінокислот, ніж основний білок цільного молока казеїн, тому за складом вони максимально наближені до складу жіночого молока. За цим білки сироватки дуже активно використовують у виробництві продуктів дитячого харчування.

Доцільно виробляти з сироватки згущені та сухі продукти (молочну згущену сироватку, молочну суху сироватку, демінералізовану суху сироватку).

Кислотність для згущеної сироватки ( $^{\circ}\text{T}$ ) має бути не нижче: для сироватки з масовою долею сухих речовин 50,0% – 170, а для сироватки з масовою долею 30,0% відповідно у підсирній – 80, а у сирній – 100 [63].

Консистенція сироватки молочної концентрованої без цукру – текуча рідина; з цукром – в'язка однорідна маса. В обох випадках при вмісті понад 30,0% сухих речовин допускається випадання в осад кристалів лактози.

Беззаперечно доведено, що технології, які використовують сироватку молочну достатньо економічні, при цьому отримані продукти мають велику біологічну, фізіологічну та харчову цінність. Тому зосередження уваги на капсулюванні сироватки молочної або розчинів на її основі, надає змогу зробити технології виготовлення капсульованих напівфабрикатів із пробіотичними властивостями ще вигіднішими [69; 70].

## РОЗДІЛ 3

# НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ СОЛОДКИХ СТРАВ З КАПСУЛЬОВАНИМИ ПРОБІОТИЧНИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ НА ОСНОВІ АНАЛІЗУ СИСТЕМИ «ХАРЧОВЕ ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ ІЗ БІФІДОБАКТЕРІЯМИ – АЛЬГІНАТНА КАПСУЛА»

### 3.1 Інноваційна стратегія створення продуктів, збагачених капсульованими біфідобактеріями

Відомо, що представники біфідофлори дуже чутливі до рівня кислотності оточуючого середовища. Соляна кислота та фермент пепсин перешкоджають проходженню біфідобактерій через систему ШКТ, де їх втрати становлять 75–95,0%. Таким чином, корисні пробіотичні культури просто не спроможні потрапити у необхідній кількості до місця їх існування – тонкого кишечника. Важливе значення при цьому мають адгезійна активність і широкий спектр антимікробної дії пробіотичних бактерій. Так, відносно біфідобактерій показана втрата здатності до адгезії і аутоагрегації, важливої для приживлення мікробних клітин на слизовій оболонці прохідних шляхів.

Проблема вирішення відновлення біотопів людського організму породжує проблему доставки чинників облігатної мікрофлори до відділів кишечника. Ефективність дії препарату-пробіотика чи продукту з пробіотичними властивостями базується на збереженні кількості бактерій за низьких рН, а також здатності до синтезу виробничими штамми антибіотикоподібних речовин, спроможних дифундувати крізь біологічну мембрану, що формується патогенними та умовнопатогенними бактеріями. Проаналізувавши існуючі форми транспортування пробіотиків, на сьогодні визначено, що навіть у фармацевтичній промисловості для транспортування анаеробів майже не існує форм, які безперешкодно долають шлунковий бар'єр та доставляють біфідобактерії у необхідній кількості до кишечника.

Наприклад, така форма доставки, як мікрокапсули, не достатньо ефективна, тому що у такому вигляді корисні бактерії знаходяться у ліофілізованому висушеному стані, що зменшує ступінь їх активації. Найбільш доцільними формами доставки визнані капсули – системи, що складаються з оболонки та порожнини і можуть виготовлятися різні за розмірами (від 0,5 до 10,0 мм).

Так, раніш було розроблено технологію оболонки на основі натрій альгінату – представника поліуронідів (гетерополісахаридів нерегулярної структури), який накопичується у багатьох крупних бурих морських водоростях і є природним пребіотиком. Отримані капсули мають пружну, м'яку, гелеподібну оболонку сферичної форми. Внутрішній уміст – інкапсулянт – серед складових містить вільні йони кальцію [59].

На початку технологічних випробувань було висунуто робочу гіпотезу, яка полягає в тому, що використання альгінату натрію, в якості основного компоненту оболонки капсули, та активних мікроорганізмів, як основної складової інкапсулянту, дозволить отримати принципово сучасний продукт пробіо-

тичної дії у легкопроникненій та легкоперетравлюваній формі, що являється новим в індустрії пробіотиків як харчових так і фармацевтичних.

Окреслена гіпотеза може бути трансформована в інноваційну стратегію розробки капсульованого продукту пробіотичної дії (табл. 3.1), а з точки зору досягнення мети, і в реалізацію складових інноваційної стратегії, головним чином, маркетингову, технологічну, технічну, організаційну.

*Таблиця 3.1 – Характеристика інноваційної стратегії розробки капсульованого продукту з пробіотичними мікроорганізмами*

Складова інноваційної стратегії	Інноваційні вимоги	Шляхи реалізації інновацій
Маркетингова	Задоволення потреб широкого кола споживачів з урахуванням їх психологічної, географічної, соціальної та інших характеристик; новітні харчові форми; широкий асортимент кулінарної та фармацевтичної продукції; інтеграція продукту та сервісу	Виробництво як готового продукту, так і у вигляді напівфабрикату високого ступеня готовності, які характеризуються високою харчовою та біологічною цінністю за рахунок використання синбіотиків (еубіотиків)
Технологічна	Високі споживчі властивості продукту; використання сировини з оптимальними функціонально-технологічними властивостями; раціональне використання продуктів переробки молока; безпечність продукції; тривалий термін зберігання	Одержання продукту у вигляді нових харчових форм (капсул) шляхом застосування іонотропного гелеутворення; забезпечення тривалого зберігання за визначених термінів та умов зберігання
Технічна	Стабільність технологічного процесу на основі застосування нового технологічне устаткування	Застосування сучасних способів капсулювання - екструзії
Організаційна	Виробництво – спеціалізовані підприємства харчопереробного комплексу та фармації; реалізація – заклади ресторанного господарства, місця продажу харчових продуктів, аптеки	Впровадження організаційно-технологічних принципів виробництва, відповідно до поставлених завдань; фасування, пакування, зберігання, транспортування

Визначення та реалізацію технологічних інновацій здійснювали на основі методів системного аналізу [74; 75], застосовуючи для дослідження систем різні види моделей та методи моделювання.

Реалізація концепції розробки нового продукту потребує одночасного дослідження оболонки капсули і складових інкапсулянту як окремої системи, так і підсистеми у складі готового кулінарного виробу. Це дозволить визначити технологію виробництва нової продукції та її рецептурний склад.

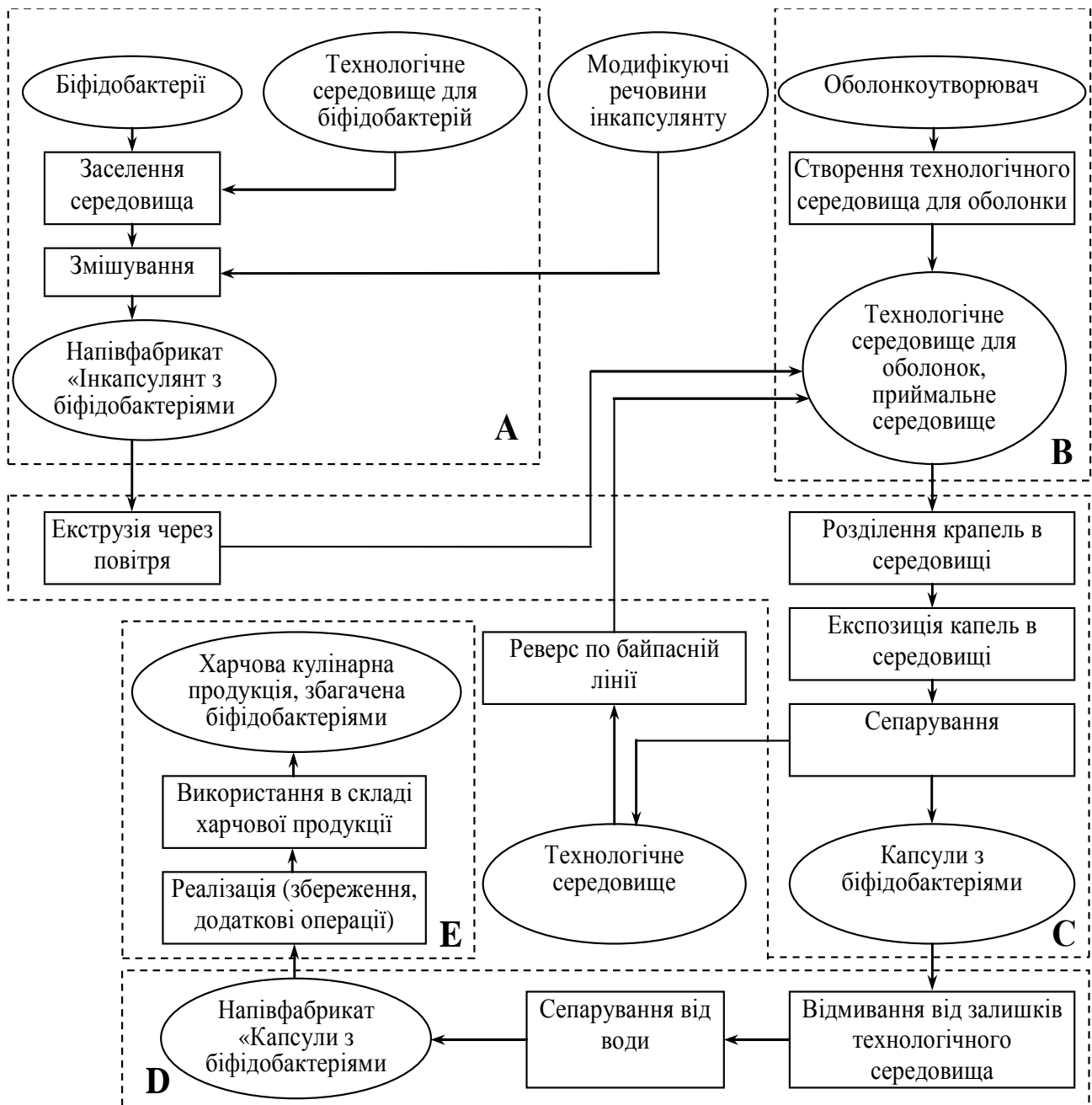
Стратегічним (за технологічною інновацією) є те, що оболонка нового продукту буде вироблятися з поліцукру, який видобувається з морських бурих водоростей, а основною складовою інкапсулянту є продукт переробки молока – сироватка, що безперечно, є економічно обґрунтованим.

Так, інноваційний задум продукту полягає у розробці харчового пробіотичного продукту у вигляді м'яких пружних капсул, розфасованих у скляну тару масою нетто 0,13 кг  $\pm$  2% з «twist-off» кришкою, або у «стіках» масою нетто 20 г з кількістю життєздатних мікроорганізмів  $10^7$  КУО/г та терміном зберігання 90 діб при  $t = 4-6^\circ\text{C}$ .

Модель технологічної схеми розробки технології харчової продукції, збагаченої біфідобактеріями, наведена на рис. 3.1.

Аналіз наведеної моделі свідчить про необхідність комплексного дослідження в процесі розробки нової технології, пов'язаної, насамперед, з вирішенням наступних питань:

- вибір бактеріальних культур;
- обґрунтування умов та концентрацій заселення;
- обґрунтування вибору технологічного середовища для бактерій;
- вивчення впливу модифікуючих добавок, які забезпечують фізичні та хімічні параметри капсулювання на технологічне середовище для бактерій, умови утворення колоній бактерій та їх життєздатність;
- визначення впливу інкапсулянту з біфідобактеріями на процес капсулоутворення;
- визначення впливу оболонок капсул на життєстійкість інкапсульованих бактерій;
- обґрунтування вибору харчової продукції для збагачення її капсулами з біфідобактеріями;
- визначення харчової цінності та технологічних властивостей нової продукції.



**Рисунок 3.1 – Модель технологічної схеми виробництва капсул з біфідобактеріями**

Запропонована модель дозволяє прогнозувати створення нового продукту у якості харчової добавки до основних раціонів їжі, а також у вигляді напівфабрикатів високого ступеня готовності.

В межах реалізації концепції важливим є дотримання вимог до створення сучасних харчових продуктів з врахуванням принципів раціонального харчування, як таких, що мають високу біологічну та харчову цінність. Крім того розробка повинна з органолептичної точки зору відповідати концепції нового продукту, з хімічної точки зору – перебіг технологічного процесу не повинен заважати структуруванню під час іонного обміну.

### 3.2. Теоретичне обґрунтування вибору складових капсульного продукту з пробіотичними культурами

З урахуванням проведених аналітичних досліджень та інноваційної стратегії, продукт капсульний з пробіотичними мікроорганізмами можна отримати шляхом екструзії інкапсулянта крізь повітря у формуючий розчин [59]. При цьому необхідно розглянути усі можливі варіанти основного складника суміші, призначеної для капсулювання. Важливим критерієм організації досліджень з його вибору є можливість активації і життєздатність біфідобактерій в обраному середовищі. Крім того слід враховувати його початкову собівартість і доступність у виготовленні та використанні.

Так, нами було розглянуто широкий спектр середовищ (табл. 3.2), які попередньо були розділені на дві групи: харчові та аналітичні.

Таблиця 3.2 – Характеристика існуючих середовищ для біфідобактерій

Середовище	Поживні речовини	Дія на біфідобактерії
1	2	3
<i>Харчові:</i>		
Вода	–	<i>Створення суспензії</i>
Розчин натрію хлориду – 0,85 % (фізіологічний розчин)	–	<i>Створення суспензії</i>
Молоко		
– незбиране	Білки, лактоза, мінеральні речовини, жир	<i>Активация, підтримка високої життєздатності</i>
– знежирене	Білки, лактоза, мінеральні речовини	
– відновлене	Білки, лактоза, мінеральні речовини, жир	
– відновлене знежирене	Білки, лактоза, мінеральні речовини	
Кефір без додавання немолочних компонентів	Білки, лактоза, мінеральні речовини	<i>Активация з подальшою інактивациєю, нетривала життєздатність</i>
Йогурт без додавання немолочних компонентів	Білки, лактоза, мінеральні речовини	<i>Активация з подальшою інактивациєю, нетривала життєздатність</i>
Сироватка		
– незбирана (казеїнова, сирна, підсирна солонна)	Білки, лактоза, мінеральні речовини	<i>Активация, не достатньо тривала підтримка оптимальної життєздатності</i>
– незбирана підсирна несолонна		<i>Активация, підтримка високої життєздатності</i>
– відновлена (казеїнова, сирна, підсирна солонна)	Білки, лактоза, мінеральні речовини	<i>Активация, не достатньо тривала підтримка оптимальної життєздатності</i>

1	2	3
– відновлена підсирна несолонна		<i>Активація, підтримка високої життєздатності</i>
<i>Аналітичні</i>		
Блаурокка	– пептон сухий ферментативний; – натрій хлористий; – агар мікробіологічний; – цистин, лактоза; – екстракт печінки яловичої.	<i>Активація, підтримка високої життєздатності</i>
ГМС-гідролізат-молочне середовище	– гідролізат обрату молока нерозведений; – хлористий натрій; – лактоза; – пептон; – агар-агар; – аскорбінова кислота.	
ГМК-1	– кукурудзяно-молочна суміш; – пептон; – лактоза; – аскорбінова кислота; – натрій лимоннокислий; – магній сірчаноокислий; – калій фосфорнокислий; – натрій фосфорнокислий – агар, дисцильована вода.	
<i>Біфідум-середовище</i>	– <i>панкреатичний гідролізат казеїну;</i> – <i>екстракт пекарських дріжджів;</i> – <i>натрій хлористий;</i> – <i>глюкоза, лактоза;</i> – <i>цистеїн гідрохлорид;</i> – <i>магній хлористий;</i> – <i>кислота аскорбінова;</i> – <i>натрій ацетат;</i> – <i>агар.</i>	<i>Активація, підтримка високої життєздатності</i>

Як видно, біфідобактерії розчиняються, але не активуються у воді та фізіологічному розчині. Протилежна тенденція у харчових середовищах спостерігається, якщо розглядати усі види молока та кисломолочних продуктів, однак у кефірі та йогурті високий рівень життєздатних бактерій утримується недовго, на це впливають низькі рівні рН (4,4–4,7). Проте в усіх аналітичних поживних середовищах наявність високого титру мікроорганізмів беззаперечна, оскільки представлений спектр сумішей, призначений саме для їх культивуван-



ня та кількісного визначення у продуктах. Однак слід відмітити, що для їх розповсюдження у харчовій промисловості існує декілька перешкод. По-перше, всі ці суміші – багатокомпонентні – містять печінковий екстракт, пептон, панкреатичний гідролізат казеїну, екстракт пекарських дріжджів, кукурудзяно-молочну суміш, які є дефіцитними і не стандартизуються. По-друге, технологія виготовлення таких середовищ складна і для виробництва промислових партій – нерентабельна. Крім того, ферментативні гідролізати ускладнюють та здорожують технологічний процес. По-третє, рН цих середовищ коливається в межах 7,5–8,6, а це є чинником руйнування альгінатної оболонки, що суперечить інноваційному задуму продукту.

Таким чином, найдоцільнішою з наведених поживних середовищ є сироватка молочна підсирна, складові якої швидко переводять біфідобактерії до репродуктивного стану і максимально довго підтримують їх життєдіяльність. Інші розглянуті види сироватки мають низький рівень рН (від 4,5 до 4,7), або великий вміст солі – 1,5% (підсирна солонка), що негативно впливає на накопичення біомаси і робить використання цієї сировини недоцільним. Незбирана підсирна несолонка сироватка також має вагомий недолік для промислового використання, оскільки зберігається тільки за умов охолодження ( $< 6^{\circ}\text{C}$ ) і достатньо нетривало.

Таким чином, використання у складі інкапсулянту сироватки підсирної відновленої (рН = 5,7–6,1), дозволить не тільки знизити собівартість продукції порівняно з аналогами на молоці, а також уникнути такого негативного цінового фактору, як сезонність. За рахунок цього запропонована технологія має конкурентні переваги перед технологіями на основі молока або інших молочних продуктів (кефіру, йогурту).

Іншим важливим аспектом обґрунтування складу капсули є оболонка. Для визначення раціональної концентрації її складників, важливо враховувати основні фізичні показники капсули: пружність, формостійкість, розміри, товщину. Так, авторами [56] було встановлено концентрації альгінату натрію та кальцію хлориду, які сприяють капсулоутворенню; визначенні такі параметри, як час і швидкість перемішування, тривалість витримки у формуючому розчині і особливості операцій завершального етапу капсулювання: виймання з формуючого розчину, промивання оболонок. Також встановлено, що обґрунтовано пружними, найбільш стійкими за формою були капсули за концентрації альгінату натрію 0,5–1,2%. Було відмічено, що у разі підвищення концентрації поліцукру число реакційних вузлів збільшувалось, в'язкість формуючого розчину підвищувалась, а темпи приросту маси оболонки капсул зменшувались і сферичні форми перетворювалися на більш овальні. Також було встановлено, що зі збільшенням тривалості капсулювання від 1–8·60 с товщина оболонки зростає від  $0,1 \cdot 10^{-3}$  м до  $0,5 \cdot 10^{-3}$  м. Автори також відмічають, що за товщини оболонки менше  $0,1 \cdot 10^{-3}$  м, капсули не здатні зберегти кулеподібну форму та під дією власних сил тяжіння деформуються.

Усі позитивні результати стосуються однієї концентрації вільних йонів кальцію – 0,5%, але при цьому до рецептурної суміші додавався натрій хлорид до загальної маси сухих речовин –1,5 %.

Присутність натрію хлориду у запропонованій нами розробці є небажаною, перш за все з органолептичної точки зору, але означений вміст сухих речовин, як було доведено [56], суттєво впливає на процес капсулоутворення. Тому нами було збільшено концентрацію йонів кальцію до 1,5% і досліджено вплив спектру концентрацій від 0,5% до 1,5% на поведінку оболонок в системі *in vitro*.

Крім того, дослідники [60] довели необхідність підвищення в'язкості інкапсулянту для кращого протікання процесів капсулоутворення, це було здійснено за рахунок додавання ксантану. Нами для загушення поживного середовища було використано натрієву сіль карбометилцеллюлози, яка також є природним полісахаридом зі стабілізуючим ефектом.

Таким чином, було розроблено технологію капсульованих напівфабрикатів на основі сироватки підсирної несолоної із живими біфідобактеріями з урахуванням інновацій в області виробництва аналогічних харчових продуктів, зокрема, методу іотропного гелеутворення. На основі аналізу системи «сироватка молочна–загусник–йони кальцію» формуються фізико-хімічні, структурно-механічні і органолептичні показники харчового поживного середовища. За отриманими результатами та урахуванням параметрів капсулювання визначається харчова, біологічна, фізіологічна та енергетична цінність нового продукту.

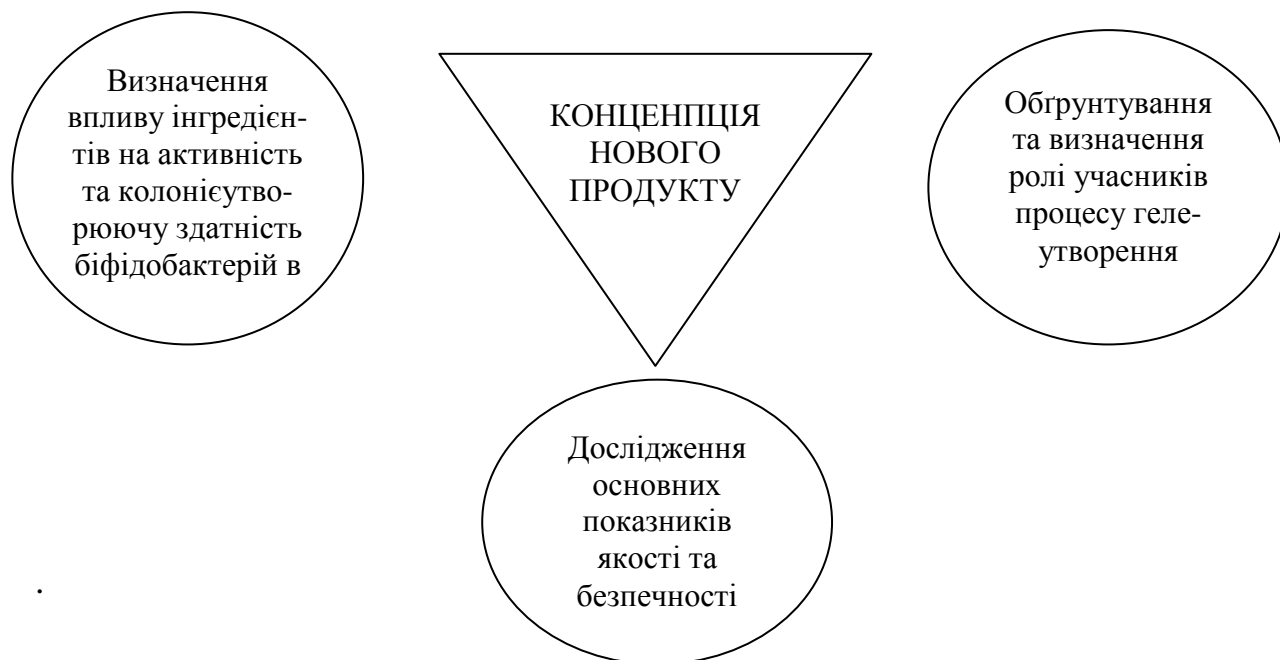
Шляхом моделювання технології капсульованих напівфабрикатів з пробіотичними властивостями (як цілісної технологічної системи) в межах функціонування окремих підсистем (створення рецептурної суміші, гелеутворюючої системи, харчового поживного середовища та ін.) на основі квантово-хімічного моделювання та розрахунку теплового ефекту реакції передбачається обґрунтувати параметри гелеутворення, які дозволять отримати пружний гель, встановити час структурування, органолептичні властивості драгля, концентрацію альгінату натрію залежно від його виду, одержати оболонки з оптимальною вологоутримуючою та вологовиділяючою здатністю, запобігти втратам їх маси та вологи при зберіганні.

Відносно невеликий обсяг інформації про наукові основи гелеутворення в системі кальцій-натрій альгінату та практично відсутня системна інформація про іотропне капсулювання викликає недостатнє розуміння технологічних основ цього процесу. Крім того, не достатньо описана роль окремих інгредієнтів інкапсулянту та оболонки, не врахована дія розчинника.

Під час дослідження метаболічних процесів представників класу суворих анаеробів – біфідобактерій – у харчовому поживному середовищі на основі сироватки молочної також виникає ряд труднощів, пов'язаних із недостатньою інформацією про культивування мікроорганізмів у подібних системах. Інформації про поведінку біфідобактерій у системі молочна сироватка-структуруючий агент-загусник – іони кальцію у капсулі взагалі не існує.

Крім того, створені та досліджені раніш оболонки [59] можуть не стати якісною формою доставки біфідобактерій до відділів кишечника, оскільки не здолають дію шлункового соку.

Таким чином, концепцію продукту можна зобразити у вигляді схеми (рис. 3.2).

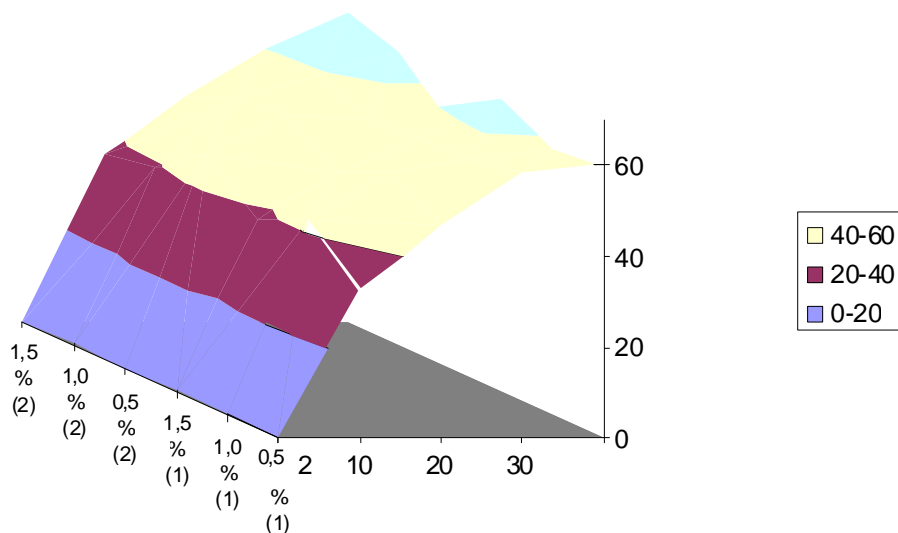


Риунок 3.2 – Схема визначення концепції капсульованого продукту з біфідобактеріями

Зі схеми видно, що розгляд фізико-хімічних основ структування у системі «кальцій-натрій альгінат», вивчення впливу складових продукту на життєву активність біфідобатерій та дослідження основних показників якості і безпеки, дозволять чітко визначити напрямок розвитку сучасних технологій капсулювання для створення пробіотичних продуктів нового покоління.

Для проведення початкового етапу експериментального дослідження були виготовлені капсули, які характеризувались високою споживчою та органолептичною властивостями. Час експозиції у формуючому розчині становив – 2, 10, 20, 30 хв; концентрація кальцій хлориду ( $\omega_{CaCl_2}$ ) складала 0,5; 1,0; 1,5%.

Капсули були витримані у суміші хлоридної кислоти з пепсином, що відтворювала систему шлункового соку, протягом однієї та двох годин при  $t=37^\circ\text{C}$ . Зміни, що мали відбутись у капсульних об'єктах передбачалось встановити методом візуальних спостережень та засобами гравіметрії. Зовнішньо, змін форми та структури капсул протягом досліджуваних термінів не відбувалось. Результати гравіметрії (за виділенням вологи) представлені на рис. 3.4, з якого виходить, що зразки усіх груп, знаходячись у кислому середовищі ( $\text{pH}=1,12$ ), втрачають вологу. Найбільші втрати зазнали зразки з 1,5%-ою концентрацією кальцій хлориду, як після годинного, так і після двогодинного пепсинолізу.



**Рисунок 3.3 – Динаміка вологовиялюючої здатності капсул під час пепсинолізу (рН = 1,2)**

Така ж сама тенденція, але в меншій мірі спостерігається і у зразку з одновідсотковою концентрацією розчину неорганічної солі після двогодинного пепсинолізу. З даних рис. 3.3 також видно, що час дії пепсину є достатньо впливовим на втрату іммобілізованої вологи. Так, протягом однієї години відбувається втрата вологи значно менша, ніж при двогодинному пепсинолізі. Такі результати дозволяють визначити, що протягом двох годин інтенсивно проходять масообміни та іонообміни процеси, які завершуються термодинамічною рівновагою. Ця інформація стає корисною під час вибору сировини для формування асортименту продуктів із вмістом капсульованих пробіотиків. Отже, обрані страви, що мали бути збагачені на капсульовані пробіотики, повинні знаходитись у шлунку не більше години.

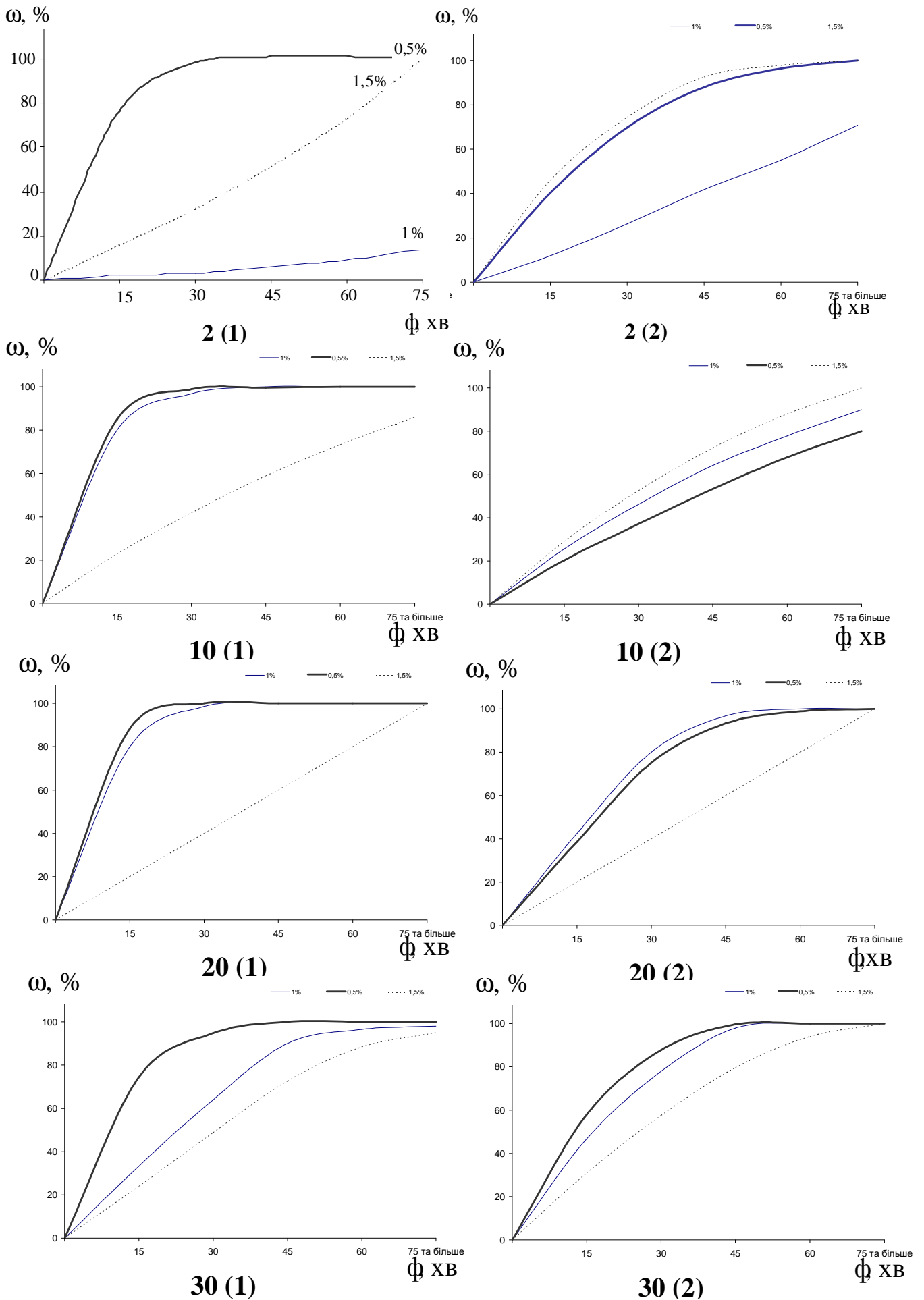
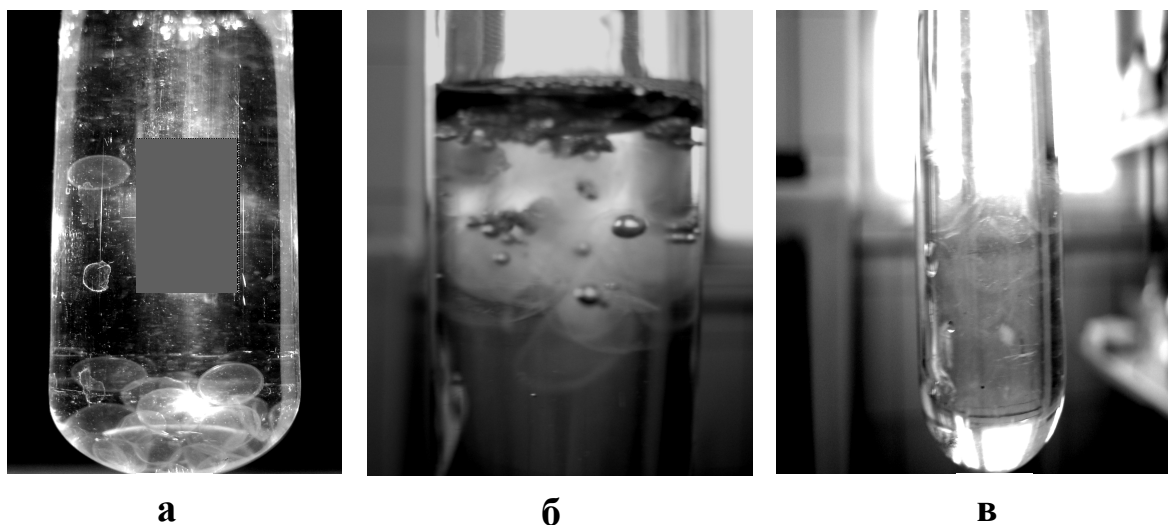


Рисунок 3.4 – Ступінь руйнації зразків X (Y): X – час експозиції у формуючому розчині, хв; Y – час пепсинолізу, год

З рис. 3.4 видно, що найшвидше руйнуються оболонки, піддані дії пепсину протягом 1 год. Але у зразках з концентрацією кальцій хлориду 1,5% можна помітити зовсім протилежну тенденцію. Таке явище пояснюється тим, що дані зразки втратили багато вільнозв'язаної вологи до початку проведення трипсинолізу, крім того помітні втрати відбулись і під час пепсинолізу. Таким чином, за рахунок втрати системою вагової кількості водневих зв'язків, збільшуються внутримолекулярні сили тяжіння між поліланцюгами вуглеводної природи, що призводить до протидії оболонкам руйнуючій силі оточуючого середовища.

Наприкінці дослідження майже у всіх пробірках візуально визначався хлоп'єподібний або аморфний осад (рис. 3.5).



**Рисунок 3.5 – Динаміка руйнування оболонки у системах *in vitro*:  
а–шлунку; б–тонкого і в–товстого кишечника**

Розгляд фізико-хімічних основ структуризації у системі «кальцій-натрій альгінат» та вивчення сучасних технологій дозволяє прогнозувати можливість використання технології капсулювання для створення принципово нових продуктів із пробіотичними властивостями.

### **3.3. Наукове обґрунтування параметрів гелеутворення в оболонках капсул з позиції квантово-хімічного моделювання**

Реалізацію інноваційного задуму нового продукту пов'язано, насамперед, з отриманням системи « $\text{AlgNa-Ca}^{2+}$ » у фізичній формі капсули. Початковим кроком у створенні даної системи є отримання гелю альгінату натрію, який утворюється завдяки наявності кристалітів із характерною структурою  $\text{Na}_{(x+y)}\text{Gul}_x\text{Man}_y$ . Такими в даній системі виступають правильно спаквані, але нерегулярні ділянки уронатів. Ланцюги альгінових кислот зазвичай побудовані за блочним принципом, у яких сегменти регулярної структури, що складаються з мануронатів або гулуронатів чергуються з сегментами, у яких залишки обох типів уронових кислот розподілені більш менш випадково.

Регулярні ділянки, що мають транс-конформацію, здатні асоціювати кристаліти, які подалі відіграватимуть роль потенційних центрів хелатоутворення. Для нерегулярних ділянок правильна упаковка неможлива, тому вони утворюють у сітці альгінатного гелю проміжки між вузлами, у яких виникнення ковалентних полярних та іонних зв'язків є атиповим. Водночас такі «порожнини» стають центрами гідратації під час набухання полімеру.

Гелі альгінату натрію – це двокомпонентні системи полімер–розчинник, що мають просторову сітчасту структуру, утворену сольватованими макромолекулами та їх агрегатами, з розподіленими в них молекулами розчинника.

Альгінат натрію має у складі багато полярних зв'язків С-ОН, С-СООН, які характеризуються дипольним моментом з-за несиметрично розподіленої електронної густини. Під дією полярної сили розчинника, що також характеризується наявністю диполів, клубок полімеру «розгортається» і починається процес розчинення з подальшим набуханням.

Розчинення альгінату натрію характеризується незначними змінами ентальпії, але при цьому значення ентропії різко збільшується, тому  $\Delta G < 0$ . Завдяки схожій полярності альгінат, як еластичний полімер, мимовільно і в більшості випадків необмежено змішується з водою. Цей процес має дифузійний характер і його протіканню сприяє гнучкість ланцюга полімеру. При цьому процес супроводжується розсуванням довгих ланцюгових макромолекул, які внаслідок великого розміру надзвичайно повільно проникають у середовище низькомолекулярної рідини. Процес розчинення альгінату натрію характеризується обмеженим набуханням ( $\Delta H < T\Delta S$ ). Обмеження відбувається на стадії поглинання води альгінатом. При цьому самовільного розчинення полімеру не відбувається, тобто ланцюги макромолекул повністю не відокремлюються один від одного і максимально утримуються силами ван-дер-ваальсових та водневих зв'язків.

Набухлий полімер являє собою розчин низькомолекулярної рідини у ВМС. Через деякий проміжок часу, коли ланцюги полімеру вже достатньо розсунуті, розпочинається їх повільна дифузія у розчинник. При цьому утворюється шар більш розбавленого розчину ВМС, який співіснує з шаром більш концентрованого розчину. За деякий час концентрації різних розчинів альгінату зрівнюються, ентропія прямує до мінімуму і шари зливаються, утворюючи однофазну гомогенну систему (формує розчин), яка знаходиться у стані термодинамічної рівноваги [76].

Для термодинамічно стійкого розчину величина  $\Delta\mu_i < 0$ , тобто хімічний потенціал кожного компонента у розчині менший, ніж чистого компонента:

$$\mu_i < \mu_i^0.$$

Таким чином процес розчинення протікає самовільно, згідно з поступовим переходом дифузанта  $i$  до фази з меншим хімічним потенціалом, його величина у цій фазі збільшується, тобто  $\frac{\partial\mu_i}{\partial C_i}$  є суттєво позитивною. Величина  $\mu_i$  зростає до тих пір, поки  $\mu_i = \mu_i^0$  ( $\Delta\mu_i = 0$ ), що відповідає стану рівноваги. У разі обмеженого набухання альгінату величина  $\Delta\mu_i=0$  за максимального ступеня набухання [156].

Наявність великої кількості атомів у макромолекулярному ланцюгу сополімерів свідчить про можливість існування таких типів зв'язків: хімічного, міжмолекулярного та водневого. Збільшення концентрації альгінату впливає на зростання кількості водневих зв'язків та міжмолекулярних взаємодій. Це знижує розчинність полімеру та потенційний бар'єр його обертання у розчині (поворотну ізомеризацію), тобто негативно впливає на фізико-хімічні властивості гелю та надмолекулярні структури всієї системи. При цьому унеможлиблюється створення щільних еластичних оболонок. Проведені дослідження, описані вище, дозволили встановити такі технологічні параметри капсулювання, як концентрації альгінату натрію і кальцію хлориду, в результаті чого були отримані щільні й водночас високоеластичні оболонки капсул, здатні без перешкод досягти області кишечника і вивільнити живі мікроколонії з високим рівнем морфологічної чистоти та видової належності.

Процес капсулоутворення продовжується реакцією рекомбінації чотирьох іонів натрію, що містяться у трансойдно розташованих гулуруонатних залишках, на іон кальцію з подальшим утворенням хелатного комплексу та одночасним фазовим переходом розчину полімеру у стан фізичного тіла (гель кальцію альгінату). Оскільки набухання альгінату натрію пов'язане з розсуненням полімерних ланцюгів і порушенням міжмолекулярних зв'язків між ними, то у разі виникнення тиску з боку додатково внесених агентів (дифузантив), стає можливою деструкція полімеру. Такими дифузантами виступають вільні іони кальцію, які потрапляють у систему альгінатного розчину ззовні та мають свій хімічний потенціал ( $\mu_3$ ). Момент, коли розчин альгінату натрію починає втрачати плинність і перетворюється на гель альгінату кальцію, вважається гелю-точкою. Загальний хімічний потенціал при цьому має вже три складові, одна з яких стрімко зростає ( $\mu_3$ ) і сприяє зниженню ентальпії й утворенню ефекту екранування. Тиск, створений електронним «збудженням» впливає на зміну конформації полімерних ланцюгів, хімічний потенціал ( $\mu_2$ ) яких зростає зі збільшенням рухливості.

При поступовому викраповуванні розчину, що містить вільні іони кальцію, кількість гелю-точок активно збільшується і утворюються активні центри зв'язування, які здатні до угруповань. В однорідній фазі гелю зароджується ланцюг з ущільнених ділянок, початок якого під дією перемішування змикається з кінцем і утворюється перший шар сферичного тіла. Хелатоутворення є енергетично вигідним для системи процесом, тому для його забезпечення у полімерних ланцюгах під дією електростатичних сил відбуваються конформаційні зміни, які сприяють максимальному накопиченню рекомбінаційних центрів.

Просторова сітка альгінату кальцію утворюється хімічними зв'язками, тому такий гель є термoneзворотним. Він являє собою стійку гомогенну систему, будова якої не залежить від температури аж до терморозпаду і не має критичних температур розчинення [75].

Проте у разі надлишку в системі вільних іонів кальцію, з'являється можливість утворення менш енергетично вигідних зв'язків між іонами металу та карбоксильними групами MG, GM та MM блоків (ділянки I–IV на рис. 3.10).



Такі зв'язки носять більш іонний характер і утворюються поступово у напрямку зменшення у блоках гулуронатних залишків. Одночасно з утворенням іонних втрачається значна кількість присутніх на даних ділянках водневих зв'язків, а це впливає на таку технологічну властивість, як вологовиділяюча здатність.

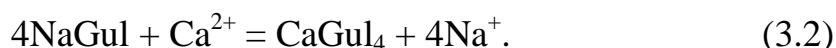
Одночасно з утворенням хелатних сполук втрачається велика кількість водневих зв'язків з молекулами розчинника, що спричиняє деформацію ланцюгів гелю альгінату натрію. Зі збільшенням концентрації дифузанта ступінь деформації зростає, система починає упорядковуватись ( $\Delta S < 0$ ) при цьому  $\Delta H_{CaGul_4} < \Delta H_{(NaAlg)_n}$  і  $\Delta G$  прямує до позитивних значень.

Утримання між собою полімерних ланцюгів за рахунок водневих зв'язків  $C-N...N^+$  і  $C-OH...N^+$  стає енергетично не вигідним і розірвані ділянки за достатніх концентрацій поліелектроліту у розчині починають змикатися, утворюючи фізичну форму, заключаючи інкапсулянт в середину. Найбільш енергетично вигідною є форма сфери. Такі фазові переходи можливі лише за умови, коли хімічний потенціал взаємодії поліелектроліту альгінату натрію між собою у присутності вільних іонів кальцію вищий, ніж потенціал взаємодії між альгінатом натрію та інкапсулянтом. Це вказує на необхідність обґрунтування складу внутрішнього умісту. У системі перебуває міжфазова рівновага, проте термодинамічної рівноваги не відбувається, оскільки концентрація іонів кальцію у середині капсули перевищує рівноважну, а це зумовлює протікання дифузії вільних іонів крізь утворену полімерну плівку та ініціює конформаційні зміни полімерних ланцюгів із подальшим нашаровуванням оболонки.

Дифузія іонів кальцію протікає згідно із законом Фіка [74]:

$$J = D \frac{dC}{dx} \quad (3.1)$$

Завершується процес утворення капсули термодинамічною рівновагою, коли концентрації реагуючих речовин сягають молярного співвідношення, що відповідає реакції:



Слід зазначити, що досягнення термодинамічної рівноваги не завершує фазових перетворень. Оскільки загальна ентропія системи залишається позитивною, слід розглянути й подальші процеси масопереносу, наприклад, поведінку складових системи у разі продовження витримки утвореної капсули у формуючому розчині альгінату натрію. Так, було встановлено [72], що капсульні оболонки розчиняються у середовищі альгінату. При цьому створюються умови безперервного потоку іонів кальцію з середовища інкапсулянту до матриці альгінатної оболонки, який здійснюється за одним із можливих напрямів.

Перший передбачає естафетний рух частинок. Відомо, що утворені зв'язки  $Ca-O$  у хелатному комплексі неміцні та досить рухливі, вони здатні розірватися і вивільнити кальцій, але тільки для того, щоб поступитися місцем іншим схожим іонам. Одночасно з цим, вивільнений іон кальцію прямує до найближчої ділянки G-тетрамеру, сформованої стінкою капсули, і утворює новий хелатний комплекс.

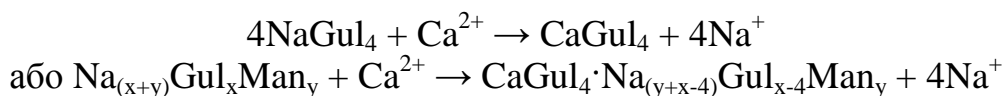
У разі повного насичення у стінках капсули гулуронатних тетраметрів кальцієм і подальшій дифузії іонів в оболонку, найвірогідніше можливими ділянками утворення комплексних сполук стають М- та G-блоки у розташуванні, позначеному на структурах II – IV (рис. 3.6) або їх геометричних похідних. Діставшись зовнішніх шарів капсули, іони кальцію здатні дифундувати у розчин формуючого гелю і продовжувати утворення хелатів або комплексів на термодинамічно та геометрично вигідних для цього ділянках, але вже поза межами капсули. За умов прямування концентрації вільних іонів кальцію в інкапсулянті до нуля і можливості утворення хелатних та комплексних сполук в середовищі гелю, усі іони кальцію «виходять» з оболонки і рівномірно розподіляються у об'ємі розчину високомолекулярної сполуки, при цьому настає термодинамічна і концентраційна рівновага ( $\Delta S \rightarrow 0$ ). Крім того у системі встановлюється електростатичний баланс. У випадку розриву іонного зв'язку з кальцієм, хлорид-іони прямують до зовнішніх шарів оболонки, на поверхні яких містяться вивільнені з сітки гелю іони натрію. Протилежно заряджені іони утворюють молекулу натрій хлориду і, підштовхуючись іншими спорідненими частинками, заглиблюються у розчин гелю. Після того, як розпочинається процес розчинення оболонки, і серед учасників переходів з'являються іони кальцію, хлорид-іони розривають зв'язки з натрієм і прямують до з'єднання з іонами кальцію. Імовірність протікання саме таких переходів зумовлена великою різницею теплових ефектів реакцій утворення означених хлоридів, яка відбувається на користь кальцій хлориду, а загальний електростатичний баланс системи настає, коли знов вільні іони натрію з'єднуються з залишками уронових кислот.

Такий процес супроводжується аналітичним ефектом – переходом альгінатної оболонки від стану сферичного твердого тіла до обводнених лінійних поліланцюгів альгінату натрію. При цьому капсули поступово втрачають фізичну форму.

Інший шлях переходу кальцію крізь шари альгінатної оболонки полягає у просуванні заряджених частинок засобами дифузійних потоків, зумовлених енергетикою теплового руху. Оскільки концентрація заряджених частинок в інкапсулянті значно перевищує кількість кальцію, окреслену молярними співвідношеннями (а це є необхідною умовою процесу капсулоутворення), то пересуванню таких частинок ніщо не перешкоджатиме і вони мають рухатися до місць утворення нових гель-точок. Дифузійне «просочування» відбувається значно швидше, ніж естафетне, оскільки розірвати сили іонної природи хелатного комплексу складніше, ніж утворити нові зв'язки за умов вільного пересування рухливих частинок. Тому співвідношення концентрацій альгінату натрію (у нашому випадку – від 0,5 до 1,2%) і концентрація кальцію (у кожному випадку – 0,5%) є науковообґрунтованими і виступають обов'язковою умовою для протікання технологічного процесу. Також теоретично обґрунтованим є час витримки капсул у формуючому розчині (у кожному випадку –  $(1-3) \times 60$  с), оскільки за цей період встигає утворитися достатня кількість шарів для поняття «пружна оболонка», завершуються необхідні дифузійні і фазові перетворення. Також обґрунтована операція подальшого промивання капсул у воді, яка дозво-

лить уникнути переходу іонів кальцію крізь оболонку і затримує заряджені частинки у зовнішніх шарах оболонки, тобто усуває процес її розчинення.

З вищенаведеного стає зрозумілим, що формування капсули за структурою є суто фізичним процесом, пов'язаним із екструзією речовин, які під час змішування реалізують свій хімічний потенціал одночасно. Стає очевидним, що розміри капсули залежатимуть від об'єму інкапсулянту в одній дозі-краплі, а товщина оболонки – від технологічних параметрів (концентрації активних компонентів, часу взаємодії, інтенсивності масообміну, повноти реалізації хімічного потенціалу). Виходячи з узагальнюючої схеми реакції заміщення



стає зрозумілим, що термодинамічна стабільність структурованої системи залежатиме як від складу альгінату натрію, так і від реалізації хімічних потенціалів учасників системи. За реальних умов формоутворення характеризується різними видами масопереносу, тому прогнозування перебігу процесу є доцільним через аналіз модельних систем. Капсула – це хіміко-технологічна система, тому рівновагу слід оцінювати за величиною її енергетичного мінімуму.

Виходячи з того, що один із компонентів досліджуваної системи (альгінат натрію) складається із суміші гулуруонатних та мануруонатних залишків, зв'язаних 1→4 глікозидними зв'язками, теоретично можливо оцінити найбільш енергетично вигідну структуру альгінат-кальцієвого комплексу методами розрахунків потенційної енергії кожного зв'язку при взаємодії з іонами кальцію і подальшою побудовою мап топографічних поверхонь їх потенційної енергії.

Альгінова кислота у формі натрієвих солей (Na-Alg) з хімічної точки зору – це суміші лінійних полімерів, що складаються з β-d-манурунової (M) та α-l-гулурунової (G) кислот, зв'язаних 1→4 глікозидними зв'язками, що містять гомополімерні блоки D-мануруоната (M) та L-гулуруоната (G) разом з ділянками (MG), у яких ці два вуглеводні фрагменти чергуються [77]. Оскільки M- і G-блоки зв'язані 1→4 глікозидними зв'язками, існує 3 типи зв'язків у ланцюжку: дієкваторіальний (MM), діаксіальний (GG), екваторіально-аксіальний (MG, GM) [78–80].

Здатність альгінатів до гелеутворення за рахунок протікання реакції заміщення та їх біофункціональні властивості залежать від вмісту α-l-гулурунової кислоти тому, що зв'язування іонів кальцію відбувається у вигляді хелатного комплексу з вісьмома кисневими атомами, що містяться тільки у G-блоках [79]. У присутності іонів Ca<sup>2+</sup> зразки з переважним вмістом G-мономерних ланок зазвичай мають форму твердих і пружних гелів, у той час як багаті на M-блоки об'єкти, являють собою гелі м'які та еластичні [80; 81].

Принцип дії загусника в загальному вигляді та альгінату натрію конкретно полягає у тому, що полімерна молекула при потраплянні у водне середовище розкручується і навколо гідрофільних центрів утворюється гідратна оболонка. При цьому зменшується рухливість молекул і в'язкість розчину поступово збільшується.

Технологічні суміші на основі розчину альгінату натрію – це квазістабільні багатофакторні системи із складним композиційним складом, властивості яких залежать від порядку та швидкості протікання реакцій внутрішніх процесів із урахуванням стану зовнішніх чинників, що впливають на існування такої системи.

Фактично, при отриманні капсул у технологічній системі «альгінат натрію –  $\text{Ca}^{2+}$ » відбувається досягнення термодинамічної рівноваги, що відповідає розвитку системи при введенні розчину іонного кальцію (інкапсулянта) в технологічне середовище альгінату натрію з утворенням певної просторової організації структури, найбільш ефективним методом дослідження якої є конформаційний аналіз [82; 83]. Він базується на приближенні Борна-Оппенгеймера, згідно з яким потенційна енергія молекули досить точно окреслюється безперервною функцією координат ядер. Одночасно хімічні зв'язки характеризуються деякими «природними» довжинами та валентними кутами, а конформації реальних молекул встановлюються такими, щоб максимально зберегти ці величини. Стеричні ефекти моделюються вандерваальсовими взаємодіями [84]. Безумовно, для вивчення хіміко-технологічної системи «альгінат натрію –  $\text{Ca}^{2+}$ » найбільш доцільними є квантово-хімічні моделі.

У разі розгляду системи, яка вважається напруженою, молекула деформується у передбаченому напрямку, згідно з градієнтом енергії «напруження». Обчислення моделей за даним принципом відтворює положення молекулярної механіки [84].

Досить точним підходом до опису динаміки хімічної реакції є обчислення поверхонь потенційної енергії (ППЕ), що дозволяє визначити геометричну будову та енергії молекул на основі моделі, у якій (на відміну від методів квантової хімії) електрони системи розглядаються у явному вигляді. Для побудови ППЕ необхідно розрахувати значення енергії системи для систематичної низки обраних фіксованих наборів координат  $q$ , побудувати відповідні графіки для функції  $E(q)$ , знайти близькі аналітичні вирази [84].

Розрахунки, проведені за методом молекулярної механіки, полягають у мінімізації кожного з енергетичних внесків у систему, що дає оптимальні енергії ( $E$ ) молекули у цілому. Метод молекулярної механіки дозволяє визначити теплоту утворення, енергію напруги, енергію окремих конформерів та висоту бар'єрів для конформаційних перетворень, частоти коливань, дипольні моменти, швидкості конформаційних переходів [83]. Принциповість пошуку конформерів системи «AlgNa- $\text{Ca}^{2+}$ » полягає у вивченні глікозидного зв'язку, який описується торсійними кутами, що відображають обертання навколо зв'язків  $\text{C}_1\text{-O}_x$  та  $\text{C}_x\text{-O}_x$ , де  $x$  – розташування глікозилювання. Ці кути позначаються символами  $\varphi$  та  $\psi$  відповідно (рис. 3.6). Для системи «AlgNa- $\text{Ca}^{2+}$ » глікозидні зв'язки можуть формуватися у гулуруонат-гулуруонатних (GG), гулуруонат-мануруонатних (GM), мануруонат-гулуруонатних (MG) та мануруонат-мануруонатних (MM) блоках (рис. 3.7), які передбачають взаємодію з іонами кальцію, утворюючи високоентропійні сполуки. Це змінює вигляд мапи ППЕ.

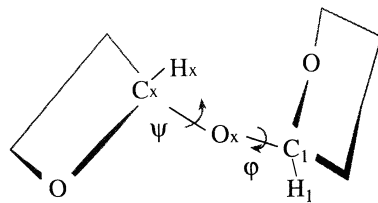


Рисунок 3.6 – Кути  $\phi$  та  $\psi$  за глікозидного зв'язку

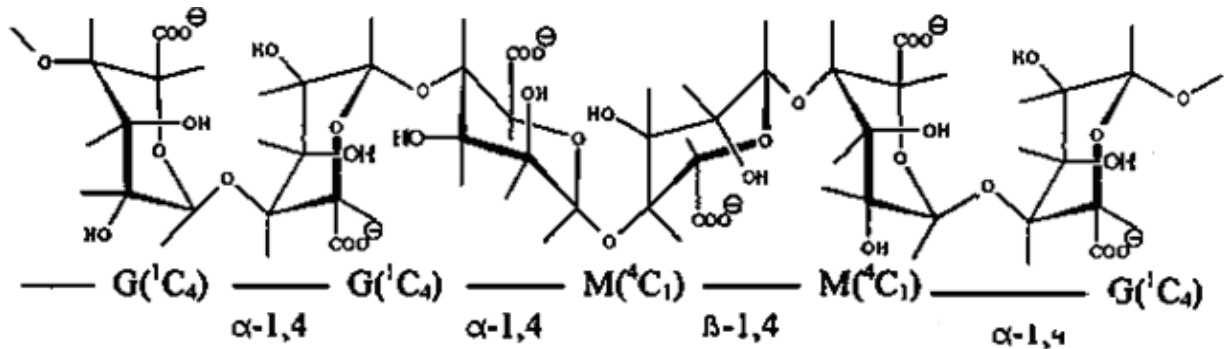


Рисунок 3.7 – Сегмент альгінатного ланцюга

За існуючою інформацією про переважну реакційну здатність гулурунати-них залишків з іонами кальцію [85] було проведено молекулярно-механічне моделювання сегментів гулурунати-них блоків альгінової кислоти, які відповідають за утворення халатних комплексів методом ММЗ [83; 84; 86–88; 90] у програмній оболонці PCMODEL [91; 92], а також квантово-хімічне моделювання методом РМ6 [93] за допомогою програми МОРАС2009 [94]. Згідно з цим розрахунком, спектри перехідних станів характеризуються наявністю одного коливання з уявною частотою. У точках мінімумів коливання з уявними частотами були відсутні.

Конформаційні перетворення у молекулі дисахариду GG можуть бути пов'язані як зі зміною взаємної орієнтації моносахаридних сегментів обертанням навколо глікозидних зв'язків, так і периферійних гідроксильних та карбоксильних груп. На першому етапі методами ММХ та ММЗ проведено розрахунки, що визначають залежність енергії системи від величин торсійних кутів  $H_1-C_1-O_1-C_4$  ( $\phi$ ) та  $C_1-O_1-C_4-H_4'$  ( $\psi$ ), які відповідно до правил IUPAC використовуються для позначення конформацій дисахаридів (рис. 3.8).

Як видно з рис. 3.8, на поверхні ППЕ чітко виділені три ділянки (А, В, С), що відповідають стійким конформерам дисахариду GG. При цьому у конформерах  $GG_A$  та  $GG_B$  карбоксильні групи розташовано трансойдно, цис-орієнтація притаманна тільки конформеру  $GG_C$ .

Розрахунки, проведені методом РМ6, також призводять до локалізації стійких конформерів, близьких за геометрією згідно з методами ММХ та ММЗ, що свідчить про кореляцію даних, отриманих методом молекулярної механіки та напівемпіричним методом квантової хімії.

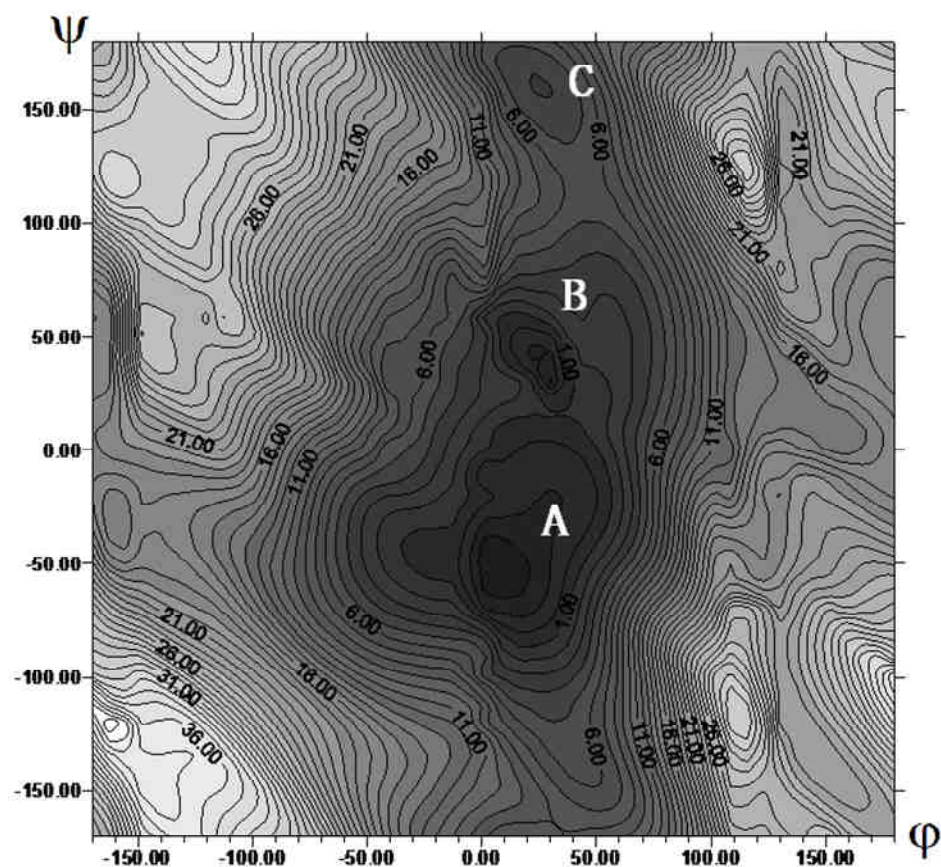


Рисунок 3.8 – Контурна мапа поверхні потенційної енергії для молекули дисахариду GG

Шляхом обертання гідроксильних та карбоксильних груп у структурах, що відповідають знайденим на ППЕ ділянкам мінімумів, локалізовані найбільш стабільні конформери, які представлені на рис. 3.9. Величини торсійних кутів та теплоти утворення наведено у табл. 3.3.

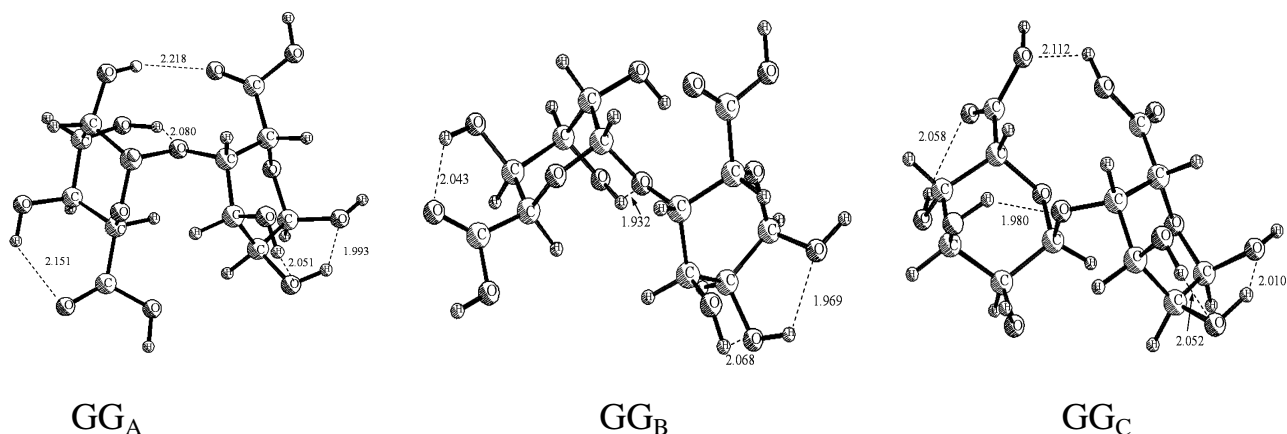


Рисунок 3.9 – Структури найбільш стійких конформерів молекули дисахариду GG та величини довжин водневих зв'язків, Å (наведено зв'язки з R<sub>O-H</sub> < 2.2 Å)

Як видно з рис. 3.10 усі конформери характеризуються наявністю водневих зв'язків  $H_2 - O_1$ ,  $H_3' - O_2'$ ,  $H_3 - O_1$ . Крім того, для транс-конформерів ( $GG_A$ ,  $GG_B$ ) характерно утворення водневих зв'язків між гідроксильними та карбоксильними групами, у випадку цис-ізомера  $GG_C$  утворюються зв'язки між відповідними атомами карбоксильних груп [95]. Відповідно до розрахунку, серед транс-конформерів ( $GG_A$ ,  $GG_B$ ) встановлено, що у деякій мірі, більш стійким є конформер  $GG_A$ . Цис-конформер  $GG_C$  у даному ряді має найменшу стійкість. Для повної уяви про принцип комплексної взаємодії між іонами кальцію та гулуруонатними залишками необхідно розглянути аналогічні системи із мануронат-мануронатними сегментами (ММ) та вивчити їх поведінку за присутності іонів металів ( $Ca^{2+}$  та  $Na^+$ ) з урахуванням поля розчинника.

Таблиця 3.3 – Величини торсійних кутів (град.) та теплот утворення (кДж/моль) стійких конформерів дисахариду GG

Кон-формер	PM6			MMX			MM3		
	$\varphi$	$\psi$	$\Delta E$	$\varphi$	$\psi$	$\Delta E$	$\varphi$	$\psi$	$\Delta E$
$GG_A$	29,32	-55,85	0,00	20,09	-53,43	0,00	18,28	-51,06	0,00
$GG_B$	27,08	24,35	11,42	44,54	21,71	0,92	43,32	31,25	17,54
$GG_C$	7,24	163,21	15,06	14,70	167,02	28,25	15,50	160,49	38,41

Проведено відповідні розрахунки торсійних кутів глікозидного зв'язку та теплот утворення ММ-блоків. За результатами конформаційного аналізу складено мапу поверхні потенційної енергії дисахариду ММ, на якій наочно представлено ділянки, що відповідають наявності трьох стійких конформерів ( $MM_A$ ,  $MM_B$ ,  $MM_C$ ) (рис. 3.10).

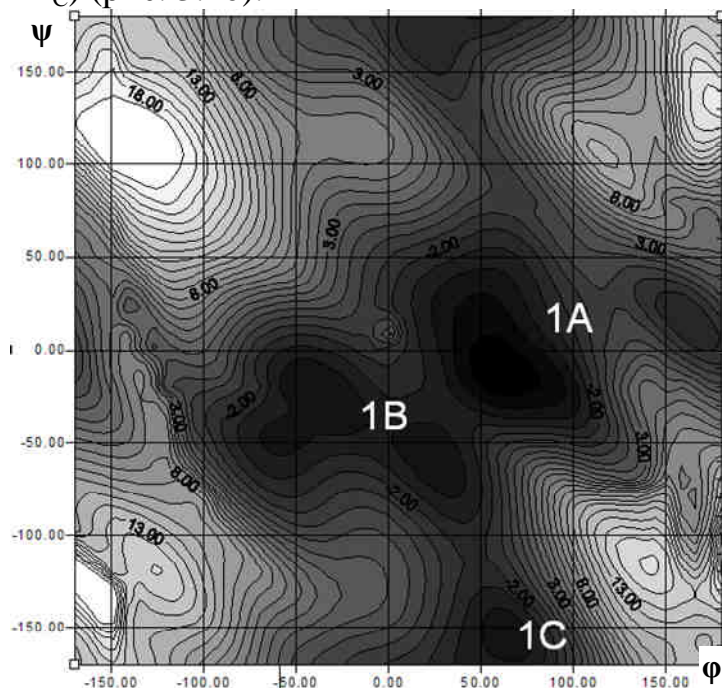


Рисунок 3.10 – Контурна мапа поверхні потенційної енергії для молекули дисахариду

ММ

Оскільки дані, одержані методами ММХ та ММЗ добре корелюються між собою, то достатнім у подальших розрахунках є використання тільки методу ММЗ як найбільш функціонального та вдосконаленого для моделювання структур ди- та олігосахаридів. Величини торсійних кутів та теплот утворення найбільш стійких конформерів сегменту ММ наведено у табл. 3.4.

Таблиця 3.4 – Величини торсійних кутів (град.) та теплот утворення (кДж/моль) найбільш стійких конформерів дисахариду ММ

Конформер	PM6			MM3		
	$\varphi$	$\psi$	$\Delta E$	$\varphi$	$\psi$	$\Delta E$
ММ <sub>А</sub>	65,00	7,00	6,80	64,86	-5,98	0,00
ММ <sub>В</sub>	26,00	-78,00	4,58	30,19	-61,08	7,86
ММ <sub>С</sub>	75,00	-154,00	0,00	67,88	-159,50	8,23

На рис. 3.11 та 3.12, як і у разі попередньо розглянутих дисахаридів, визначаються ділянки, що характеризують наявність трьох стійких конформерів, величини торсійних кутів та теплоти утворення яких наведено у табл. 3.5 та 3.6.

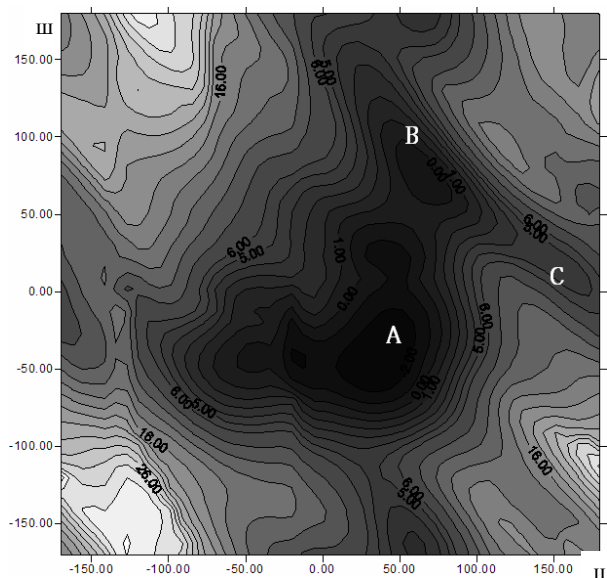


Рисунок 3.11 – Контурна мапа поверхні потенційної енергії для молекули дисахариду GM

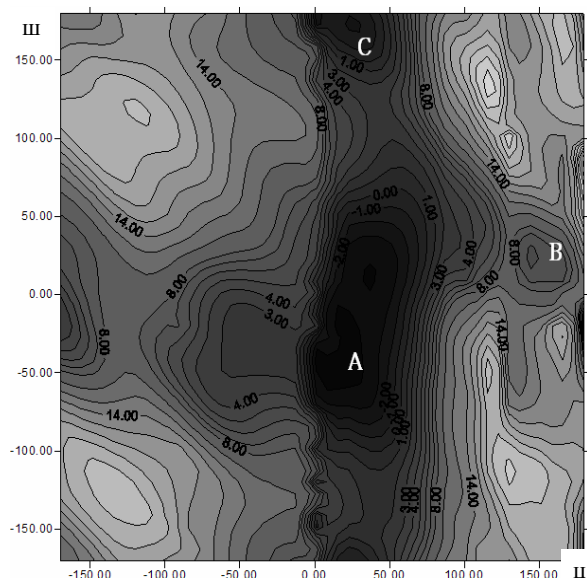


Рисунок 3.12 – Контурна мапа поверхні потенційної енергії для молекули дисахариду MG



Таблиця 3.5 – Величини торсійних кутів (град.) та теплот утворення (кДж/моль) найбільш стійких конформерів дисахариду MG

Конформер	PM6			MM3		
	$\varphi$	$\psi$	$\Delta E$	$\varphi$	$\psi$	$\Delta E$
MG <sub>A</sub>	45,09	-23,43	12,99	33,91	-56,09	0
MG <sub>B</sub>	49,47	8,66	5,16	75,99	62,81	2,546
MG <sub>C</sub>	169,28	-16,33	0	155,59	16,27	8,279

Таблиця 3.6 – Величини торсійних кутів (град.) та теплот утворення (кДж/моль) найбільш стійких конформерів дисахариду GM

Конформер	PM6			MM3		
	$\varphi$	$\psi$	$\Delta E$	$\varphi$	$\psi$	$\Delta E$
GM <sub>A</sub>	26,38	-80,73	10,83	29,45	-50,76	0
GM <sub>B</sub>	169,58	-1,16	0	161,91	8,66	7,54
GM <sub>C</sub>	32,23	-169,69	5,68	8,65	176,03	1,379

З величин теплових ефектів усього ряду конформерів, наведених у табл. 3.3–3.6 видно, що найбільші значення належать дисахаридам з діаксиальним типом зв'язку. Таке розташування функціональних груп дає можливість спрогнозувати їх взаємодію з двовалентним іоном (у нашому випадку Ca<sup>2+</sup>) у разі симетричного просторового розташування. Для транс-конформерів GG, як найбільш стійких димерів, методом PM6 розраховано величини конформаційних переходів. Результати розрахунків наведено у табл. 3.7.

Таблиця 3.7 – Величини торсійних кутів (град.) перехідних станів та величини відповідних активаційних бар'єрів конформерів дисахариду GG

Перехід	$\varphi$ , град	$\psi$ , град	$\Delta E$ , кДж/моль
A→B	44,58	10,28	8,20
B→C	44,31	100,06	4,18
A→C	20,14	-140,42	26,61

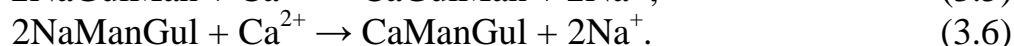
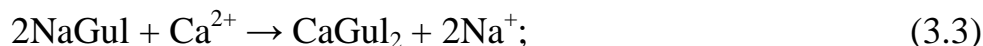
Усі конформаційні переходи характеризуються невисокими енергетичними бар'єрами – 8,2–26,6 кДж/моль. Максимальне значення (для перетворення A→C) становить 26,61 кДж/моль, інші переходи є високо лабільними у розглянутій системі. Це свідчить про достатню гнучкість наведених пар та легкому переходу у конформації, які необхідні для створення комплексів із катіонами металів, зокрема іонами кальцію.

З технологічної точки зору це свідчить також, що при надлишку в системі іонів Ca<sup>2+</sup> з'являється можливість здійснення усіх переходів незалежно від енергії активації, а це впливає на зменшення кількості водневих зв'язків і змінює

структурно-механічні властивості системи.

За обґрунтованих концентрацій бівалентних металів переходи здійснюються лише за умови енергетично вигідних шляхів. У цьому полягає суть коригування технологічних властивостей системи.

Виходячи з того, що за хімічною структурою альгінат натрію є речовиною з нерегулярною структурою, при квантово-хімічному моделюванні важливо проаналізувати можливість протікання наступних реакцій:



Розрахунки наведених систем було проведено методом РМ6 [93; 94] з повною оптимізацією геометрії з урахуванням впливу розчинника (води) у макроскопічному приближенні за методикою COSMO (метод B3LYP/6-31G\*) [94; 96; 97]. За отриманими результатами було визначено, що тепловий ефект екзотермічної реакції 3.3 перевищує  $\Delta H$  реакції 3.4 при цьому різниця становить 330 кДж/моль. Це свідчить про найбільшу вірогідність протікання реакції 3.3 з утворенням гелеподібної структури. Але з аналізу даних табл. 3.6 та 3.7 наочно видно, що протікання реакцій 3.5 та 3.6 цілком можливо за умов попереднього повного заміщення іонів натрію на іони кальцію у гулуруонат-гулуруонатних залишках.

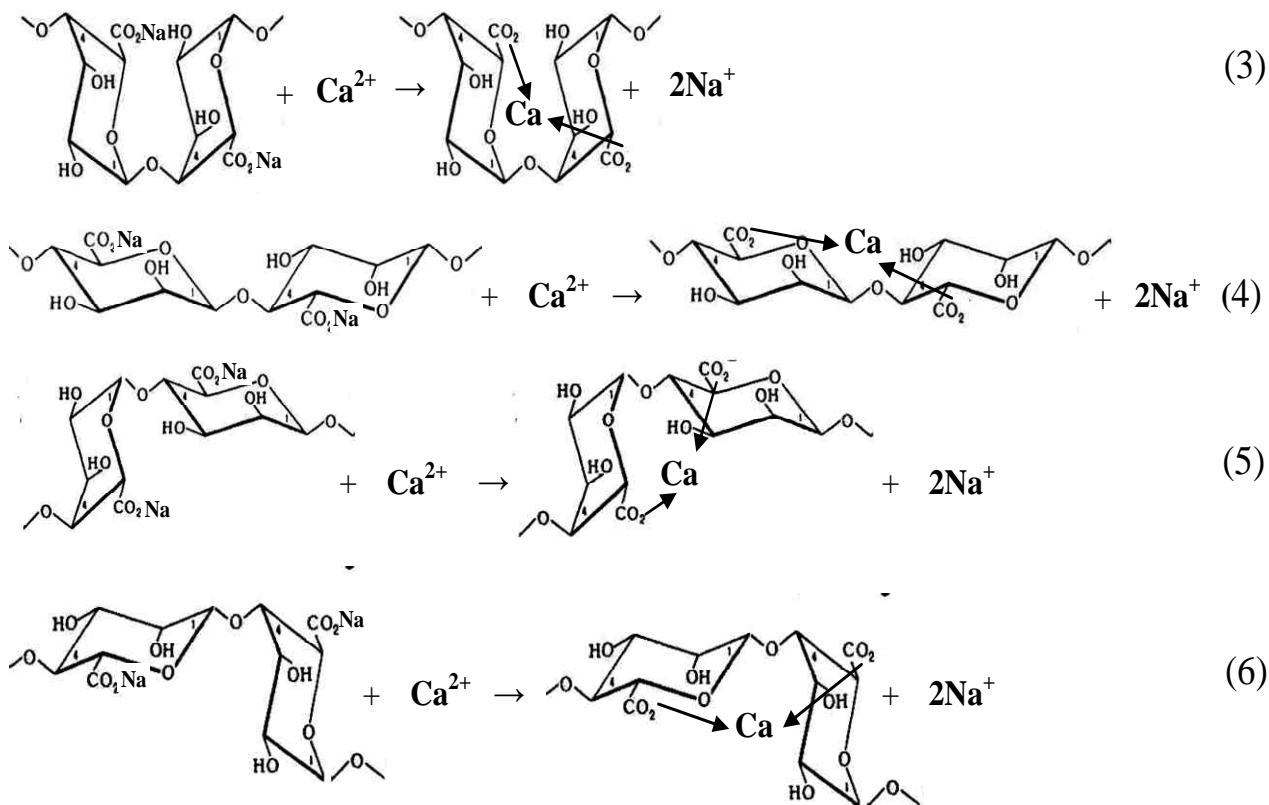


Рисунок 3.13 – Реакції іонного обміну у GG (3.3); MM (3.4); GM (3.5); MG (3.6) дисахаридах альгінату натрію

Кінцевою вірогідною стадією протікання реакції створення пружних гелів альгінату кальцію є рекомбінація в системі «Ca<sup>+</sup>–мануронат – мануронат». На рис. 3.13 наведено хімічний зміст реакцій 3.3–3.6.

З рис. 3.13 наочно видно, що іону кальцію найзручніше зайняти місце між двома гулуруонатними залишками, ніж потрапити у мануронат-гулуруонатну або гулуруонат-мануронатну ділянки. Просторово ускладнено також утворити іонний зв'язок у площині мануронат-димеру. Про можливість перебігу таких реакцій свідчать величини їх теплових ефектів, які наведено у табл. 3.3–3.7. Проте слід відмітити, що полімолекула альгінату натрію, просторово розгортаючись під дією сил розчинника, здатна до адитивності. Ланцюги при цьому утримуються за рахунок сил міжмолекулярної взаємодії і утворені зв'язки між кальцієм і залишками уронових кислот у тетрамерах мають вже зовсім інший характер (рис. 3.14).

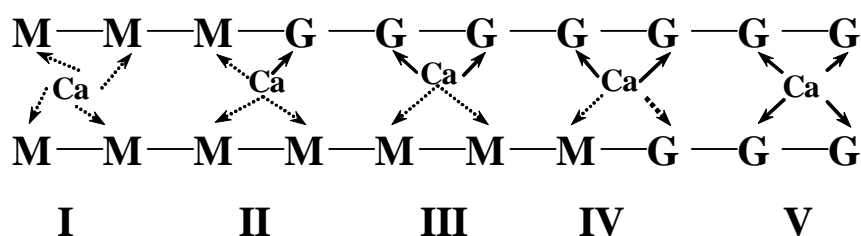
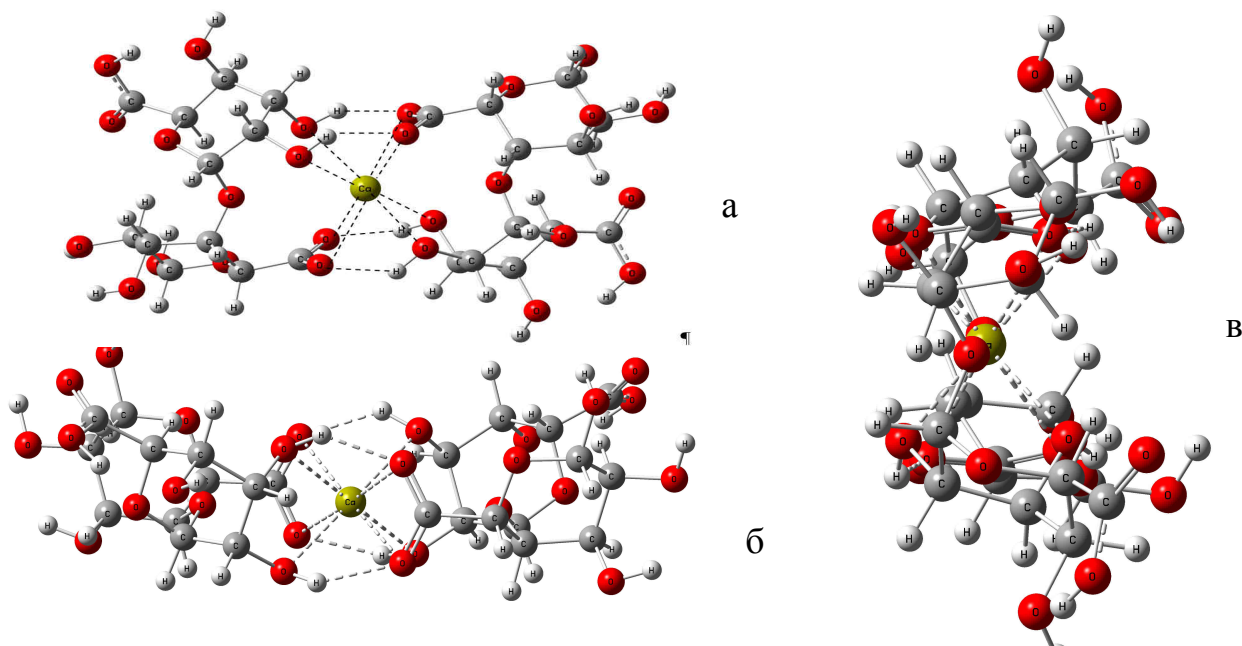


Рисунок 3.14 – Схема розташування іонів кальцію у поліланцюгах альгінату натрію

З рис. 3.14 видно, що кількість зв'язків іону кальцію збільшується за рахунок утворення комплексних зв'язків, які відрізняються від іонних довжиною, порядком та направленістю. На представлених фрагментах I–V (рис. 3.14) видно, що з мануронатними залишками утворюються зв'язки неміцні та невпорядковані (рис. 14), оскільки просторове розташування орбіталей валентних електронів у іоні кальцію не співпадає з геометрією розміщення карбоксильних груп залишків мануронової кислоти. З появою та збільшенням кількості гулуруонатних залишків, у яких карбоксильні групи знаходяться у найбільш зручному для утворення іонних зв'язків розташуванні, кальцієвий іон намагається, у першу чергу, просунути саме у G-скупчення, а при потраплянні на ділянку між чотирма G-залишками, навіть утворює хелатний комплекс (рис. 3.15) з симетрично розташованими силами, які мають однакові довжини та кути зв'язування [98].

Представлений комплекс складається з транс-димерів GG та являє собою елементарну ланку макросистеми альгінату, особливістю якої є здатність до адитивного росту у просторі як шляхом подовження полісахаридних ланцюгів, так і шляхом добудови наступних шарів.



**Рисунок 3.15 – Модель стійкого хелатного комплексу кальцій гулуронату: а–горизонтальна та б,в–фронтальні проекції**

Таким чином, проведений аналіз можливих структур хелатних комплексів показав, що найбільш стійкою виявляється структура з транс-орієнтацією полімерних ланок відносно один до одного, у яких має місце утворення восьми координаційних зв'язків іону кальцію з кисневими атомами та чотирьох водневих зв'язків ОН. Тепловий ефект реакції утворення наведеного на рис. 3.15 комплексу розраховано за методом  $B3LYP/6-31G^*$  і дорівнює 57,84 кДж, що добре співпадає з величиною теплового ефекту вищезначеної реакції заміщення, одержаною шляхом прямої калориметрії – 62,2 кДж. Утворення декількох наведених структур деформує ланцюг альгінату і, досягаючи стану рівноваги, замикається у коло, переводячи дозу-краплю у стан інкапсулянту. За таким механізмом утворюється перший шар новоутвореної оболонки. Далі процес нашарування продовжується, оскільки поліланцюги альгінату мають здатність до адитивності у просторі, а переміщення кальцію з подальшим ущільненням оболонки за рахунок утворення нових хелатів, здійснюється завдяки дифузії іонів структуроутворювача в матрицю гелю.

Таке виникнення просторової структури альгінату кальцію можливо за умови стехіометрично обґрунтованого співвідношення іонів кальцію до карбоксильних залишків альгінату натрію у спільному розчиннику і в перерахунку на концентрацію GG-блоків. Ці результати фундаментальних аналітичних досліджень необхідно обов'язково враховувати під час обґрунтування співвідношень натрію альгінату та іонів кальцію в технологічній системі, що в кінцевому випадку зводиться до обґрунтування рецептурного складу продукту.

Отримані у ході квантово-хімічного моделювання та калориметричного аналізу величини теплових ефектів реакції заміщення іонів натрію на іон кальцію у системі альгінату, дозволяють використовувати апробовані методи

молекулярної механіки та квантової хімії для подальшого вивчення систем на основі альгінату та інших представників класу полісахаридів, але тільки за умов протікання цих реакцій у розчинах (гелях).

З результатів квантово-хімічного моделювання стає очевидним, що для подальшої реалізації інноваційної стратегії необхідно використовувати високов'язкі розчини альгінату натрію, що містить більшу частку гулуруонатних залишків. Згідно з цим, нами було використано саме такий вид натрієвої солі альгінової кислоти, де частка мануруонатів складала 30%, гулуруонатів – 70%, а співвідношення M:G становило 0,45. Частка чистого альгінату натрію у сировині – не менше 95%. Відповідно до цього кількість вмісту гулуруонатних залишків у 1 г альгінату натрію становить 0,665 г, тобто для здійснення реакції структуроутворення у системі «Ca<sup>2+</sup>:4G» для означеної кількості G-блоків необхідна наявність іонів кальцію – 0,16625 г ( $\omega_{\text{CaCl}_2}=0,46\%$ ) за умов, що усі гулуруонатні залишки спаковані за принципом ділянки V (рис. 3.15), тобто за «ідеальних умов». За реальних умов, у разі використання для досліджень високов'язкого альгінату натрію, кількість G-тетрамерів знаходиться в межах 35–84,0 % від загальної кількості гулуруонатних залишків, що відповідає області концентрацій альгінату натрію від 0,5 до 1,2% відповідно. Отже, для повномірного протікання реакції структуроутворення, з метою отримання м'яких та пружних капсул масове співвідношення гулуруонатів та кальцієвих іонів для даного виду альгінату натрію повинно бути 0,33 : 0,083. Проте під час капсулоутворення також слід враховувати дифузійні процеси, для прискорення і повноти яких необхідно концентрацію вільних іонів кальцію збільшити майже вдвічі.

#### **3.4. Визначення впливу, властивостей та складу розчинів технологічного середовища на характеристики альгінатних капсул**

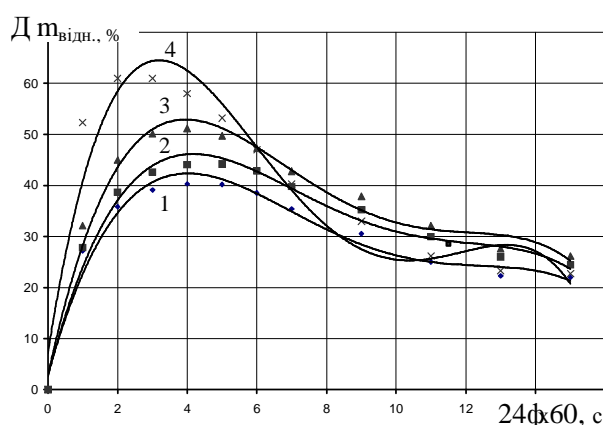
Фізичною суттю капсулоутворення є приріст маси стінки капсули ( $\Delta m_{\text{відн}}$ ) за рахунок фазових перетворень альгінату натрію в альгінат кальцію (реакції 1 і 2), які є результатом дифузії зшиваючого агента із інкапсулянта в середовище альгінату натрію. Оскільки інкапсулянт – це багатокomпонентна система, що складається з вільних іонів, розчинника та молекул додатково розчинених речовин, і за станом є колоїдною системою, то можна передбачити, що на інтенсивність приросту маси альгінатної оболонки будуть одночасно впливати колігативні властивості розчину та колоїдний стан його складових. При цьому, вірогідно, що концентрація молекулярних складових розчину, обтяжених молекулами розчинника, стане стримувати дифузію зшиваючого агента на межі фаз пропорційно їх власній концентрації, не змінюючи при цьому хімічного потенціалу системи, а вільні іони, присутні в інкапсулянті, суттєво вплинуть на величину хімічного потенціалу. За цих умов склад інкапсулянту та концентрації його складових повинні бути обґрунтованими.

У науковій літературі описано деякі наукові принципи отримання капсульованих аналогів червоної та чорної ікри [72; 73], різних соусів, в тому числі емульсійного типу, кетчупів, гірчиці [99], капсульованих фруктових соків

та пюре [75]. Інформації про вплив на капсулоутворення компонентів із клітинною структурою, а також життєздатних об'єктів, тобто біологічно активних, нами не виявлено. Важливою є інформація про поведінку сформованих капсул у різних технологічних середовищах. У даному випадку під технологічним середовищем маємо на увазі рецептурну суміш речовин для конкретного кулінарного виробу або саму кулінарну продукцію, тому слід дослідити поведінку напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» у рідких харчових технологічних середовищах, виготовлених на основі розчинів сахарози (молекулярні розчини), натрію хлориду (іонні розчини) та етилового спирту (полярний розчинник, дегідрат-агент). Оскільки передбачається використання капсул у складі солодких страв, то прогнозується, що технологічне середовище буде утворене на основі розчинника води або водно-спиртового розчину.

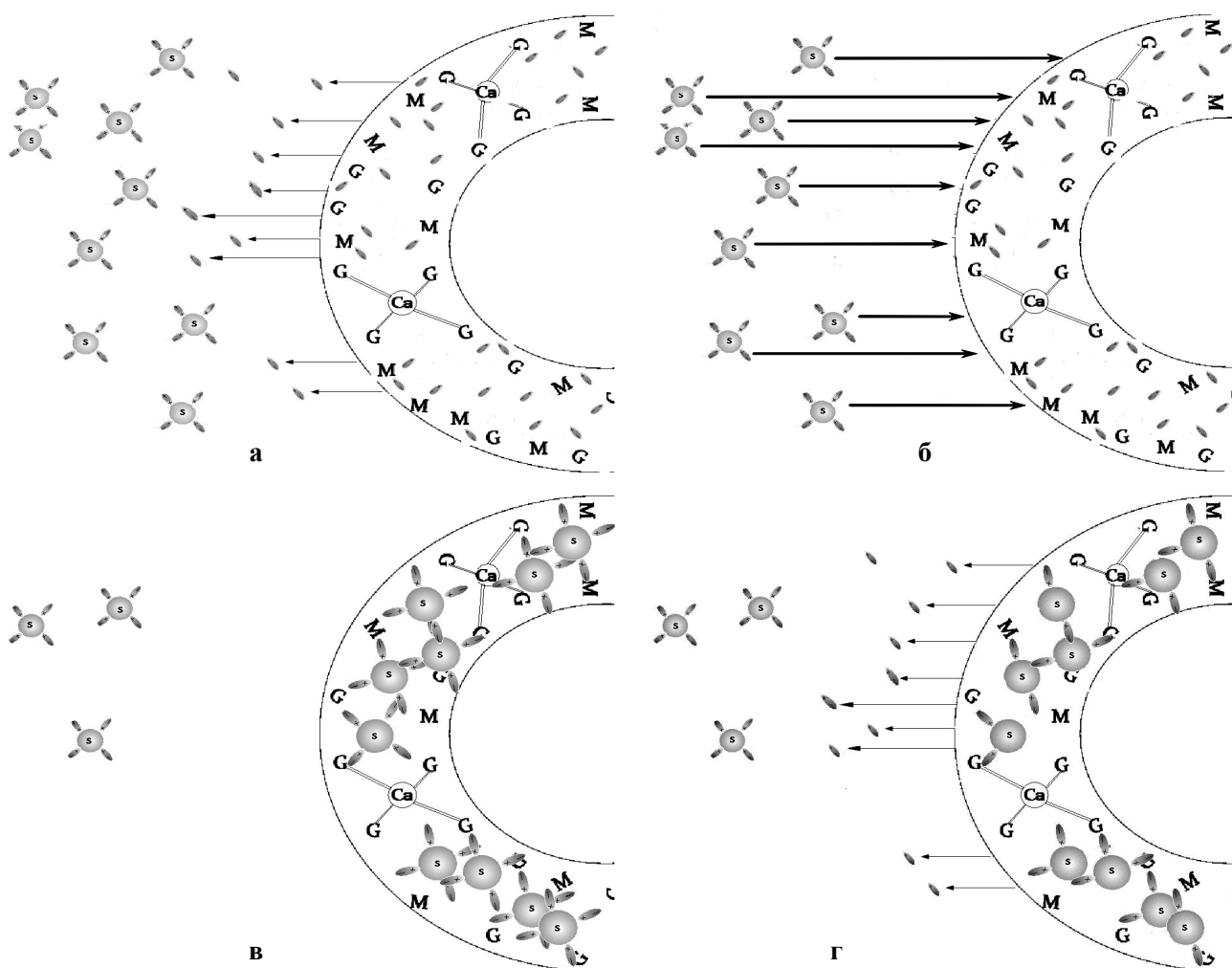
Смакорегулюючими агентами виступають у більшості випадків цукор та кухонна сіль. У разі використання першого компоненту, утворюються молекулярні розчини. Розчини, що містять етиловий спирт, також відносяться до молекулярних, але з іншим механізмом дії. Якщо за базову складову обрано кухонну сіль, то реакції утворення смаку та аромату відбуваються у розчинах, що містять вільні іони, тобто у електролітах. У даному випадку слід враховувати явище осмосу.

Для обґрунтування складу технологічного середовища доцільним стало вивчення впливу виду розчинника і визначення ролі концентраційного чинника на стійкість капсул, а також дослідження поведінки капсул у різних технологічних системах. Досліджено поведінку капсул ( $\tau_{\text{експозиції}} = (1-5) \times 60$  с;  $C_{(\text{NaAlg})_n} = 1-1,2\%$ ;  $C_{\text{Ca}^{2+}} = 0,5\%$ ), що підлягали експозиції у розчинах сахарози (5–20%), натрію хлориду (5–20,0%) та етилового спирту (5–20,0%). За цих умов між капсулами (в тому числі і їх умістом) та їх оточенням дуже вірогідний масообмін, який може суттєво вплинути на властивості складових системи «середовище–капсула». Проведені дослідження дозволили встановити закономірності у зміні маси капсул протягом терміну зберігання. Результати дослідження впливу розчинів сахарози представлені на рис. 3.16.



**Рисунок 3.16** – Динаміка зміни маси капсул за концентрації сахарози у технологічному середовищі, %: 1, 2, 3, 4 – 5, 10, 15, 20 відповідно ( $t = 20...25^{\circ}\text{C}$ )

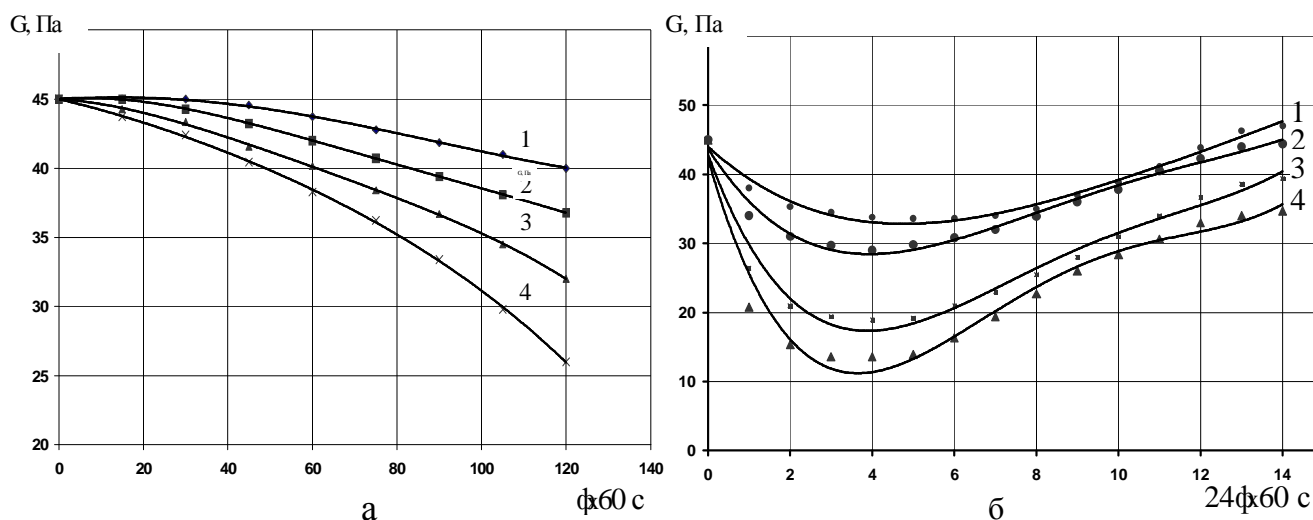
Встановлений характер змін можливий, якщо передбачити існування механізму дифузії сахарози до капсул за схемою, наведеною на рис. 3.17.



**Рисунок 3.17 – Процес дегідратації (а), кумуляції асоціатів сахарози (б) та їх розподілу в матриці «AlgNa-Ca<sup>2+</sup>» (в), а також повторна дегідратація (г) капсульних оболонок**

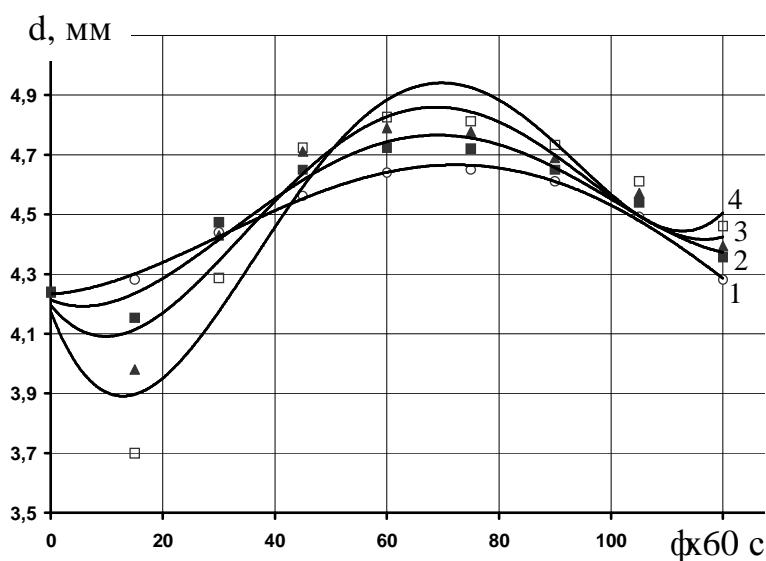
Згідно із закономірностями динаміки зміни маси капсул (рис. 3.16), можна передбачити, що гідратовані молекули сахарози, розташовані у колі полярних сил кальцій-натрій альгінатного гелю, наближаються до зовнішнього шару оболонки капсули (рис. 3.17 а) і завдяки однаковій природі походження, проникають у неї, розгалужуючи при цьому поліланцюгові волокна (рис. 3.17 б), що, у свою чергу, призводить до розтягування оболонок. Асоціати розміщуються переважно поблизу MM, GM або MG-блоків, оскільки з утворенням хелатних комплексів кальцію із гулуранатними залишками значно зменшується кількість центрів міжмолекулярної взаємодії, у зв'язку з чим знижується хімічний потенціал даної ділянки.

Щоб підтвердити це припущення, досліджено залежність модуля пружності гелів, які витримувались в розчинах сахарози (рис. 3.18) та приріст товщини оболонок (рис. 3.19) методом мікроскопії.



**Рисунок 3.18 – Динаміка пружності модельних гелів «AlgNa-Ca<sup>2+</sup>» ( $\omega_{\text{NaAlg}} = 1\%$ ;  $C_{\text{Ca}^{2+}} = 0,045$  моль/л) у розчинах сахарози, %: 1, 2, 3, 4 – 5, 10, 15, 20 відповідно протягом  $\tau_{\text{зберіг.}} = 2$  год (а) і  $\tau_{\text{зберіг.}} = 14$  діб (б)**

З рис. 3.18 (а) видно, що у короткостроковий термін до  $120 \times 60$  с зменшення пружності капсул закономірне явище для всіх розчинів технологічного середовища зі збільшенням концентрації сахарози зростає. Тривала експозиція капсул призводить до того, що у розчинах із більшою концентрацією сахарози модуль пружності різко зменшується (рис. 3.17) оболонки стоншуються; по завершенню дифузійних переходів модуль пружності сферичних об'єктів прямує до початкових значень.



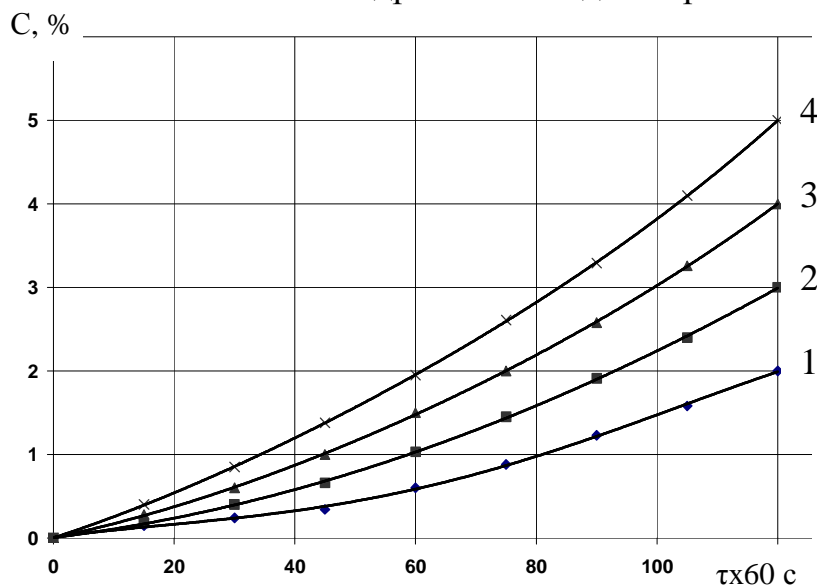
**Рисунок 3.19 – Динаміка діаметра капсул у розчинах сахарози, %: 1, 2, 3, 4 – 5, 10, 15, 20 відповідно**



Зміни маси та модуля пружності стали основною вивчення розмірних характеристик капсул (рис. 3.19). Криві, наведені на рис. 3.14, доводять існування дифузійних переходів речовин із зовнішнього середовища до оболонки та навпаки. Так, на початку експозиції у розчинах із концентраціями сахарози (10...20,0%) капсули зменшуються у діаметрі, але після цього швидко збільшуються у розмірах і знову повертаються до початкового стану. З цього можна зробити висновок, що система на початку експозиції прагне досягти концентраційної рівноваги між зовнішнім середовищем та альгінатною оболонкою, тому остання «віддає» молекулярно зв'язану вологу для розбавлення концентрованих розчинів, але хімічна спорідненість сахарози та альгілату натрію спричиняє дифузію гідратованих молекул сахарози в оболонку (рис. 3.18) і цей перехід є переважним, ніж концентраційна рівновага.

Встановлено, що зі збільшенням концентрації сахарози капсули набувають більш солодкого смаку, характеризуються меншою величиною опору до руйнування. Зниження еластичності оболонок пов'язано з тим, що у разі накопичення у сітці гелю молекул сахарози, які мають просторову будову, втрачається вагома кількість водневих зв'язків. При цьому поліцукрові волокна відокремлюються один від одного на максимальну відстань дії міжмолекулярних сил тяжіння, які швидко руйнуються за наявності навіть невеликого тиску.

Дуже важливо інформативно виявити, чи альгінатна оболонка є проникною для розчинених речовин у поживне технологічне середовище інкапсулянта або матриця кальцій-натрій альгінатного гелю виступає у ролі сорбенту для смакових речовин. Для встановлення закономірностей вилучено вміст капсули, а оболонки відмиті у дистильованій воді. За контроль обрано капсули, витримані у воді. За результатами аналізу усіх зразків визначено, що смаку набувають тільки оболонки (рис. 3.20). Технологічне поживне середовище за органолептичними показниками не відрізнялось від контролю.



**Рисунок 3.20 – Динаміка накопичення сахарози в альгінатних оболонках, що витримувалися у розчинах, %: 1, 2, 3, 4 – 5, 10, 15, 20 відповідно**

Встановлено, що смак пропорційно залежить від часу експозиції капсул у розчині сахарози та концентрації розчиненої речовини.

Дещо іншу закономірність зміни маси встановлено у розчинах на основі натрію хлориду. Результати гравіметричного аналізу представлені на рис. 29, з якого видно, що концентрація вільних іонів майже не впливає на рівень приросту маси зразків. Максимальний приріст  $\Delta m_{\text{вдн}}$  складає близько  $16 \pm 1,0\%$  для розчинів розглянутих концентрацій. Таку закономірність можна пояснити тим, що розчин натрій хлориду – це електроліт. Тому у системі розчину електроліту містяться позитивно заряджені іони натрію та негативні частинки хлорид-іонів, навколо яких згруповані диполі води (рис. 3.21).

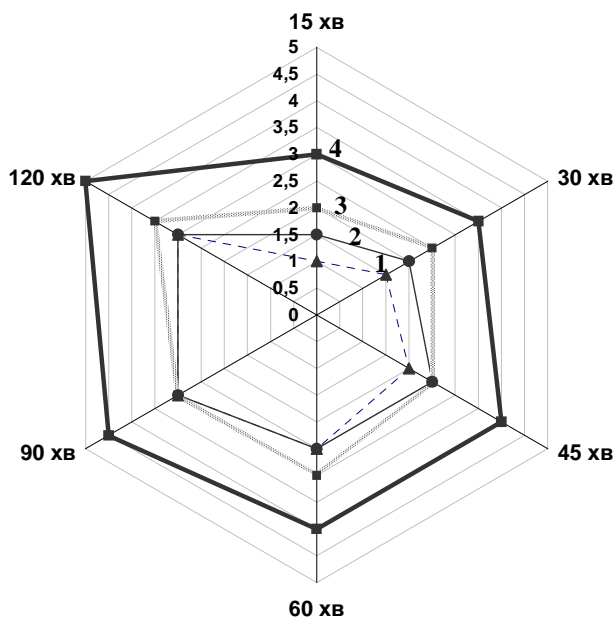


Рисунок 3.21 – Динаміка інтенсивності солодкого смаку альгінатних оболонок за концентрації сахарози в технологічному середовищі, %: 1, 2, 3, 4 – 5, 10, 15, 20 відповідно

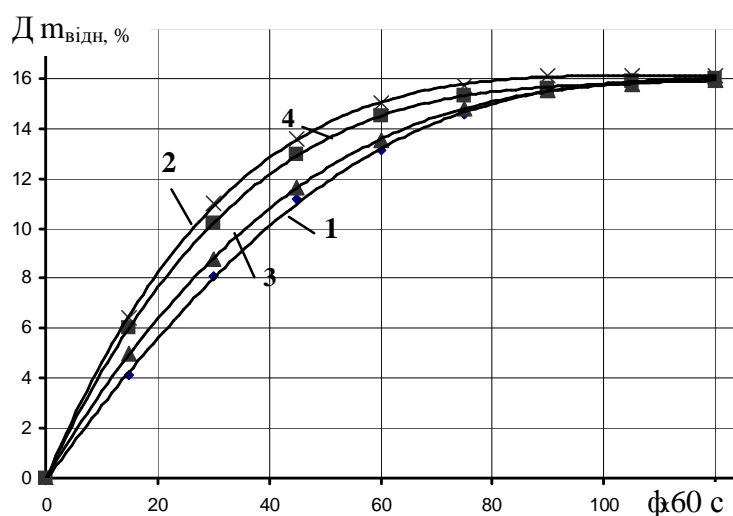
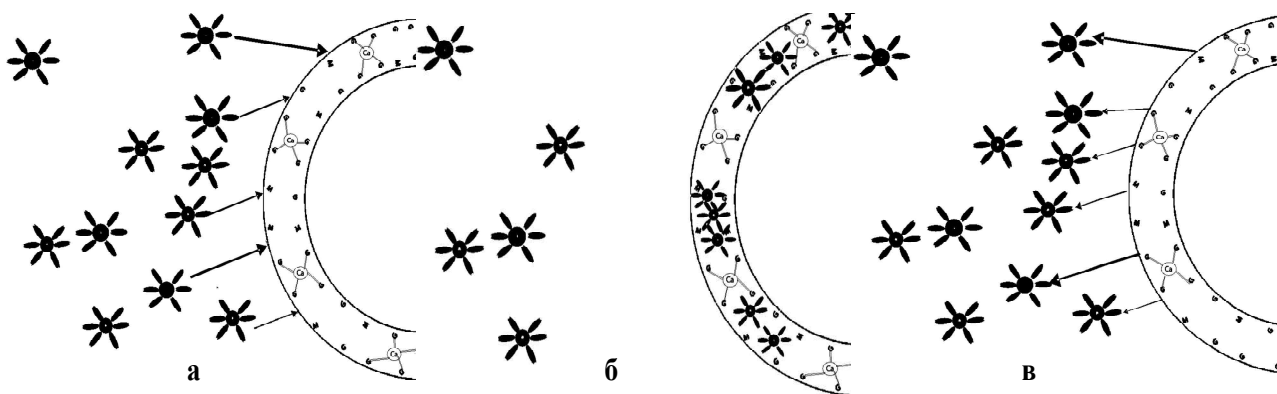


Рисунок 3.22 – Динаміка приросту маси альгінатних оболонок за концентрації NaCl, %: 1, 2, 3, 4 – 5, 10, 15, 20 відповідно



**Рисунок 3.23 – Механізм кумуляції (а), дисоціації (б), вивільнення (в) гідратованих іонів  $\text{Na}^+$  та  $\text{Cl}^-$  у системі альгінатної оболонки**

Згідно із закономірностями динаміки зміни маси капсул (рис. 3.24), можна передбачити, що гідратовані іони наближаються до оболонки та дифундують у її верхні шари, оскільки подальше їх проникання ускладнено двома чинниками. По-перше, накопичення диполів розчинника, наприклад навколо натрієвого іону, утворює частинку більшу, ніж сам іон. Така частинка втрачає рухливість та можливість утворення хімічних зв'язків як ковалентного, так і іонного типів. Її заглиблення у шари оболонки капсули відбувається тільки завдяки гідратній «сорочці», яка є активатором створення водневих зв'язків із потенційними центрами зв'язування, в якості яких виступають функціональні групи системи альгінату, що мають частково негативний заряд. Такі сили міжмолекулярної взаємодії значно менші, ніж ті, що виникають у випадку із асоціатами сахарози. По-друге, карбоксильні групи MG, GM та MM-блоків зв'язані з іонами натрію, тому гідратований натрієвий іон має антагоністичну дію до системи альгінату натрію у цілому, а гідратований хлорид-іон взагалі не має належного для зв'язування позитивного заряду. Тому за своєю природою та електронною будовою описані агрегати можуть бути затримані тільки у зовнішніх шарах матриці геля і тільки завдяки наявності водневих зв'язків, можливість утворення яких надається розташуванням диполів розчинника.

Гідратовані іони, що містяться у розчині електроліту, поступаються розмірами асоціатам сахарози, тому не здатні віддалити альгінатні волокна один від одного. У зв'язку з цим капсули при роздавлюванні міцніші та більш пружні, ніж ті, що зберігались у розчинах сахарози.

За органолептичними показниками альгінатні оболонки зразків мали солонуватий присмак, який під час промивання у дистильованій воді майже зникав. Таким чином, зростання маси капсульних оболонок відбувається здебільшого внаслідок гідrataції матриці кальцій-натрій альгінатного гелю. Органолептична оцінка капсул доводить правильність судження про те, що хлорид-іони не можуть утворити зв'язку з жодним присутнім у системі атомом тому, що накопичення електронної густини у полі даного аніону – реакція досить енергетично витратна і її тепловий ефект занадто більший, ніж теплота руйнування існуючих зв'язків хелатного комплексу з кальцієм та іонного зв'язку залишків уронових кислот із натрієм, а катіони натрію взагалі не здатні

брати участь у реакціях іонного обміну внаслідок їх антагонізму із присутніми зв'язаними частинками альгінатної матриці.

Досить інформативним щодо визначення взаємодії гелю «AlgNa-Ca<sup>2+</sup>» з технологічним середовищем є результати зі зберіганням зразків у розчинах етилового спирту з концентраціями 5, 10, 15 та 20% (рис. 3.24).

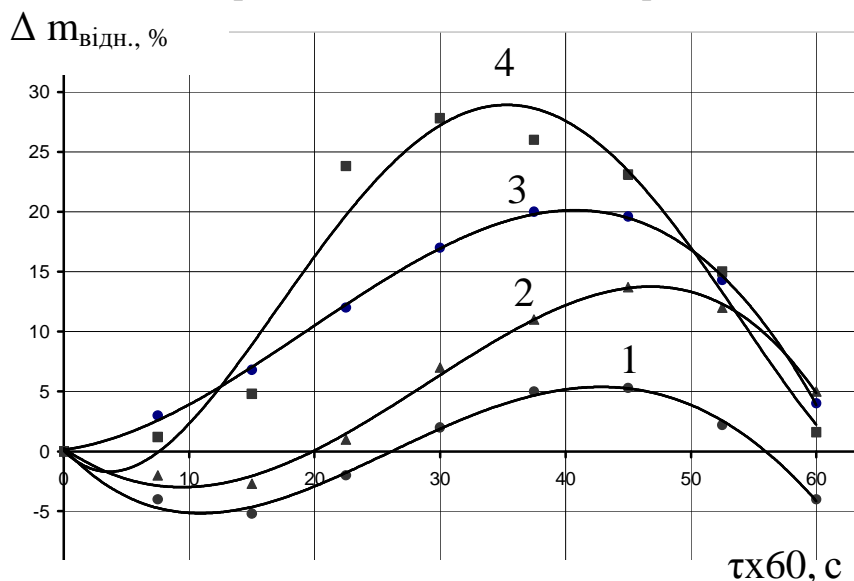


Рисунок 3.24 – Динаміка зміни маси альгінатних оболонок за концентрації C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, %: 1, 2, 3, 4 – 5, 10, 15, 20 відповідно

З рис. 3.24 видно, що час зростання маси у розчинах на основі етилового спирту – явище досить короткочасне і спостерігається тільки у розчинах із невеликою його концентрацією. Протягом (15–20) × 60 с зразки втрачають здобутий надлишок і їх маса наближається до початкових значень. За результатами гравіметрії зразки, що підлягали експозиції у 15 та 20%-их розчинах етилового спирту, втрачали масу на початку спостережень, після цього збільшувались на 10–12% і знов прямували до початкових значень маси. З цього випливає, що молекули етилового спирту, внаслідок властивій їм гігроскопічності, спроможні у деякій мірі зневоднити альгінатні оболонки капсул, після чого в результаті спільної хімічної природи альгінату натрію та етанолу наближати до сферичного тіла і навіть на деякий час дифундувати в оболонку, а після цього знов переходити у розчин. У результаті органолептичної оцінки досліджуваних зразків виявлено спиртовий присмак оболонок, що свідчить про ймовірність протікання описаних молекулярних переходів. При цьому накопичення смаку корелювало зі збільшенням концентрації етилового спирту у розчині. Великі значення  $\Delta m_{\text{відн.}}$ , що визначено за результатами гравіметрії низькоконцентрованих розчинів, свідчать про перехід молекул етилового спирту до гелю «AlgNa-Ca<sup>2+</sup>» разом із гідратною оболонкою. Даний процес відбувається аналогічно процесу за використання сахарози у складі технологічного середовища. Наведені результати досліджень покладено в основу обґрунтування рецептурного складу технологічного середовища для капсул, що дозволяє спрогнозувати поведінку системи в цілому.

### 3.5. Наукове обґрунтування технологічних параметрів одержання харчових поживних середовищ для біфідобактерій

Згідно з проведеними аналітичними дослідженнями виявлено, що в науковій та спеціалізованій літературі відсутні відомості щодо технології харчових поживних середовищ із біфідобактеріями, що є не тільки сумішшю, призначеною для капсулювання, а й водночас рецептурним компонентом харчового продукту. Тому ці дослідження є достатньо новими як в науковому плані, так і в їх практичній реалізації.

У межах дисертаційного дослідження, обґрунтовано що кількісний та якісний склад сироватки сприяє повномірному відтворенню життєвих функцій мікроорганізмів і протіканню їх метаболічних процесів. Активовані у відновленій сироватці підсирній пробіотичні мікроорганізми, які у мають бути закапсульовані, продукують корисні речовини, це, в свою чергу, диктує умови створення кислотостійкої оболонки [71].

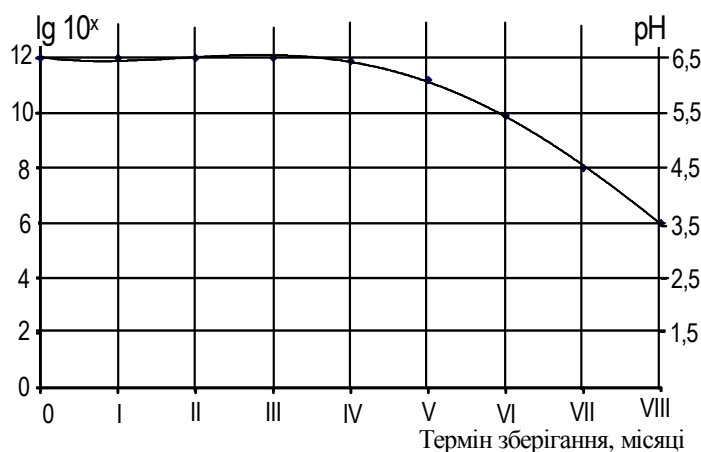
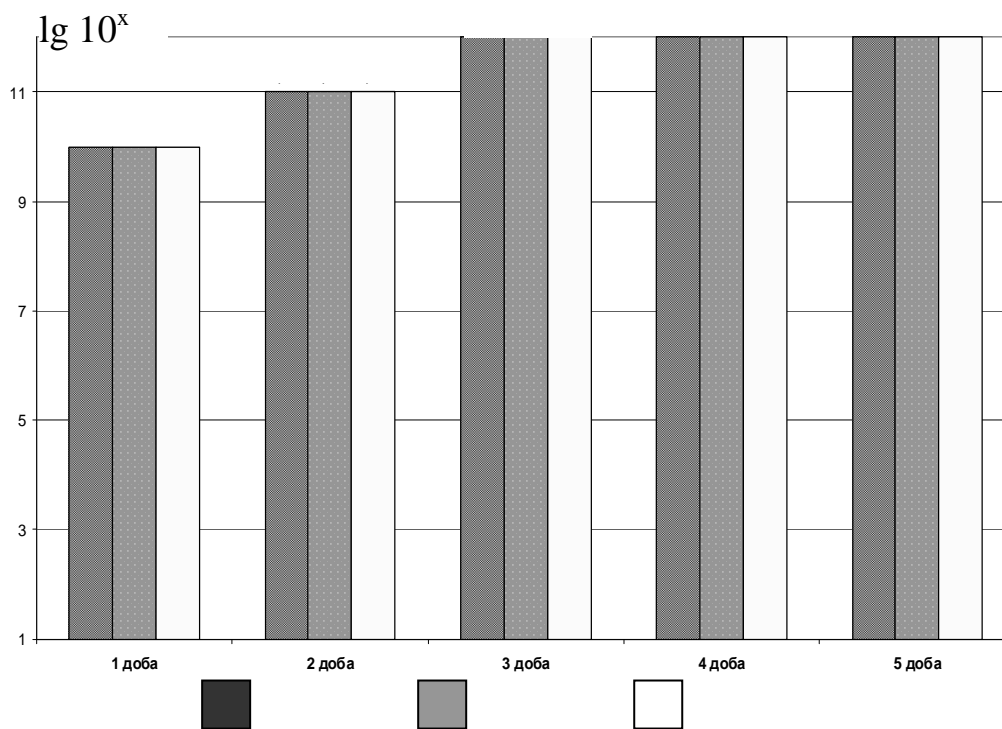


Рисунок 3.25 – Динаміка титру (колонієутворююча здатність) біфідобактерій виду *Bifidobacterium lactis* BB 12 у сироватці та зміна рН під час зберігання ( $t = 4-6^{\circ}\text{C}$ )

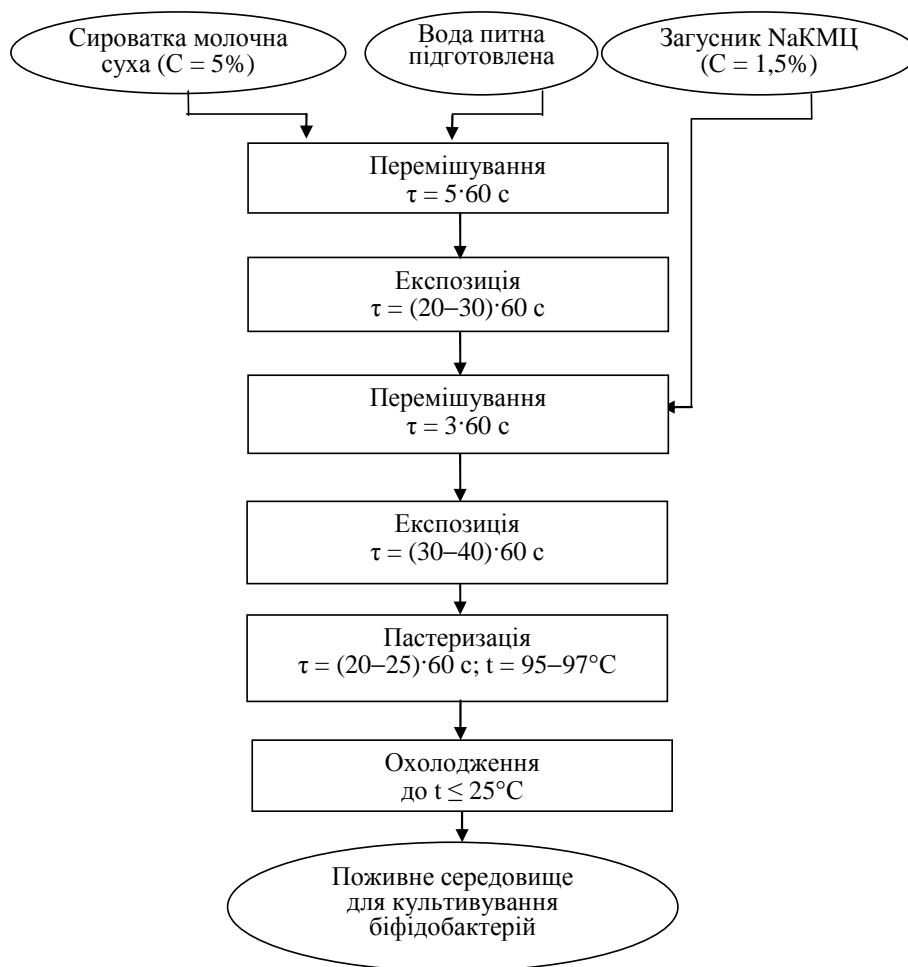
На рис. 3.25 наведено динаміку титру пробіотичних мікроорганізмів у сироватці протягом восьми місяців зберігання. Видно, що максимальний титр не змінювався протягом чотирьох місяців випробувань. Наприкінці встановлено зниження рН досліджуваних систем з 6,5 до 3,5 і з'явилися відчутні ознаки псування. При цьому у зразках, забарвлених за Грамом, інших видів бактерій визначено не було. Одночасно зі зниженням рН, спостерігалось явище седиментації колоній, а це негативно впливало на подальшу активацію росту, створювало умови боротьби за субстрат. Для того, щоб уникнути цих негативних чинників активації, систему необхідно постійно перемішувати, а це впливає на збільшення собівартості. Тому нами було прийнято рішення про внесення до системи загусника, який підвищить в'язкість середовища і дозволить розподілитися колоніям за всім об'ємом рівномірно до зони аеробіозу. В якості загусника було обрано натрій карбоксиметилцелюлозу, але необхідним стало вивчення його впливу на життєздатність бактерій. Результати наведені на рис. 3.26.



**Рисунок 3.26 – Вплив концентрації натрій карбоксиметилцелюлози на колонієутворюючу здатність біфідобактерій виду *Bifidobacterium lactis*: – 0,5%; – 1,0%; –1,5%.**

З рис. 3.26 видно, що кількість життєздатних мікроорганізмів не зменшується, а зростання колоній (за результатами візуальних спостережень) відбувається рівномірно у всій товщі середовища. Відсутність даних щодо 2%-ої концентрації загусника пов'язано з тим, що консистенція одержаної суміші дуже в'язка, що, по-перше, унеможливило створення пасажів, по-друге, не підтримує адгезійних властивостей біологічних об'єктів.

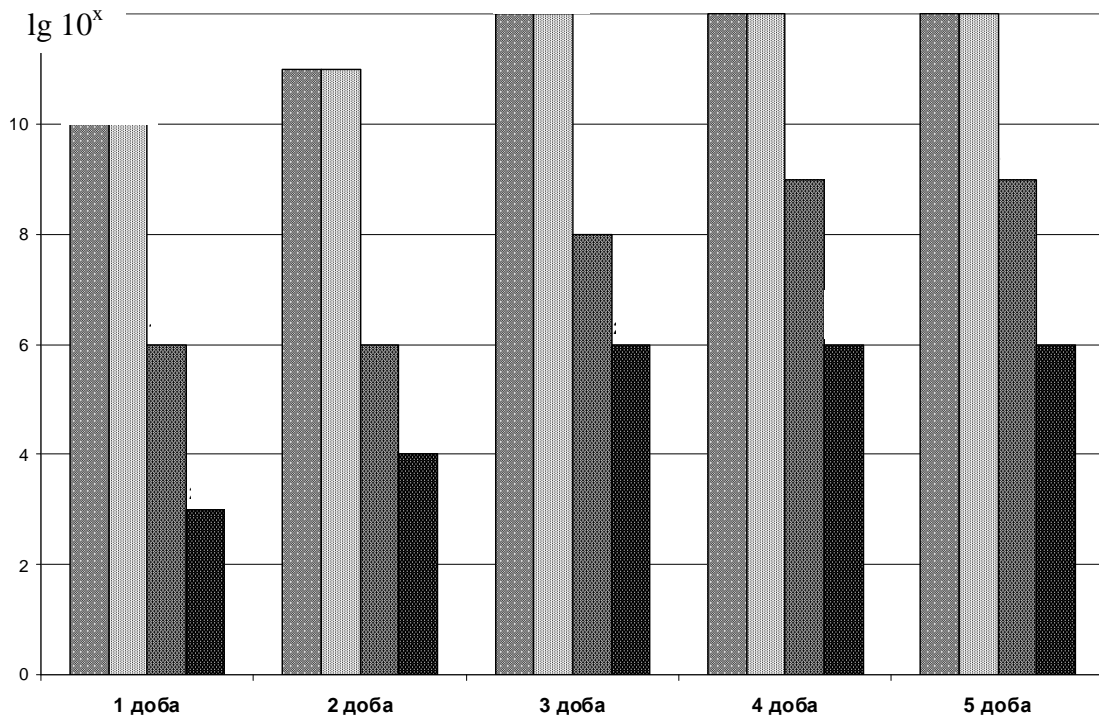
Таким чином, у межах наукових досліджень обґрунтовано принципову технологічну схему виробництва поживного середовища для про біотичних мікроорганізмів (рис. 3.27).



**Рисунок 3.27 – Принципова технологічна схема виготовлення технологічних поживних середовищ на основі сироватки молочної**

З аналізу даних видно, що особливістю технологічного процесу підготовки середовища є його пастеризація при 95–97°C протягом  $(20-25) \times 60$  с, яка забезпечує необхідні умови мікробіологічної чистоти [64]. За компонент рецептурної суміші було обрано концентрацію натрій КМЦ – 1,5%.

На основі аналізу чинників про явище осмотичного тиску на клітинні мембрани мікроорганізмів, нами вивчено вплив вільних іонів кальцію на активність біфідобактерій виду *Bifidobacterium lactis* BB 12. Досліджено систему «кальцій хлорид – розчин сироватки молочної – біфідобактерії» за опрацьованою методикою створення пасажів [100]  $C_{CaCl_2} = 0-2\%$ ; C (сухих речовин у сироватці молочної відновленій) = 5,0%; титр біфідобактерій BB 12 =  $10^{12}$  КУО/г (рис. 3.28).



**Рисунок 3.28 – Вплив концентрації іонів кальцію на колонієутворюючу здатність біфідобактерій *Bifidobacterium lactis* BB 12**

■ – 0%; ■ – 0,5%; ■ – 1,0% ■ – 2,0%

З рис. 3.28 видно, що максимальне накопичення біомаси відбувається у безсольовому розчині та у розчині з концентрацією вільних іонів кальцію 0,5%. Саме ця концентрація, яка є достатньою з точки зору капсулоутворення, була обрана за раціональну та використана у подальших дослідженнях.

За інших концентрацій іонів кальцію  $0,5 \leq C_{Ca^{2+}} \leq 2,0\%$  спостерігається гальмування процесів зростання колоній, пов'язане з осмотичним тиском на клітинні мембрани.

Під час вивчення системи «кальцій хлорид – розчин сироватки молочної біфідобактерії – загусник полісахаридної природи» за умов концентрації розчину солі – 0,5%, титру бактерій –  $10^{12}$  КУО/мл, концентрацією сухих речовин молочної сироватки – 5,0% та концентрації натрій КМЦ 1,5% було встановлено, що компоненти суміші не конкурують між собою і не зменшують життєвої активності біфідобактерій протягом терміну зберігання.

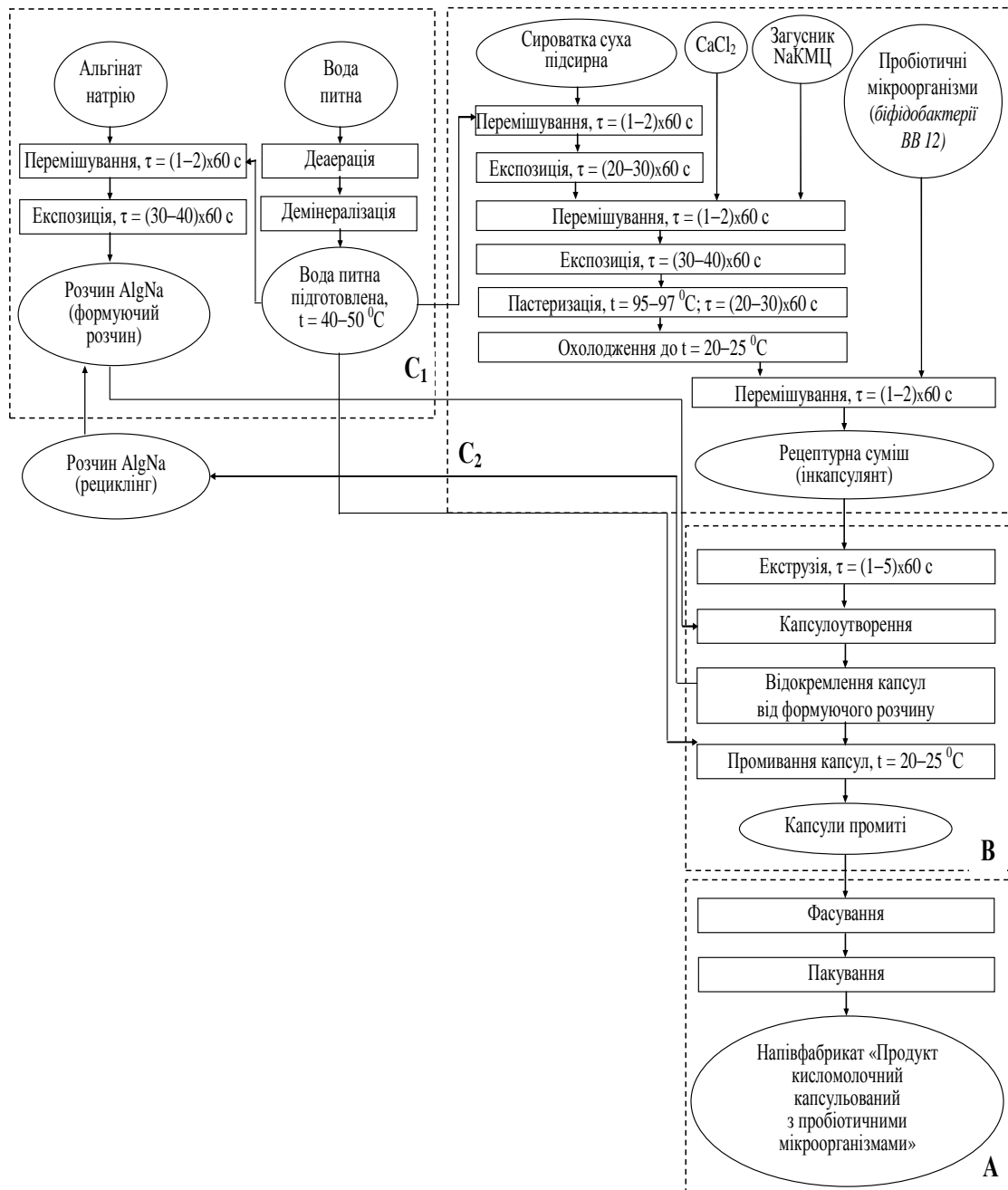
Встановлені закономірності щодо впливу вільних іонів кальцію, які містяться у розчині кальцій хлориду та зв'язаних з целюлозним залишком іонів натрію на колонієутворюючу здатність біфідобактерій, дозволили обґрунтувати склад інкапсулянту, який забезпечує колонієутворюючу здатність пробіотичних мікроорганізмів у рецептурній суміші, наведеній у табл. 3.8.



Таблиця 3.8 – Рецептурна суміш продукту кисломолочного з пробіотичними мікроорганізмами

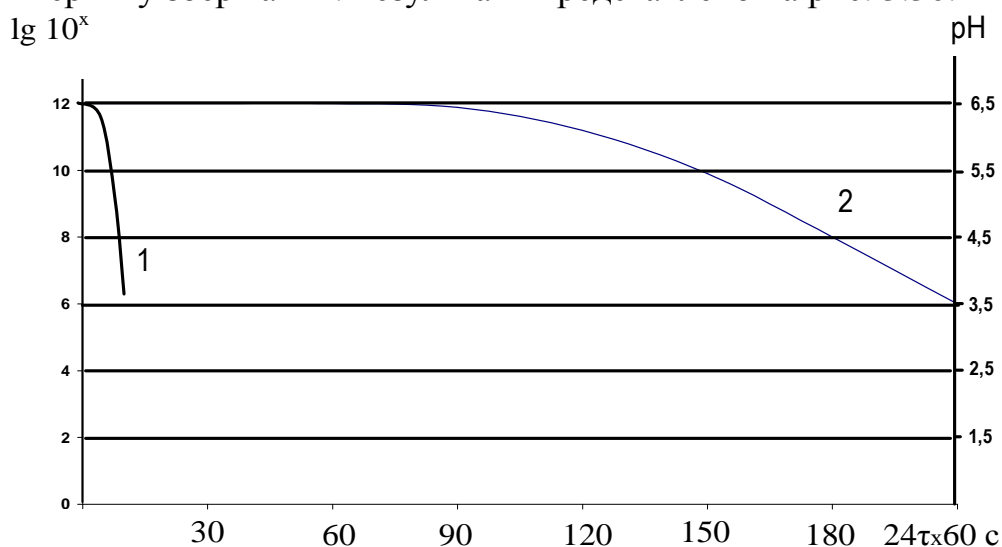
Рецептурний компонент	Витрати сировини на 100 г, г	
	брутто	нетто
Альгінат натрію	0,78	0,78
Вода питна	38,62	38,62
<i>Маса напівфабрикату «Розчин альгінату натрію»</i>	–	39,4
Сироватка суха підсирна	3,03	3,03
Натрій карбоксиметилцелюлоза	0,91	0,91
Кальцій хлорид	0,30	0,30
ВВ-12	0,064	0,064
Вода питна	56,296	56,296
<i>Маса напівфабрикату «Рецептурна суміш, що підлягає капсулюванню»</i>	–	60,6
ВИХІД:	–	100,0

З врахуванням цього розроблено технологічну схему одержання капсульованих біфідобактерій (рис. 3.29).



**Рисунок 3.29 – Технологічна схема виробництва напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»**

Пробіотичні мікроорганізми, уміщені у кислотостійку оболонку, мають низку переваг над існуючими аналогами. Вивчення їх життєвої активності у запропонованій транспортній формі є необхідним, оскільки на даний момент не існує кислотостійких форм для життєздатних пробіотиків, що складаються з речовин, які не заборонені у харчуванні. Проведено мікробіологічне дослідження щодо чистоти культури *Bifidobacterium lactis* BB 12. Для цього було виготовлено мікробіологічний препарат та пофарбовано їх за методом Грама. Встановлено, що в капсулі знаходяться тільки мікроорганізми штаму *Bifidobacterium lactis* BB 12. Визначено, що альгінатна капсула надійно захищає живі мікроорганізми від дії зовнішнього середовища і сприяє їх активному зростанню. Надалі досліджувалась колонієутворююча здатність біфідобактерій протягом терміну зберігання. Результати представлено на рис. 3.30.



**Рисунок 3.30 – Динаміка титру (колонієутворююча здатність) біфідобактерій та зміна рН в умовах капсули під час зберігання: 1 –  $t = 20\text{--}25^\circ\text{C}$ ; 2 –  $t = 4\text{--}6^\circ\text{C}$**

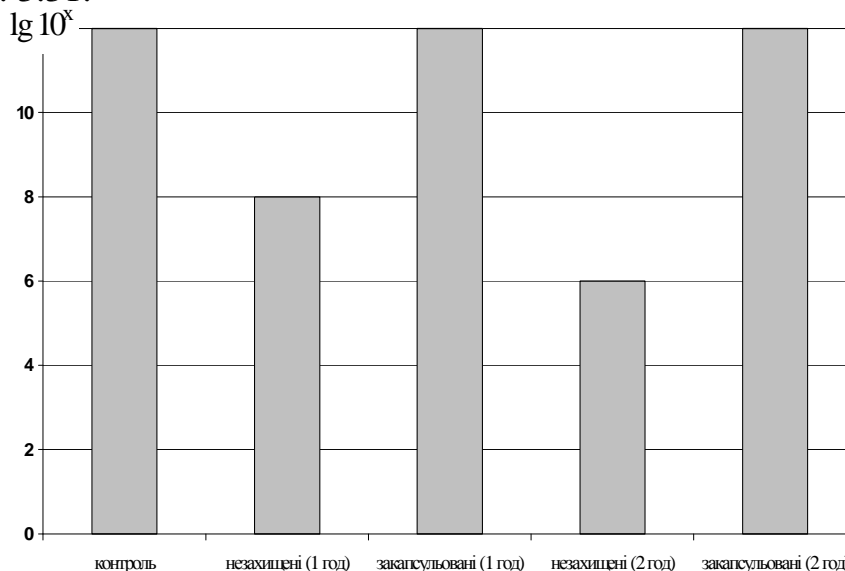
З результатів рис. 3.30 видно, що пробіотичні культури зберігають свою кількість у капсулі протягом чотирьох місяців при  $t = 4\text{--}6^\circ\text{C}$ . Також було підтверджено видову належність та чистоту досліджуваних зразків протягом означеного терміну. Досліджувані зразки, що зберігалися при  $t = 20\text{--}25^\circ\text{C}$ , втратили титр вже на другому тижні зберігання. Органолептичні ознаки псування зразків були відмічені ще раніше – наприкінці 5 доби.

### **3.6. Вивчення колонієутворюючої здатності біфідобактерій в умовах *in vitro***

Результати досліджень, які представлено у попередніх підрозділах, підтверджують принципову можливість одержання напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами». Єдиним обмеженням щодо її повномірного відтворення є вірогідність проникнення складових зовнішнього середовища в систему інкапсулянта крізь оболонку капсули, яка може мати деяку пропускну здатність для невеликих за розміром частинок, наприклад молекул хлоридної кислоти шлунка. А це є значною перешкодою у подальшому

просуванні запропонованих розробок на ринку функціональних продуктів. Тому для наукового обґрунтування концепції проведено випробування зразків у системі *in vitro*.

Для досліджень створено контрольну серію розведень, яку виготовлено з 1 г наважки ліофілізовано висушених біфідобактерій та перевірено їх титр, який надалі було прийнято за початковий і максимальний. Результати досліджень наведено на рис. 3.31.



**Рисунок 3.31 – Динаміка титру незахищених та закапсульованих біфідобактерій (*Bifidobacterium lactis* BB 12) під впливом середовища *in vitro* шлунка**

Як видно з рис. 3.31 початковий титр біфідобактерій становив  $10^{12}$  КУО/г. Паралельно вивчався вплив модельного середовища, що за складом імітує шлунковий сік, на колонії в умовах вільного доступу та закапсульованих згідно з розробленою схемою. Встановлено, що титр незахищених оболонкою біфідобактерій, експозиційованих протягом години у шлунковому соці, зменшився до  $10^8$  КУО/г. Втрати мікроорганізмів ще на два порядки ( $10^6$  КУО/г) зазнали зразки, що контактували з хлоридною кислотою протягом двох годин. Порівняно з цим кількість мікроорганізмів у середовищі, захищеному оболонками капсул, не змінюється. Це свідчить, що оболонка капсул захищає живі мікроорганізми від руйнуючого втручання середовища шлунка.

Під час візуального спостереження пасажів встановлено морфологічні видозміни колоній. У разі їх повної захищеності вони мають вигляд цвяшків та чечевичок, інтенсивно зростаючих до зони аеробіозу. Навіть протягом двогодинного контакту з хлоридною кислотою морфологія колоній не зазнала значних змін.

На противагу цьому, колонії незахищених оболонкою біфідобактерій крім вагомих кількісних втрат зазнали значних морфологічних змін – багато колоній втратили «широкий хвіст» і зовнішньо визначались як крихкоподібні. Ще більші видозміни торкнулись незахищених мікрооб'єктів із тривалішим знаходженням у системі *in vitro*.

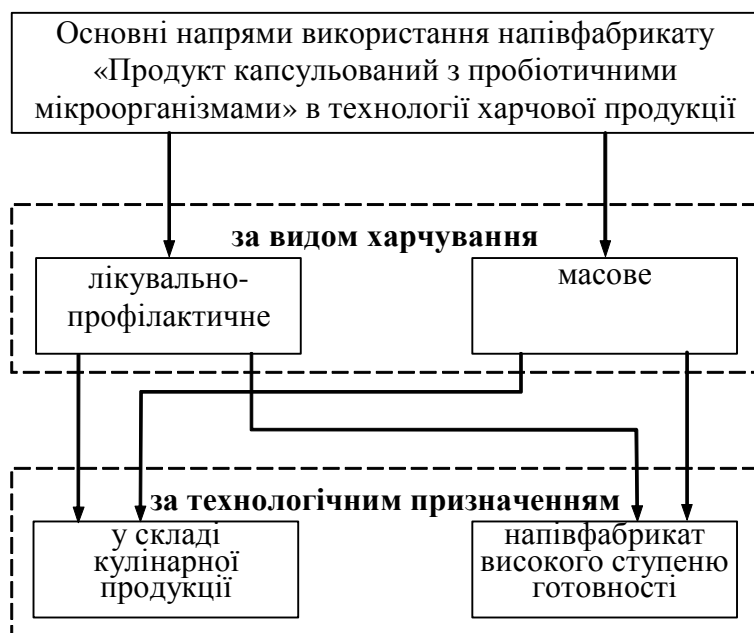
Аналіз результатів дослідження дозволяє стверджувати, що оболонки, створені за рахунок реакції рекомбінації у системі кальцій-натрій альгінатного гелю, дозволяють отримати непроникні для середовища шлунка мембрани, які у нашому випадку є системою «NaAlg-Ca<sup>2+</sup>», і надійно захистити живі мікрооб'єкти у складі інкапсулянта.

РОЗДІЛ 4  
**НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ  
СОЛОДКИХ СТРАВ З КАПСУЛЬОВАНИМИ ПРОБІОТИЧНИМИ  
МІКРООРГАНІЗМАМИ**

**4.1. Обґрунтування виробництва солодких страв з використанням  
напівфабрикату  
«Продукт капсульований з про біотичними мікроорганізмами»**

Згідно з даними попереднього розділу уміщення попередньо активованих біфідобактерій *Bifidobacterium lactis BB 12* у капсулу з кислотостійкою оболонкою, дозволяє уникнути небажаних втрат пробіотичних мікроорганізмів під час їх споживання у складі харчових продуктів. За результатами дослідження стає очевидним, що напівфабрикат «Продукт капсульований з про біотичними мікроорганізмами» в технологічних процесах та при організації харчування населення України може використовуватись у декількох напрямках (рис. 4.1).

З урахуванням проведених теоретичних та експериментальних досліджень, в межах інноваційної стратегії щодо збагачення харчових продуктів на капсульовані пробіотичні мікроорганізми, обґрунтовано доцільність їх використання у складі холодних солодких страв із пінною структурою – кремах, мусах, самбуках, парфе, морозиві. Проте два останніх види з наведеного переліку підлягають заморожуванню, що руйнівно діє на структуру альгінатної оболонки капсул.



**Рисунок 4.1 – Використання напівфабрикату  
«Продукт капсульований з про біотичними  
мікроорганізмами»**

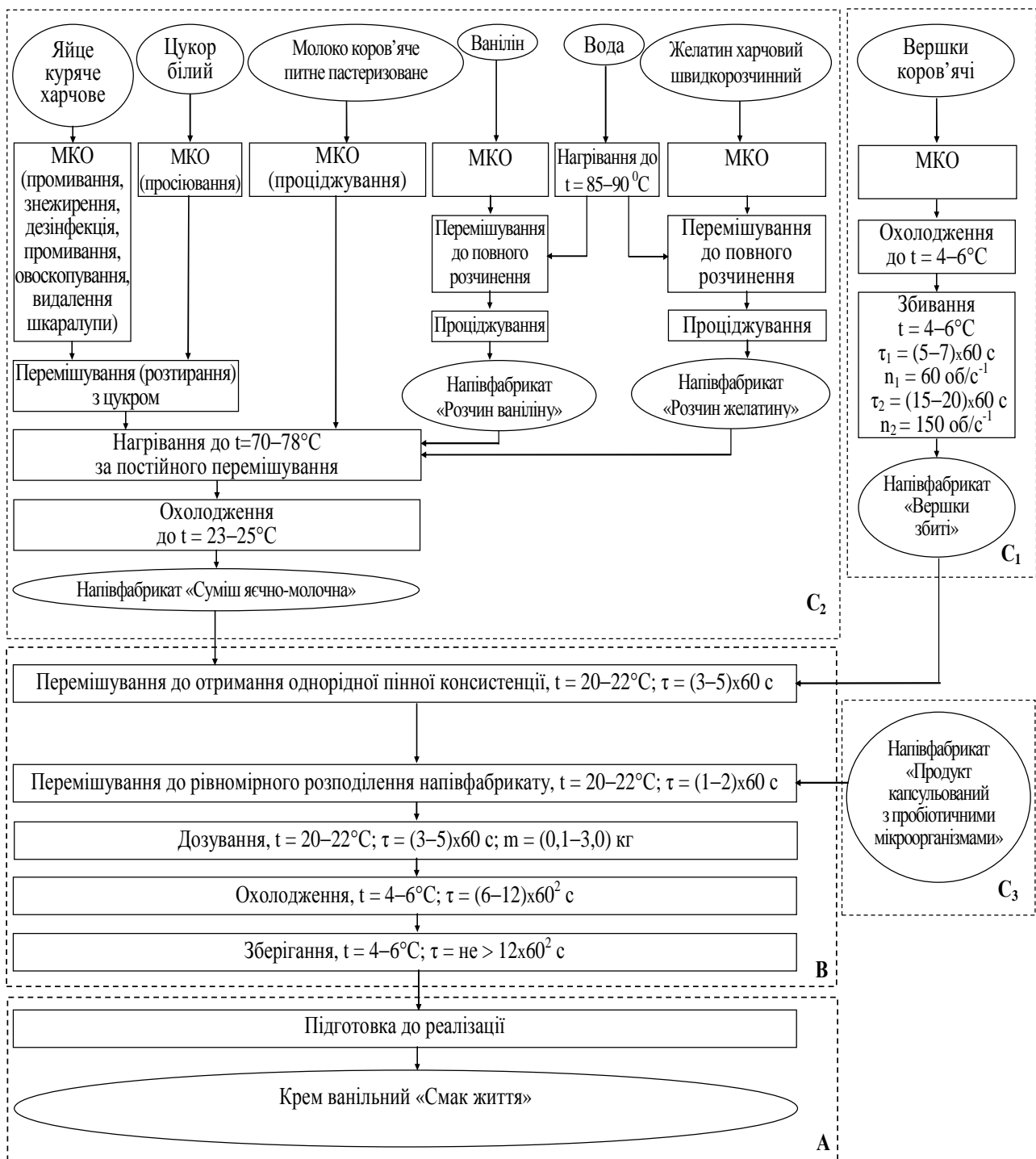
Головною передумовою виробництва солодких страв із напівфабрикатом «Продукт капсульований з про біотичними мікроорганізмами» у закладах ресторанного господарства є необхідність адаптування нових технологій до організаційно-технологічних принципів виробництва традиційної продукції. Здійснення такого підходу виходить із сформульованої у роботі та реалізованої в ході досліджень інноваційної стратегії виготовлення напівфабрикату «Продукт капсульований з про біотичними мікроорганізмами», який може бути виготовлений на спеціалізованих лініях (у спеціалізованих цехах ЗРГ), підприємствах харчоперероб-

ного комплексу або доставлений у заклади ресторанного господарства відповідно до умов їх транспортування, вказаних у ТУ У 15.5-01566330-269:2011 «Продукт кисломолочний капсульований з пробіотичними мікроорганізмами». Напівфабрикат повинен зберігатися на підприємстві-виробнику і в торговій мережі за температури від 0 до 6°C і відносної вологості повітря 75±5% не більше 90 діб. За цих умов технологічний цикл виробництва зводиться до обґрунтування параметрів введення напівфабрикату до складу системи, його вмісту та інженерно-технологічної розробки нових видів продукції (рис. 4.2).



**Рисунок 4.2 –Принципова технологічна схема виробництва солодких страв з пінною структурою з використанням напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»**

На рис. 4.2 наведено принципову технологічну схему крему ванільного «Смак життя». Принципові технологічні схеми мусу яблучного «Едем» та самбуку «Яблунова спокуса» наведено в додатку 2. Аналіз моделі, представленої на рис. 4.3, свідчить, що після реалізації операції дозування сировини в рамках підсистем С<sub>1</sub> «Утворення напівфабрикату «Вершки збиті» та С<sub>2</sub> «Утворення напівфабрикату «Суміш яєчно-молочна» відбувається поєднання харчової структурної суміші з напівфабрикатом, підготовка якого здійснюється в межах підсистеми С<sub>3</sub> «Підготовка напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» до внесення у ХСС».



**Рис. 4.3 – Принципова технологічна схема виробництва крему ванільного з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»**

Після досягання певної температури напівфабрикат «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» вносять при швидкому нетривалому перемішуванні до остиглої харчової структурованої суміші (підсистема С<sub>3</sub>). На виході підсистеми В отримується напівфабрикат «Харчова структурована суміш «Крем ванільний» з НПКПМ».

Основною метою функціонування підсистеми А «Технологія крему



ванільного з НПКПМ» є підготовка рецептурної суміші до реалізації. Підсистема А окреслює можливості виготовлення різних видів кулінарних виробів, зокрема солодких страв, у яких НПКПМ відіграє роль напівфабрикату високого ступеня готовності. Мету функціонування окремих підсистем у загальній технологічній моделі солодких страв з капсульованими пробіотичними мікроорганізмами описано у табл. 4.1.

Таблиця 4.1 – Загальна структура системи та цілі її підсистем

Позначення підсистеми	Підсистема	Мета функціонування підсистеми
А	Утворення солодкої страви «Крем ванільний» з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»	Отримання солодкої страви із певними заданими властивостями та складом
В	Утворення харчової структурної суміші «Крем ванільний» з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»	Формування фізико-хімічних, структурно-механічних та органолептичних показників, харчової структурної суміші «Крем ванільний» з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»
С <sub>1</sub>	Утворення напівфабрикату «Вершки збиті»	Приготування пінної основи ХСС
С <sub>2</sub>	Утворення напівфабрикату «Суміш яєчно-молочна»	Приготування желеподібної основи ХСС для подальшого збагачення на капсульовані пробіотичні мікроорганізми
С <sub>3</sub>	Підготовка напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»	Отримання капсульних об'єктів, призначених для збагачення харчової структурної суміші «Крем ванільний»

З наведеної на рис. 4.3 принципової технологічної схеми виробництва солодкої страви «Крему ванільного з НПКПМ» простежується існування п'яти підсистем, функціонування яких здійснюється у наступній послідовності:

$$C_1, C_2, C_3 \rightarrow B \rightarrow A$$

Функціонування підсистем А та В не може бути розірвано в часі та просторі. Послідовність та параметризація операцій, що виконуються у підсистемі В на мікрорівні вивчено та встановлено науково-дослідним шляхом, етапи якого наведено далі у розділі.

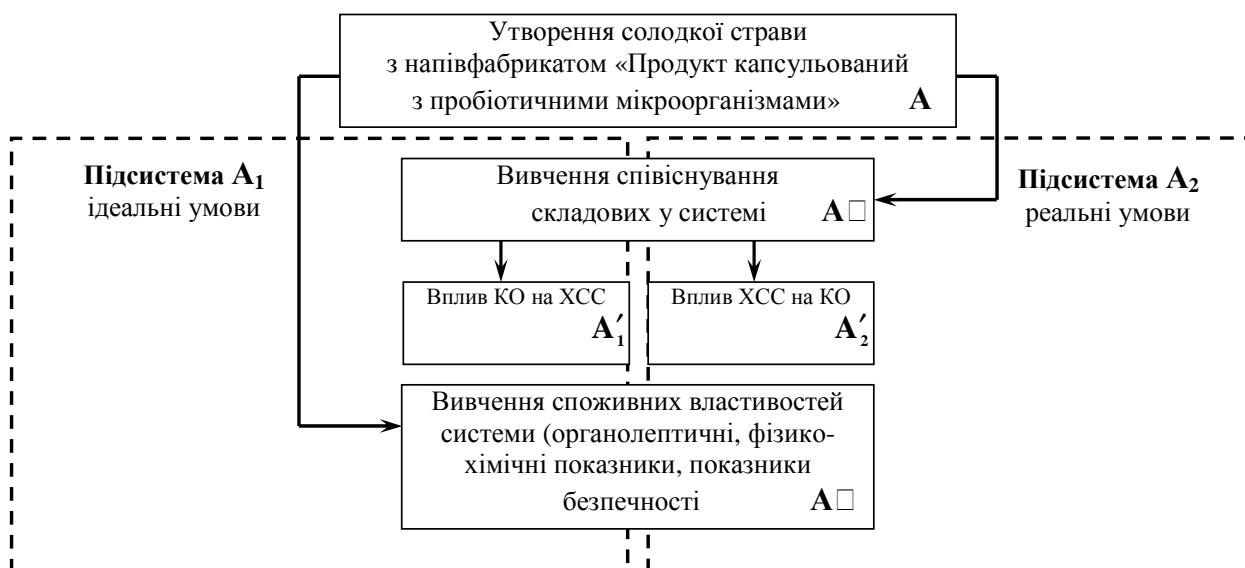
У підсистемі А «Утворення солодкої страви «Крем ванільний» з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»

описано операції та параметри, що складають стадії процесу виготовлення солодких страв з пробіотичними мікроорганізмами.

Слід зазначити, що за реалізації типової (підсистеми  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $B$ ,  $A$ ) технологічної схеми виробництва «Крему ванільного з НПКПМ» існування підсистеми  $C_3$  «Підготовка напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» потребує обґрунтування щодо його вмісту у складі рецептурної суміші, технологічних параметрів введення – послідовності, виду технологічних операцій тощо. Досліджено вплив капсульних об'єктів на органолептичні та фізико-хімічні показники крему, мусу та самбуку (піноутворюючу здатність, стійкість пін, модуль пружності).

Крім того, слід зазначити, що під час виготовлення як самих напівфабрикатів капсульованих, так і солодких страв, має місце деякий відсоток пошкоджених (розірваних) оболонки. Він складає близько 3–5,0% від загальної кількості у дослідних зразках. Тому виробник та споживач повинен мати повну уяву про вплив складових інкапсулянту на ті харчові системи, які мають бути спожиті.

Підсистема  $A$  являє собою складну технологічну систему, що містить ряд досліджень, виконаних за наступною схемою (рис. 4.4).



**Рисунок 4.4 – Технологічна система виробництва солодких страв із напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»**

В системі виробництва солодких страв з НПКПМ виділено дві керуючі підсистеми  $A□$  та  $A□$ , що однаково діють у контурах підсистем  $A_1$  та  $A_2$ . Підсистеми  $A'_1$  та  $A'_2$  підпорядковуються підсистемі  $A□$  відповідно до позначених зв'язків і разом із підсистемою  $A□$  рівноправно діють у контурах  $A_1$  та  $A_2$ . Мета функціонування кожної складової системи наведена у табл. 4.2.

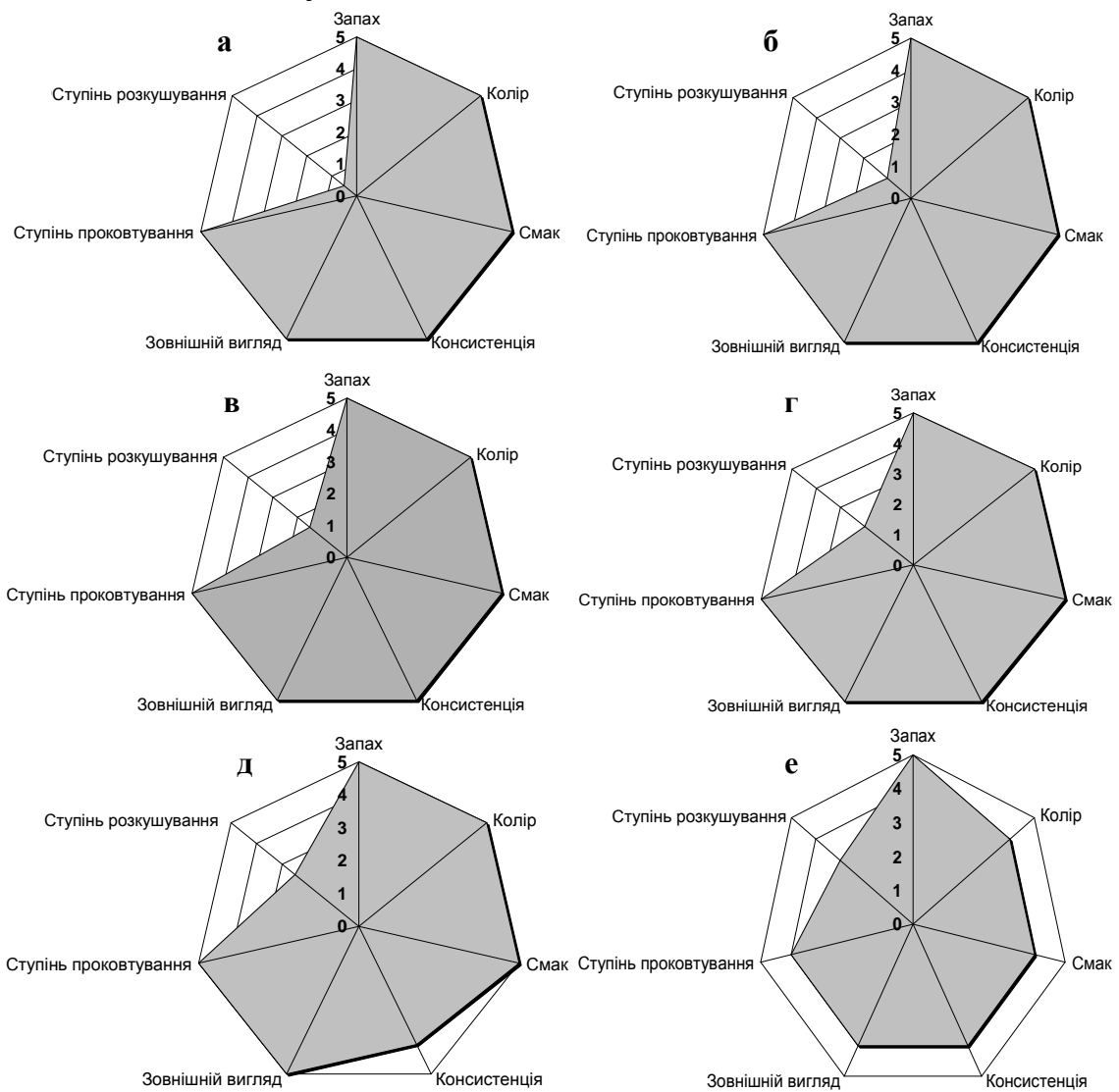
За результатами експериментальних досліджень (розділ 3) доведено, що за органолептичними показниками, такими як м'якість та пружність оболонки, а також споживних властивостей, таких як розкушування та проковтування, капсули повинні виготовлятися з 1,0% розчину альгінату натрію та витримува-

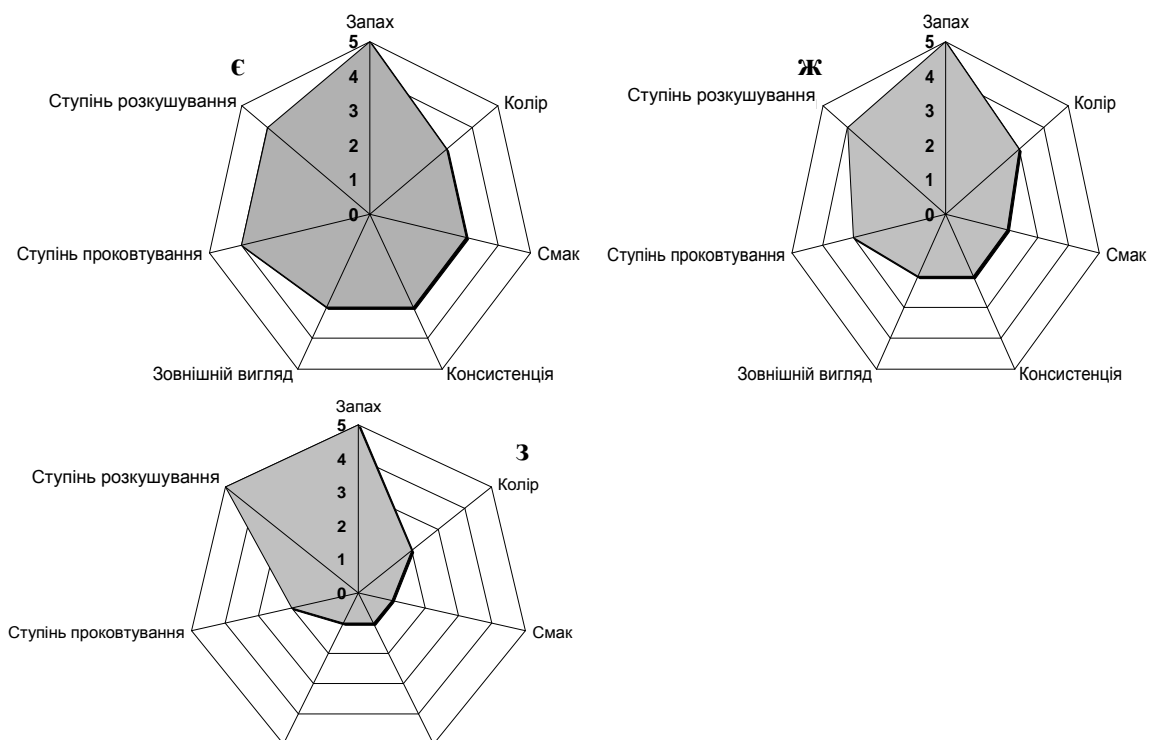
тися у формуючому розчині не більше  $(1-2) \times 60$  с за умов постійного рівномірного перемішування. До складу оболонки при цьому входить і сироватка молочна, відновлена у підготовленій за  $t = 40-50^{\circ}\text{C}$  воді, натрій карбоксиметилцелюлоза, біфідобактерії ВВ 12 та структуроутворювач – кальцій хлорид. За основний критерій встановлення складу інкапсулянту обрано титр мікроорганізмів, уміщених в капсулу. Вплив концентрацій компонентів рецептурної суміші, що підлягала капсулюванню, на життєздатність біфідобактерій детально описано у розділі 3.

*Таблиця 4.2 – Характеристика складових технологічної системи виробництва солодких страв з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»*

Позначення підсистеми	Підсистема	Мета функціонування підсистеми
A	Утворення солодкої страви з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»	Отримання продукту з заданими властивостями та складом
A <sub>1</sub>	Ідеальні умови	Теоретичне обґрунтування існування системи
A <sub>2</sub>	Реальні умови	Експериментально-виробниче обґрунтування існування системи
A□	Дослідження співіснування складових у системі	Отримання даних про взаємодію основних складових системи
A□	Дослідження споживних властивостей системи (органолептичні, фізико-хімічні показники, показники безпечності)	Отримання продукту якісного та безпечного для споживання продукту з високими органолептичними властивостями, заданими фізико-хімічними показниками
A' <sub>1</sub>	Дослідження впливу КО на ХСС	Отримання даних про вплив оболонки та вмісту НПКПМ на структуру та основні характеристики харчової структурної суміші в умовах контуру, що розглядається
A' <sub>2</sub>	Дослідження впливу ХСС на КО	Отримання даних про вплив складових ХСС на склад та властивості оболонки, а також уміщених до неї компонентів в умовах контуру, що розглядається

На рис. 4.5 наведено органолептичні профілі, побудовані на середніх значеннях органолептичних показників, що отримали зразки солодких страв під час проведення сенсорного аналізу. Співвідношення ХСС:КО наведено у відсотках і коливається у межах 95:50–5 відповідно.





**Рисунок 4.5 – Органолептичні профілі моделей солодких страв зі співвідношеннями ХСС:КО:**

*a – 95:5; б – 90:10; в – 85:15; г – 80:20; д – 75:25; е – 70:30; є – 65:35; ж – 60:40; з – 50:50*

З аналізу результатів видно, що найвищі органолептичні показники отримано в межах вмісту КО від 5 до 20,0%. При цьому легкість проковтування в них найвища і тенденція до розкушування мінімальна. Зразки мусу, крему та самбуку зі співвідношенням ХСС:КО – 80:20 рекомендовані до впровадження.

Підсистема А<sub>1</sub> відображає ідеальні умови співіснування ХСС та КО. Тобто до складу харчової суміші з пінною структурою внесено непошкоджені оболонки. У ході вивчення підсистеми В<sub>1</sub>, розглянуто можливість переходу складових частин інкапсулянту та оболонки до ХСС. Результати дослідження наведено у табл. 4.3.

*Таблиця 4.3 – Результати досліджень підсистеми А<sub>1</sub> в рамках контуру А<sub>1</sub> керуючої підсистеми А<sub>1</sub>*

Складник	Кількість у КО, г/ 100 г	Наявність у ХСС	Метод визначення	Примітка
1	2	3	4	5
Оболонка капсули	0,17	не визначено	Гравіметричний, візуальний	Маса капсул не зменшується, шматочків оболонок у ХСС не візуалізується

Продовження таблиці 4.3

1	2	3	4	5
Сироватка молочна	0,67	не визначено	Спектро-фотометричний	Визначення лактози (ГОСТ 51259-99)
Натрій КМЦ	0,2	не визначено	Гравіметричний	Маса капсул не зменшується
Кальцій хлорид	0,07	не визначено	Титрометричний	Титрування ЕД-ТА з мурексидом
Біфідобактерії ВВ-12	0,01	не визначено	10-ти кратних розведень	МБК 10.10.2.2-119-2005

У табл. 4.4 представлено результати дослідження підсистеми  $A'_2$ , у разі аналізу якої розглянуто вплив ХСС на капсульні оболонки за ідеальних умов співіснування в системі. Результати дослідження підсистеми  $A_{\square}$  (органолептичні та частково фізико-хімічні показники) представлено на рис. 4.6.

Таблиця 4.4 – Результати досліджень підсистеми  $A'_2$  в рамках контуру  $A_1$ 

Складник	Кількість у ХСС, г/100 г	Наявність у КО	Метод визначення	Примітка
1	2	3	4	5
<i>Мус яблучний на крупі манній</i>				
Яблучне пюре + лимонна кислота	24,0	не визначено	Титрометричний	Визначення пектинової та інших органічних кислот
Цукор білий	12,0	не визначено	За сахариметром	Визначення сахарози
Крупа манна	6,4	не визначено	Гравіметричний, візуальний	Маса капсул не збільшується, структура ХСС не пошкоджена, вкраплення крупи в оболонку не візуалізується
<i>Самбук яблучний</i>				
Яблучне пюре	56,0	не визначено	Титрометричний	Визначення пектинової та інших кислот
Цукор білий	16,0	не визначено	За показниками сахариметра	Визначення сахарози
Білок яєчний	3,84	не визначено	Арбітражний	За К'ельдалем

Продовження таблиці 4.4

1	2	3	4	5
Желатин харчовий швидко-розчинний	1,2	не визначено	Гравіметричний	Маса капсул не збільшується, структура десерту не пошкоджена
<i>Крем ванільний</i>				
Молоко коров'яче питне пастеризоване	16,0	не визначено	Арбітражний	За К'ельдалем
Вершки коров'ячі	40,0	не визначено	Арбітражний	За Сокслетом
Желатин харчовий швидко-розчинний	1,6	не визначено	Арбітражний	За К'ельдалем
Цукор білий	12,0	не визначено	За показниками сахариметра	Визначення сахарози
Овальбумін	6,4	не визначено	Арбітражний	За К'ельдалем
Лецитин		не визначено	Хроматографічний	Методика ВНДРО
Ванілін	0,012	не визначено	Метод капілярного електрофорезу	Методика М 04-53-2008

Технологічному обґрунтуванню підлягало роз'яснення етапу процесу виробництва, на якому вноситься напівфабрикат «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами». Внесення капсульних об'єктів перед збиванням негативно вплинуло на піноутворюючу здатність харчових систем, значно зменшивши при цьому її показники, крім того, візуалізувалось утворення пошкоджених оболонок. При цьому визначалось зниження показників стійкості пін; відмічено розшарування у системах.

Аналітично та експериментально доведено доцільність внесення напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» до складу пінних сумішей для виробництва мусу та крему після збивання при подальшому швидкому перемішуванні; для системи «самбук» – після введення желюючого агента при подальшому швидкому перемішуванні. За цих умов зниження показників піноутворюючої здатності досліджуваних зразків відбувалось у межах 10% від початкових значень і складало  $\approx 170, 275, 220\%$  для самбуку, мусу і крему відповідно з вмістом КО 5–25%. З подальшим збільшенням кількості напівфабрикату піноутворююча здатність у всіх зразках знижувалась ще більше, і за кількості КО  $\approx 50\%$  піна майже не утворювалась. Загальну органолептичну оцінку (ЗОО) зразків самбуку, мусу та крему побудовано на чуттєвому сприйманні системи «ХСС-КО» у цілому і виражено у балах.

Найвищі значення ЗОО набувають зразки солодких страв із вмістом КО = 15–25,0 % (рис. 4.6 а–в).

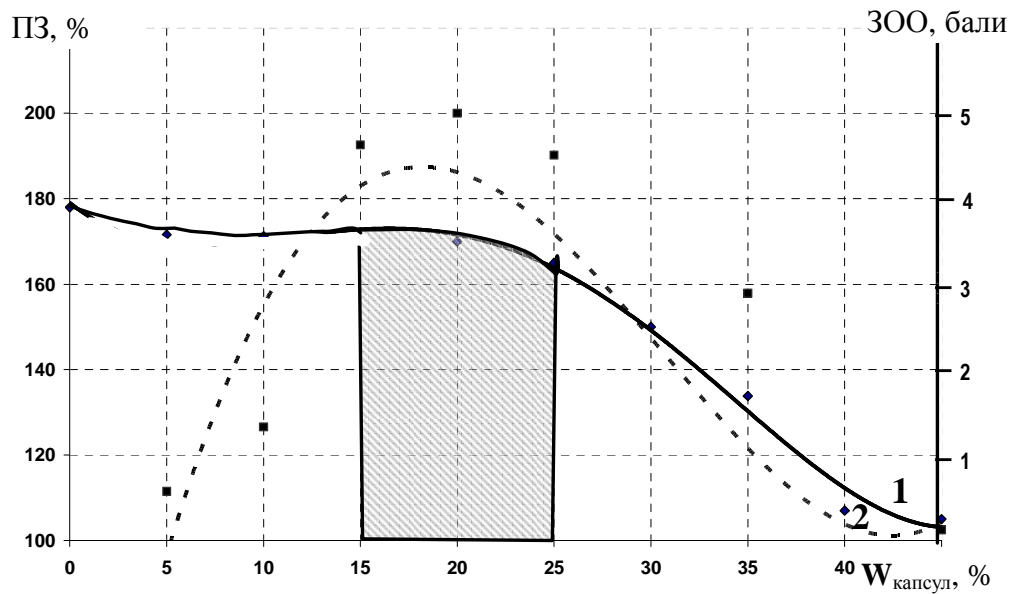


Рисунок 4.6 а – Динаміка піноутворюючої здатності (1) та загальної органолептичної оцінки (2) від кількості внесених КО до ХСС «Самбук»

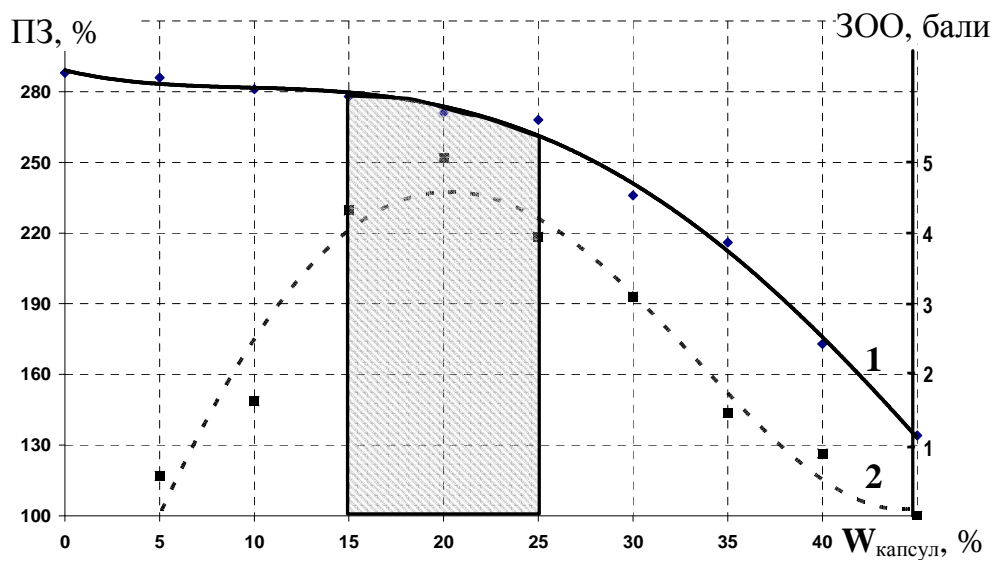
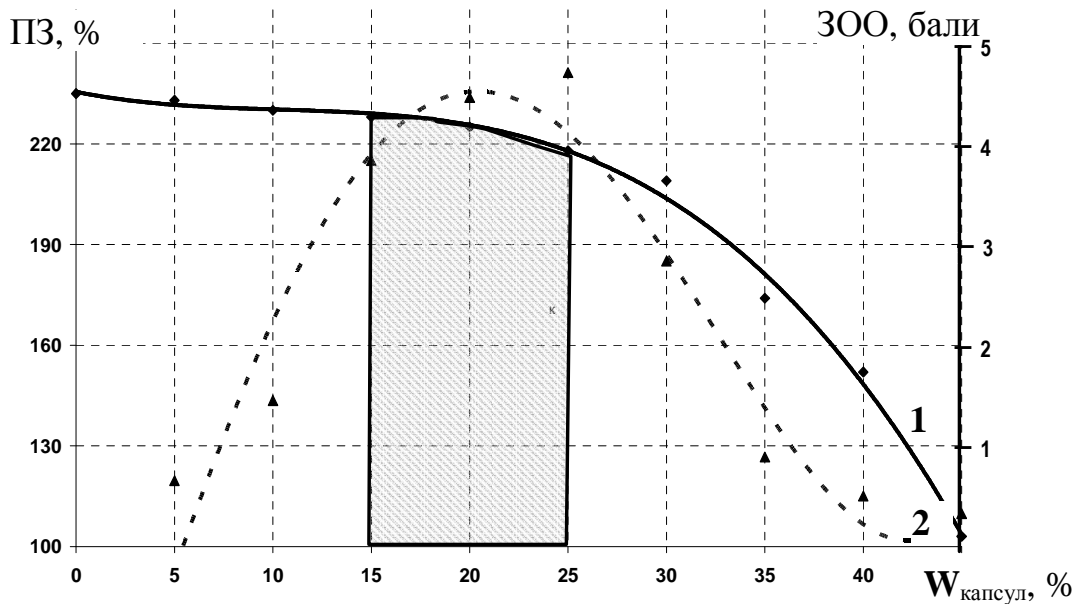


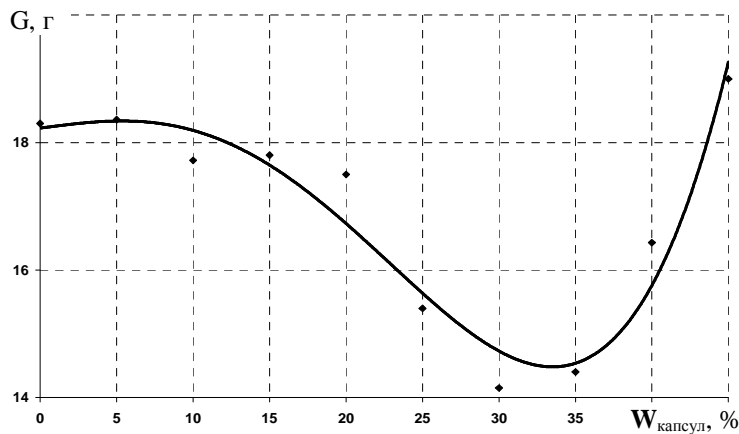
Рисунок 4.6 б – Динаміка піноутворюючої здатності (1) та загальної органолептичної оцінки (2) від кількості внесених КО до ХСС «Мус»



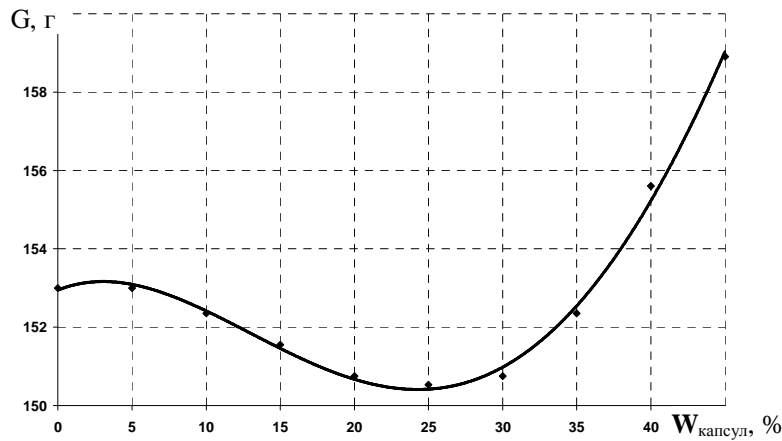


**Рисунок 4.6 в** – Динаміка піноутворюючої здатності (1) та загальної органолептичної оцінки (2) від кількості внесених КО до ХСС «Крем»

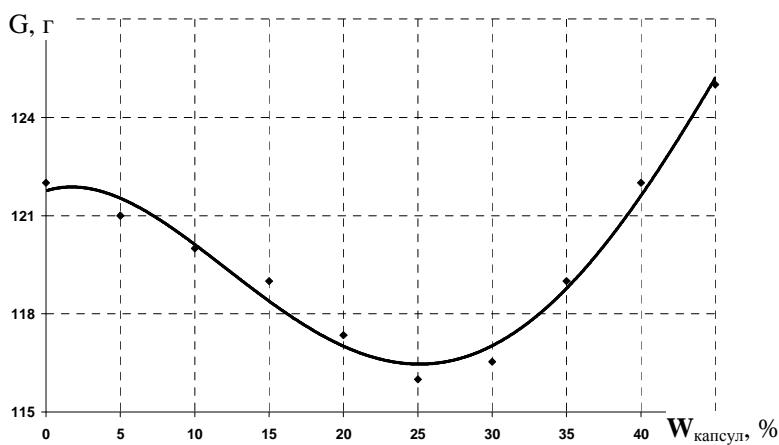
Однією з важливих технологічних умов для утворення желеподібних солодких страв, є їх міцність, яку у даній роботі визначено за методом Валента. Результати вимірювань цього показника на зразках самбуку, мусу та крему наведено на рис. 4.7, 4.8 та 4.9 відповідно.



**Рисунок 4.7** – Динаміка показників міцності (за Валентом) від кількості внесених КО до ХСС «Самбук»



**Рисунок 4.8 – Динаміка показників міцності (за Валентом) від кількості внесених КО до ХСС «Мус»**



**Рисунок 4.9 – Динаміка показників міцності (за Валентом) від кількості внесених КО до ХСС «Крем»**

З наведених результатів видно, що введення капсульних об'єктів не пошкоджує сітки гелю, утвореного желатином у випадку розгляду систем «Самбук» і «Крем», а невелике зниження міцності пов'язано з тим, що в момент натискання грибовидної насадки приладу, відбувається висковзування альгінатної капсули. При цьому відбувається стрімке перетворення накопиченої потенційної енергії стрижня у кінетичну, що й надає незначної розбіжності (не більше 10%) у показниках міцності. У зразках мусу міцність ХСС найвища серед досліджуваних систем солодких страв, тому вміст КО у кількості 5...25,0% майже не змінив її показників. Збільшення кількості напівфабрикату з 25 до 50,0% у досліджуваних зразках солодких страв, вплинуло на зміцнення ХСС усіх видів кулінарної продукції: для самбуку  $\approx 5,0\%$ ; мусу  $\approx 4,0\%$ ; крему  $\approx 3,0\%$ .

Проведені дослідження дозволили обґрунтувати рецептурний склад (табл. 4.5) та технологічний процес виробництва крему, мусу та самбуку з використанням НПКПМ. Під час дослідження підсистеми А□, що діє в контурі підсистеми А<sub>1</sub>, досліджено фізико-хімічні, мікробіологічні та органолептичні показники якості на момент виготовлення зразків, а також під час їх зберігання за умов охолодження ( $t = 4-6^{\circ}\text{C}$ ) протягом 28 діб.

Таблиця 4.5 – Рецептура солодких страв з пробіотичними мікроорганізмами

Найменування сировини	Витрати сировини на 100 кг готового продукту, кг					
	Крем ванільний «Смак життя»		Мус яблучний «Едем»		Самбук «Яблунева спокуса»	
	Брутто	Нетто	Брутто	Нетто	Брутто	Нетто
Яблука свіжі	–	–	27,82	24,0	63,6	56,0
Цукор білий	12,0	12,0	12,0	12,0	16,0	16,0
Крупа манна	–	–	6,4	6,4	–	–
Кислота лимонна	–	–	0,12	0,12	–	–
Вода питна	–	–	60,0	60,0	–	–
Желатин харчовий швидкорозчинний	1,6	1,6	–	–	1,2	1,2
Яйце куряче харчове	160 шт.	6,4	–	–	160 шт.	3,84*
Вода для желатину	12,8	12,8	–	–	33,6	33,6
Вершки коров'ячі (35% жирн.)	40,0	40,0	–	–	–	–
Молоко коров'яче питне пастеризоване (1,5...3,2 % жирн.)	16,88	16,0**	–	–	–	–
Ванілін	0,012	0,012	–	–	–	–
Напівфабрикат «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»		20,0		20,0		20,0
Вихід:		100,0		100,0		100,0

Примітка: \* маса білків;

\*\* маса молока після кип'ятіння.

Таблиця 4.6 – Результати визначення фізико-хімічних показників якості зразків солодких страв

Показник	Крем ванільний	Крем ванільний «Смак життя»	Мус яблучний на крупі манній	Мус «Едем»	Самбук яблучний	Самбук «Яблунева спокуса»
Видимий вміст сухих речовин, %	41,8±0,1	33,6±0,1	21,9±0,1	20,0±0,1	34,1±0,1	27,4±0,1
Кислотність	17**	17**	0,6*	0,6*	0,8*	0,8*

Примітка. \* у % на яблучну кислоту; \*\* у °Т.

Досліджено фізико-хімічні показники нової продукції – масова частка сухих речовин, кислотність (табл. 4.6), стійкість пін (рис. 4.10) та міцність гелів мусу, крему та самбуку з НПКПМ (рис. 4.11 а-в).

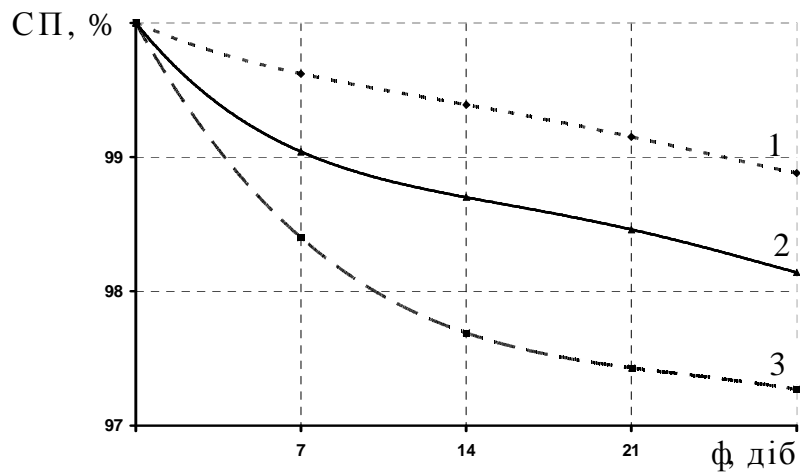
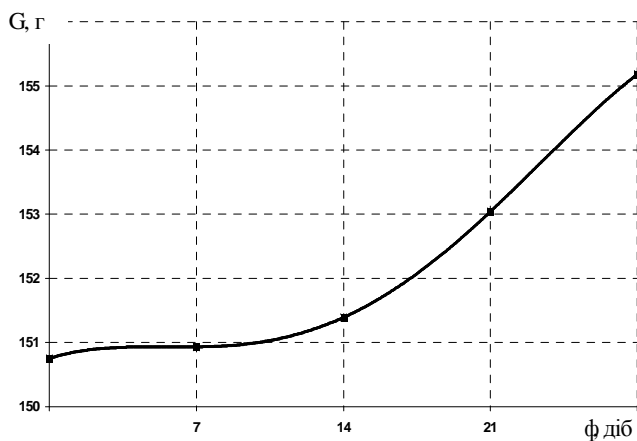
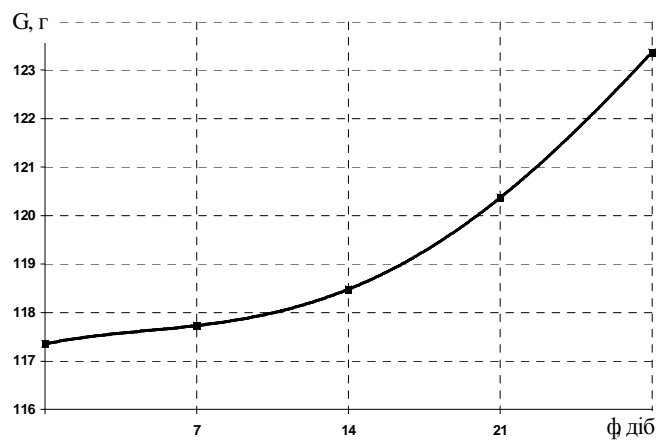


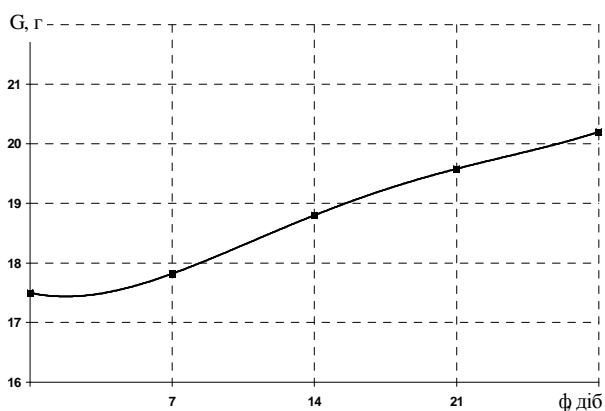
Рисунок 4.10 – Динаміка стійкості пін у зразках із непошкодженими КО: 1 – мусу, 2 – крему та 3 – самбуку за умов зберігання за  $t = 4...6^{\circ}\text{C}$



а



б



в

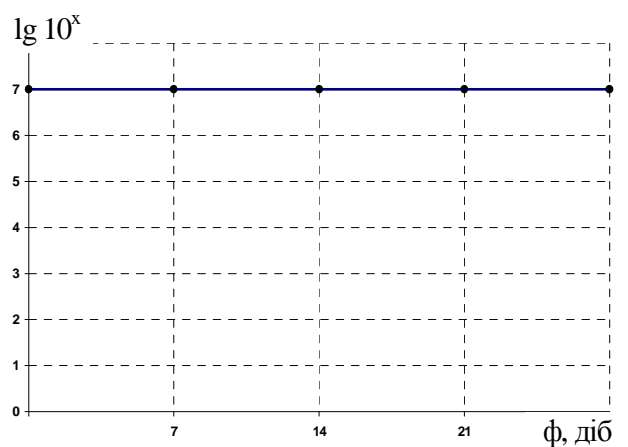
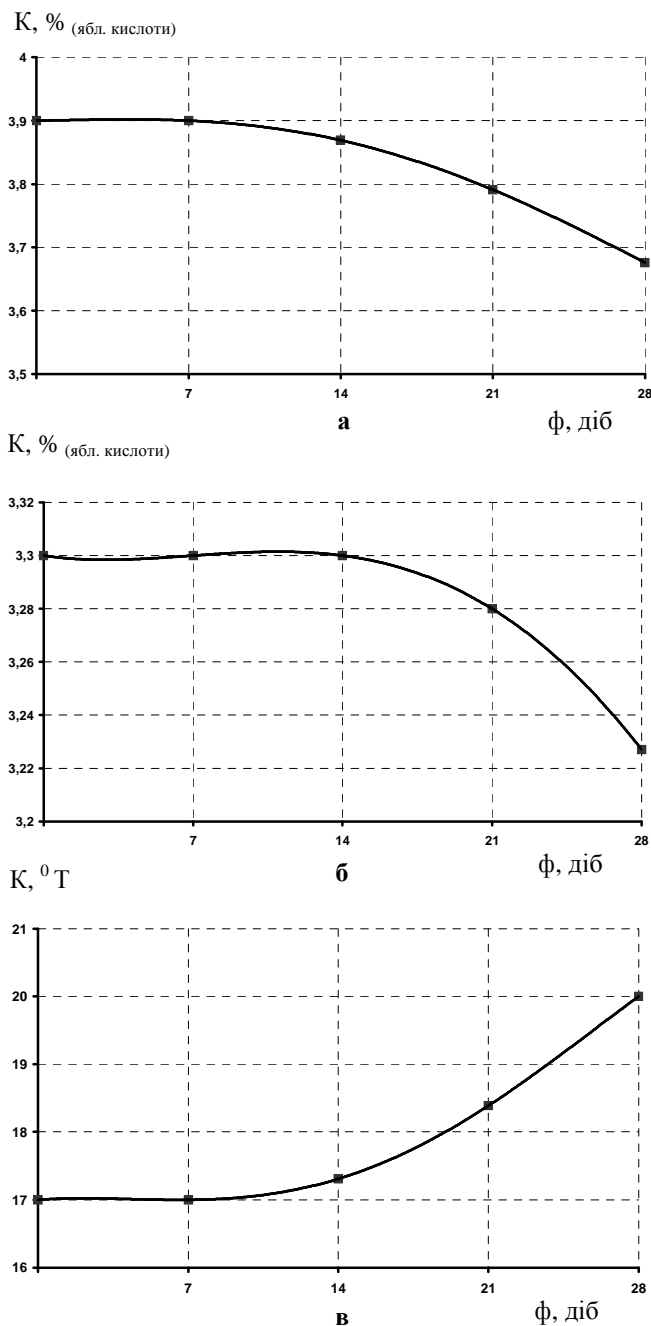


Рисунок 4.11 – Динаміка показників міцності а – мусу; б – крему; в – самбуку з непошкодженими КО за умов зберігання  $t = 4...6^{\circ}\text{C}$



**Рисунок 4.12 – Динаміка вмісту біфідобактерій ВВ-12 у зразках солодких страв (мусу, крему та самбуку) за умов зберігання  $t = 4...6^{\circ}\text{C}$**

залишається функціональним протягом усього терміну зберігання.

З моніторингу активної кислотності (рис. 4.13) видно, що протягом 12 діб зберігання за  $t = 4...6^{\circ}\text{C}$ , змін у досліджуваних зразках не відбувається. Проте слід зазначити, що отримані дані активної кислотності навіть на 14-ту добу органолептично не визнавалися і знаходилися в межах допустимих, означених у нормативній документації на дані групи продукції. Дані, що представлені на рис. 4.13 відправною точкою для дослідження підсистем  $A_{\square}$  та  $A_{\square}$ , що діють у контурі  $A_2$ . При дослідженні підсистеми  $A'_1$  керуючої підсистеми  $A_{\square}$ , що діє у контурі  $A_2$  розглянуто вплив пошкоджених у ході технологічного процесу

З рис. 4.12 видно, що протягом терміну зберігання (28 діб) в усіх досліджуваних зразках солодких страв з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» ХСС ущільнюється, що пов'язане з виходом вологи та перерозподілом при цьому водневих зв'язків. Для мусу  $\Delta G_{\text{відн}} = 3,0\%$ ; для крему –  $5,0\%$ ; для самбуку –  $15,0\%$ . При цьому у зразках мусу та крему, як більш ущільнених структур, виділення вологи починається після 14 діб зберігання, а у зразках самбуку перші ознаки синерезису з'являються після 7 діб зберігання.

За результатами мікробіологічних досліджень зразків за різних умов зберігання встановлено, що протягом 28 діб жоден із них не містив представників БГКП, МАФМ, дріжджів та пліснявих грибів (рис. 4.13). Кількість представників корисної мікрофлори становила  $10^7$  КУО/г. Таким чином, обґрунтовані параметри технології промислового виробництва солодких страв із напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами», в повній мірі забезпечують вимоги щодо мікробіологічних показників готової продукції. Можна стверджувати, що зразки виготовлені за стерильних умов, а тара закупорена герметично. Визначення закономірностей зміни титру збігаються, тому узагальнені дані наведені на рис. 4.13 свідчать, що титр біфідобактерій

альгінатних оболонок на харчову структуровану суміш. Співвідношення цілих капсул до пошкоджених становило 9:1, як максимально можливе. Результати наведено у табл. 4.7.

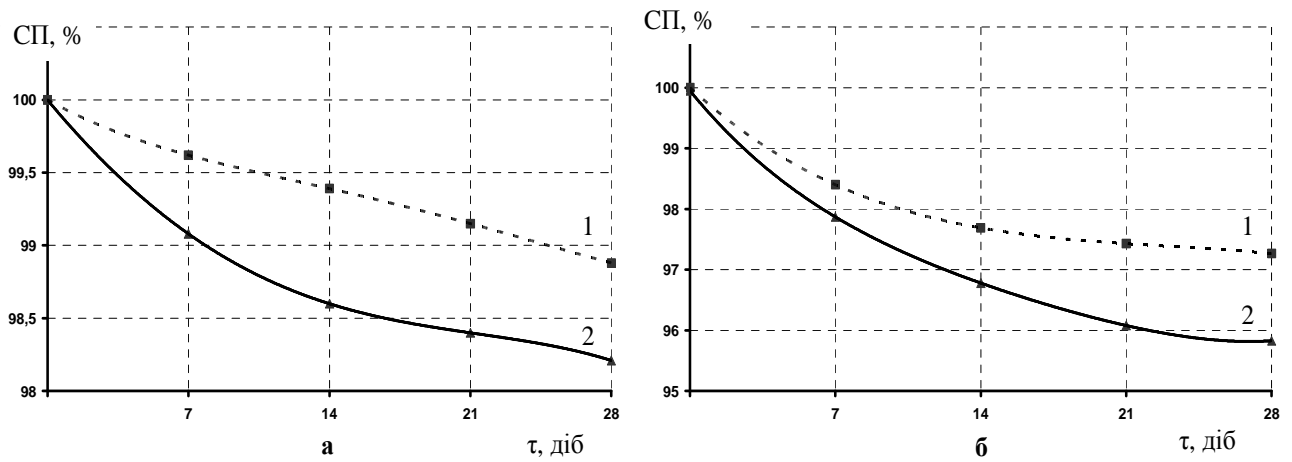
Таблиця 4.7 – Результати досліджень підсистеми  $A'_1$  в рамках контуру  $A_2$  керуючої підсистеми  $A_{\square}$

Складник	Кількість г/у 100 г	Наявність у ХСС	Метод визначення	Примітка
Альгінатна оболонка	0,02	Визначено	Гравіметричний, візуальний	Шматочки оболонок у ХСС візуалізуються
Сироватка молочна	0,07	Визначено	Титрометричний	Збільшення титрованої кислотності, з-за присутності лактози
Натрій КМЦ	0,02	Визначено	Гравіметричний, оптичний	Виникнення невеликої кількості ущільнень (згустків), утворення точок міцелотворення
Кальцій хлорид	0,007	Визначено	Титрометричний	Титрування ЕДТА з мурексидом
ВВ-12	0,001	Визначено	10-ти кратних розведень	МВК 10.10.2.2-119-2005

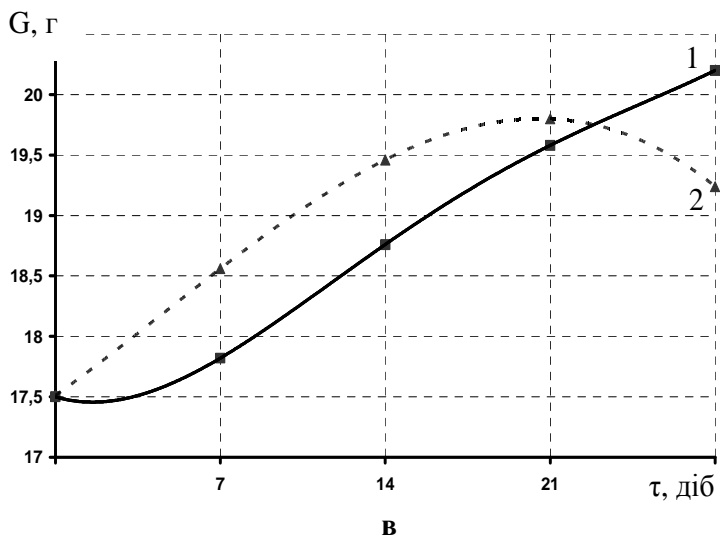
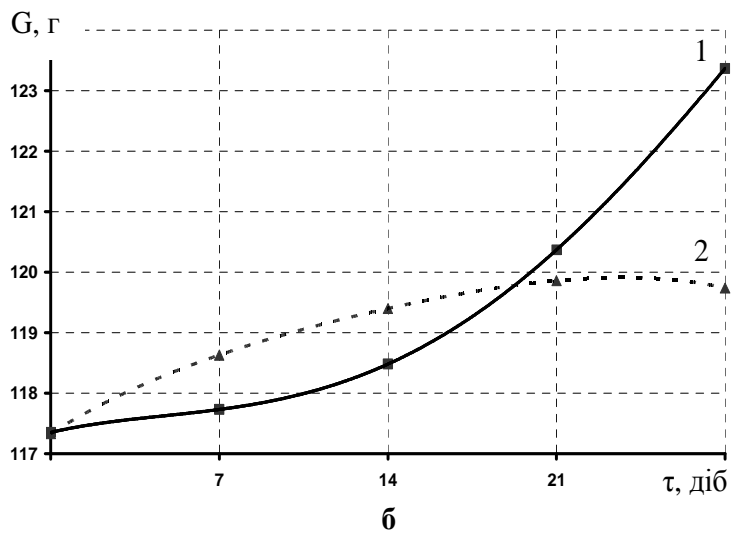
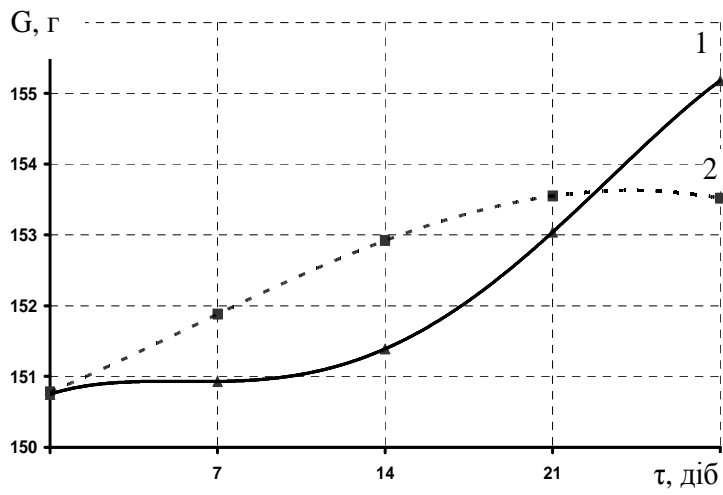
Наявність розірваних оболонок та перехід складових інкапсулянта до ХСС негативно впливають на фізико-хімічні та структурні показники харчової суміші. Так, збільшується титрована кислотність, знижується рН, утворюються міцелярні згустки натрій карбоксиметилцелюлози, у зв'язку з чим зменшується кількість водневих зв'язків і прискорюється процес синерезису. Крім того, система деформується як на поверхні, так і за всім об'ємі, спостерігається розшаровування фаз, втрачається міцність гелів і значно погіршується зовнішній вигляд зразків, візуалізується зменшення об'єму піни. Але найважливішим негативним чинником присутності у ХСС розірваних оболонок є зниження титру життєздатних біфідобактерій, оскільки під час виходу з альгінатної оболонки вони стають незахищеними до дії повітря та органічних кислот. У зв'язку зі зміною рН значно збільшується вірогідність обсіменіння зразків патогенною мікрофлорою, скорочуються строки зберігання продукції при  $t = 4-6^{\circ}\text{C}$ . Таким чином, вивчення підсистеми  $A'_2$  у керуючій підсистемі  $A_{\square}$  контуру  $A_2$  доцільно поєднати з дослідженнями, що проводяться для керуючої підсистеми  $A_{\square}$ , діючої в рамках контуру  $A_2$ .

З метою встановлення закономірності формування органолептичних показників досліджено структурні показники зразків солодких страв, що містили пошкоджені капсули – стійкість пін та міцність гелів. Оскільки капсульні об'єкти внесено до ХСС після збивання, наявність розірваних оболонок не

вплинула на показники піноутворюючої здатності. Результати дослідження стійкості пін та міцності гелів зразків солодких страв із включенням пошкоджених капсул наведено на рис. 4.14 та 4.15.



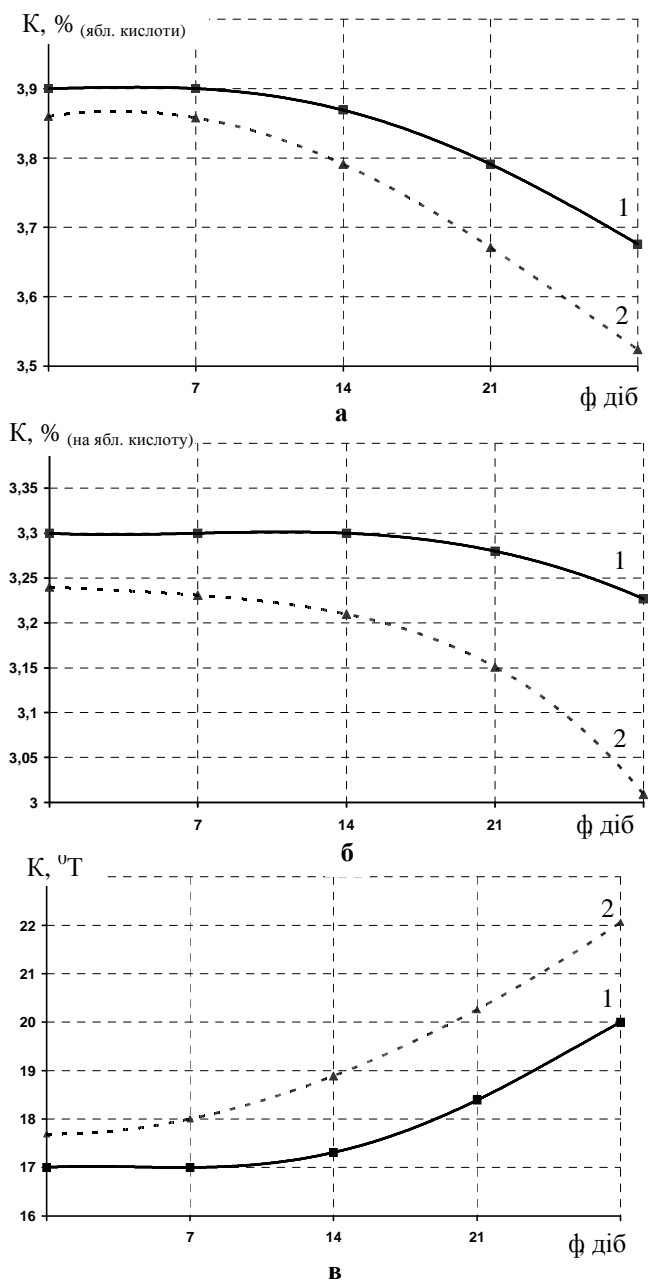
**Рисунок 4.14 – Динаміка зміни показників стійкості пін у зразках: а – мусу та б – самбуку за умов зберігання ( $t = 4-6^{\circ}\text{C}$ ) \* Примітка. 1 – ідеальні умови (контур  $A_1$ ); 2 – реальні умови (контур  $A_2$ ).**



**Рисунок 4.15 – Динаміка показників міцності (за Валентом) зразків а – мусу; б – крему та в – самбуку за ( $t = 4-6^{\circ}\text{C}$ )\***  
**Примітка. 1 – ідеальні умови (контур  $A_1$ ); 2 – реальні умови (контур  $A_2$ )**



Наявність розірваних оболонок у складі солодких страв не впливає на загальну органолептичну оцінку зразків. Пошкоджені капсули не змінюють основних органолептичних показників. Тенденція до проковтування, аналогічно контрольним зразкам, превалює над розкушуванням. Під час потрапляння пошкоджених оболонок до ротової порожнини вони добре розпізнаються



**Рисунок 4.16** – Динаміка показників кислотності зразків: а – мусу; б – самбуку та в – крему за ( $t=4-6^{\circ}\text{C}$ )\*

Примітка. 1 – ідеальні умови (контур  $A_1$ ); 2 – реальні умови (контур  $A_2$ )

чутливими місцями язика і мають тенденцію до розжовування. Під час визначення органолептичних показників у підсистемі  $A_1$  контуру  $A_2$  визначено, що протягом зберігання зразки стають кислуватими, але без помітних змін запаху. Прийнято рішення про визначення титрованої кислотності у зразках протягом терміну зберігання при  $t = 4-6^{\circ}\text{C}$ . Результати наведено на рис. 4.16, з якого видно, що зразки мусу за умов охолодження, не втрачають органолептичні показники якості протягом терміну зберігання. Розбіжність показників зумовлена підвищеним вмістом сухих речовин у мусі порівняльно з самбуком. Це робить систему більш щільною та зменшує можливість швидкого синерезису і розшарування системи.

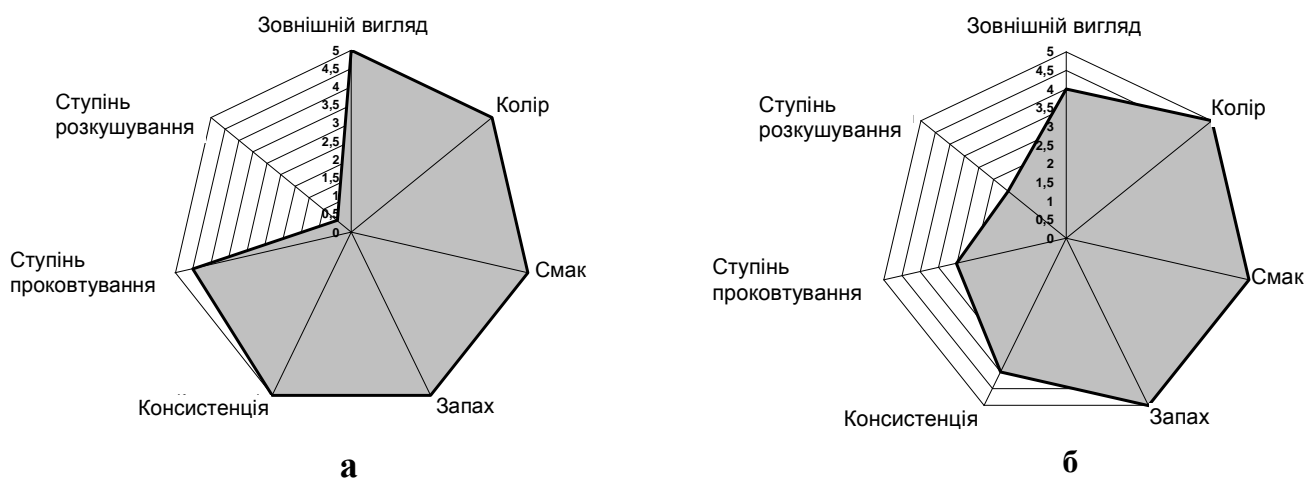
На основі проведених експериментальних досліджень і технологічних відпрацювань розроблено рецептурний склад та принципові технологічні схеми виробництва мусу яблучного на крупі манній, самбуку яблучного, крему ванільного з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами», які наведено в додатках Б та В відповідно.

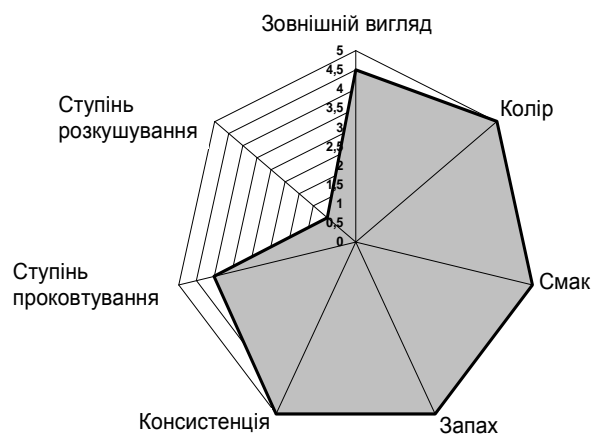
## 4.2. Дослідження основних показників якості солодких страв з капсульованими пробіотичними мікроорганізмами

На підставі проведених досліджень розроблено принципово нову продукцію – солодкі страви з використанням напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» – крем ванільний «Смак життя», мус «Едем», самбук «Яблунева спокуса». Оскільки нова продукція є готовою до безпосереднього вживання, не потребує додаткової термічної обробки і призначена для реалізації у роздрібній торговельній мережі та закладах ресторанного господарства, важливим є визначення основних показників її якості та безпечності [101; 102].

Органолептичні показники зразків мусу, самбуку та крему з НПКПМ представлено графічно у вигляді кільцевих профілів зовнішнього виду, кольору, смаку, запаху, консистенції, ступінь проковтування та розкушування. Ступінь проковтування та розкушування є взаємовиключними показниками, сумарний показник яких не повинен перевищувати максимальної кількості балів.

Аналізуючи дані рис. 4.17 слід зазначити, що зразки продукції з НПКПМ майже не мають аналогів. У розрізі містять вкраплення капсульних об'єктів; консистенція, запах, колір та пружність усіх зразків майже не відрізняється від класичних аналогів. У зразках більш пружних (мус та крем) капсули на смак не відчуються, швидко ковтаються. Менш пружна консистенція зразків самбуку стає причиною виникнення тенденції до розкушування незначної кількості капсульованого напівфабрикату.





**В**

**Рисунок 4.17 – Профілі органолептичної оцінки зразків солодких страв з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»: а–мус яблучний на крупі манній; б–самбук яблучний; в–крем ванільний**

Хімічний склад, а також результати досліджень вітамінного та мінерального складу зразків солодких страв з НПКПМ наведено у табл. 4.8–4.10 відповідно.

**Таблиця 4.8 – Порівняльний аналіз хімічного складу солодких страв з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» та їх аналогів (А)**

Показник	Зразок					
	Мус (А)	Мус «Едем»	Самбук (А)	Самбук «Яблунева спокуса»	Крем (А)	Крем ванільний «Смак життя»
Масова частка сухих речовин, %	21,9±0,5	20,1±0,5	34,15±0,5	27,4±0,5	41,85±0,5	33,6±0,5
Масова частка білка, %	0,9±0,04	0,8±0,04	6,6±0,2	5,3±0,2	4,7±0,2	3,8±0,2
Масова частка жиру, %	0,2±0,01	0,19±0,01	0,28±0,01	0,25±0,01	19,10±0,7	15,32±0,7
Масова частка загальних вуглеводів, %	20,59±1,0	18,9±1,0	26,86±1,0	21,5±1,0	17,6±0,7	14,1±0,7
Масова частка золи, %	0,19±0,01	0,17±0,01	0,38±0,01	0,33±0,01	60,42±0,01	0,36±0,01
Енергетична цінність, ккал	88,74	81,0	138,1	110,9	261,5	209,6

Таблиця 4.9 – Вітамінний склад зразків солодких страв з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»

Вітамін	Вміст мг/100 г		
	Крем ванільний «Смак життя»	Мус «Едем»	Самбук «Яблунова спокуса»
Ретинол	0,12±0,005	0,01±0,005	0,02±0,005
Токоферол	0,30±0,01	0,14±0,01	0,11±0,01
Тіамін	0,02±0,005	0,08±0,05	0,02±0,005
Рибофлавін	0,1±0,005	0,01±0,005	0,04±0,005
Аскорбінова кислота	1,1±0,1	2,4±0,1	5,6±0,1
Ніацин	0,6±0,05	0,3±0,05	0,3±0,05

Таблиця 4.10 – Мінеральний склад зразків солодких страв з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»

Елемент, мг / 100 г	Страва		
	Крем ванільний «Смак життя»	Мус «Едем»	Самбук «Яблунова спокуса»
Fe	0,26 ±0,01	0,60±0,01	1,24±0,01
K	69,3±0,1	76,1±0,1	162,5±0,1
Ca	58,0±0,1	6,0±0,1	10,0±0,1
Mg	5,9±0,1	3,4±0,1	5,5±0,1
Na	29,3±0,1	6,6±0,1	22,2±0,1
P	230,2±0,1	8,7±0,1	7,8±0,1

Безпечність продукту оцінювали шляхом визначення мікробіологічних показників, вмісту токсичних елементів та радіонуклідів. Мікробіологічна безпечність детально описана у розділі. Результати токсикологічних досліджень зразків солодких страв із напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» наведені в табл. 4.11 та 4.12.

На підставі отриманих даних можна стверджувати, що за мікробіологічними та токсикологічними показниками мус яблучний на крупі манній, самбук яблучний та крем ванільний з НПКПМ повністю відповідають вимогам [103–105].

Згідно [106] зразки солодких страв досліджено на вміст ГМО. Результати показали, що дана продукція не містить генетично-модифікованих організмів.

Проведені дослідження стали основою розробки рекомендацій із використання солодких страв, що виготовляються у закладах ресторанного господарства та на харчових виробництвах.

Мус «Едем», самбук «Яблунева спокуса», крем ванільний «Смак життя» є принципово новими пропозиціями у технології солодких страв. Вони можуть виготовлятися як окремі солодкі страви та подаватися з солодкими соусами на молочній, сметанній, плодово-ягідній основі, з citrusових, какао, шоколаду.

Таблиця 4.11 – Результати токсикологічних досліджень зразків солодких страв з напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»

Показник	Норма, мг/кг, не більше	Фактично, мг/кг		
		мус	самбук	крем
<i>Токсичні елементи</i>				
Свинець	0,1	0,002	0,003	0,01
Кадмій	0,03	Не визначено		
Миш'як	0,05			
Ртуть	0,005			
Мідь	1,0	0,12	0,14	–
Цинк	5,0	0,7	1,2	–
<i>Мікотоксини</i>				
Афлотоксин В <sub>1</sub>	не допускається	Не визначено		
Афлотоксин М <sub>1</sub>	0,0005			
<i>Антибіотики</i>				
Тетрациклінова група	0,01	Не визначено		
Пеніцилін	0,01			
Стрептоміцин	0,5			
<i>Гормональні препарати</i>				
Диетилстильбестрол	не допускається	Не визначено		
Естрадіол-17β	0,0002			

Таблиця 4.12 – Вміст радіонуклідів у зразках солодких страв із напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»

Показник	Допустимі рівні, Бк/кг	Фактично, Бк/кг		
		Мус	Самбук	Крем
<sup>137</sup> Cs	не більше 100	14	14	8
<sup>90</sup> Sr	не більше 20	3	3	0,6

Як гарнір до таких страв рекомендується подавати шматочки свіжих, сушених та консервованих фруктів, ягоди, горіхи, цукати, залиті сиропами, нугою, джемами, варенням, повидлом, медом, карамеллю.

Паралельний моніторинг органолептичних властивостей, а саме напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» показав

можливість його використання не лише у даній групі кулінарної продукції, а ще й у широкому спектрі інших страв, особливо соусах та холодних стравах та закусках, але детальний опис їх рекомендацій виходить за межі мети даної роботи. Підводячи підсумок результатів досліджень, необхідно зазначити, що використання запропонованих розробок із напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» як окремих страв і напівфабрикатів, дозволяє розширити асортимент солодких страв із функціональними інгредієнтами, а використання напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» як складової рецептурної суміші, дозволяє запропонувати споживачу принципово нові види кулінарної продукції, що мають високу біологічну та харчову цінність, нові споживчі властивості та дозволяють підвищити ефективність роботи закладів ресторанного бізнесу у напрямку економічно ефективних технологій страв, що мають лікувально-профілактичний ефект.

## ВИСНОВОК

Згідно наукового обґрунтування та результатів дослідження, описаного у роботі, запропоновано новий підхід до створення харчових продуктів з пробіотичною дією, суть якого полягає у розробці двокомпонентної харчової системи «альгінатна оболонка – інкапсулянт з живими мікроорганізмами» та солодких страв з її використанням.

Аналітичними дослідженнями встановлено, що відсутність у ресторанному господарстві України технологій виробництва та науково обґрунтованих рекомендацій споживання харчової продукції, збагаченої активованими біфідобактеріями, є актуальним завданням, вирішення якого дозволить розширити асортимент функціональних продуктів, поліпшити структуру харчування населення України, покращити стан та здоров'я споживачів і створить новий підхід до розробки харчових продуктів із пробіотичними мікроорганізмами.

Спрогнозовано та обґрунтовано технологію принципово нового сучасного функціонального продукту, представленого у вигляді капсул на основі альгінату натрію з живими пробіотичними мікроорганізмами та солодких страв з їх використанням.

На основі комплексного аналізу теоретичного матеріалу та експериментальних досліджень встановлено, що оболонка капсули захищає активовані біфідобактерії від дії складових шлункового соку.

Розроблено рецептурний склад та вперше доведено можливість використання призначеної для капсулювання суміші на основі сироватки молочної підсирної ( $C_{\text{сух.реч.сироватки}} = 5,0\%$ ;  $C_{\text{CaCl}_2} = 0,5\%$ ;  $C_{\text{NaКМЦ}} = 1,5\%$ ; титр біфідобактерій ВВ 12 =  $10^7$  КУО/г готового виробу) як поживного середовища для пробіотичних мікроорганізмів.

Засобами квантово-хімічного моделювання обґрунтовано модель технологічної схеми виробництва капсул, вперше досліджено процес утворення хелатного комплексу в системі «NaAlg-Ca<sup>2+</sup>» з урахуванням дії розчинника.

За встановленими величинами торсійних кутів стійких GG-дисахаридів при значенні  $\Delta E$  переходів у межах 0,00 кДж/моль визначено теплові ефекти реакцій заміщення в системах гулуронату та мануронату натрію на іони кальцію з перевагою протікання реакції з утворенням CaGu<sub>2</sub>, де  $\Delta H_{\text{Ca-GG}} > \Delta H_{\text{Ca-MM}}$  на 330 кДж/моль.

На основі результатів конформаційного аналізу рівноваги і термодинамічної стійкості в системі «NaAlg-Ca<sup>2+</sup>» встановлено раціональні концентрації компонентів ( $C_{\text{NaAlg}} = 1\%$  та  $C_{\text{CaCl}_2} = 0,5\%$ ), що забезпечать повномірне протікання процесу капсулоутворення; співвідношення «гулуронатні залишки : Ca<sup>2+</sup>» (0,33:0,083 г/г) та параметр – час експозиції у формуючому розчині ( $\tau_{\text{експоз.}} = (1-5) \times 60$  с), що дозволять одержати придатну за фізико-хімічними та органолептичними показниками оболонку.

Досліджено вплив технологічних середовищ на основі розчинів сахарози, етанолу та натрію хлориду (5–20,0%) на технологічні властивості напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами».

Встановлено закономірність змін фізичних та фізико-хімічних характеристик альгінатних оболонок, витриманих у технологічних середовищах: для розчинів сахарози ( $\tau_1 = 120 \cdot 60$  с та  $\tau_2 = 14$  діб); для розчинів етанолу та NaCl ( $\tau = 120 \cdot 60$  с).

За результатами дослідів *in vitro* доведено, що оболонки забезпечують сталість початкового титру біфідобактерій (*Bifidobacterium lactis* BB 12) у кислих середовищах (рН = 1,9–2,2;  $\tau_{\text{експоз.}} = (60–120) \times 60$  с;  $t = 37–40^\circ\text{C}$ ) і деструктують за рН 8,5.

Уперше розроблено технології та рецептурний склад солодких страв – мусу яблучного «Едем», самбуку «Яблунова спокуса», крему ванільного «Смак життя». Встановлено, що за органолептичними показниками раціональним є вміст напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» 15–20,0%. Підтверджено, що розроблені солодкі страви мають високі споживчі властивості та харчову цінність. Концентрація біфідобактерій наприкінці терміну зберігання солодких страв становить не нижче  $10^7$  КУО/г.

З використанням системного підходу вивчено зміни фізико-хімічних та структурно-механічних властивостей солодких страв із напівфабрикатом «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами». Визначено основні фізико-хімічні, технологічні, органолептичні, мікробіологічні та токсикологічні показники напівфабрикату та солодких страв на його основі, розроблено рекомендації з їх використання у закладах ресторанного господарства.

Встановлено терміни придатності напівфабрикату «Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами» ( $t = 4–6^\circ\text{C}$  не більше 90 діб) та солодких страв ( $t = 4–6^\circ\text{C}$  не більше 28 діб) за умов герметичної упаковки.



## СПИСОК ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Белоусова Е. А. Возможности лактулозы в коррекции нарушенной кишечной микрофлоры / Е. А. Белоусова // Фарматека (Актуальные обзоры). – 2005. – № 6 (97). – С. 34–38.
2. Пробиотики и функциональное питание / Б. А. Шендеров, М. А. Маквелова, Е. Б. Степанчук, Н. Э. Скиба // Антибиотики и химиотерапия – 1997. – Т. 42, № 7. – 216 с.
3. Ардацкая М. Д. Дисбактериоз кишечника: понятие, диагностические подходы и пути коррекции. Возможности и преимущества биохимического исследования кала : [пособ. для врачей] / М. Д. Ардацкая, О. П. Мишушкин, Н. С. Иконников – М. : Академия, 2004. – 316 с.
4. Няньковский С. Роль пробиотиков в вскармливании детей, профилактике и лечении заболеваний у детей и взрослых / С. Няньковский, Х. Шаевская, Я. Заричанский // Бифи-форм ревью. – 2006. – № 2. – 8 с.
5. Капрельянц Л. В. Функціональні продукти / Л. В. Капрельянц, К. Г. Юргачова. – Одеса : Друк, 2003. – С. 25–34.
6. Функциональные продукты для людей старших возрастов [Электронный ресурс] / Ю. Г. Григоров, А. О. Лымарь, А. Е. Подрушняк, С. В. Воронов // Проблеми харчування. – 2005. – № 2. – Режим доступу : [http://www.medved.kiev.ua/arh\\_nutr/nt2\\_2005.htm](http://www.medved.kiev.ua/arh_nutr/nt2_2005.htm).
7. Пат. 22774 А Україна, А 61 К 35/66. Сухий вуглеводний продукт лікувально-профілактичної дії «Лактовіт» / заявники і патентовласники Гуляєв Зайцев С. С., Макосій Н. Г., Кігель Н. Ф. та ін. – опубл. 30.06.98, Бюл. № 3. – 4 с.
8. Митюрин Д. Будет ли россиянам доступно натуральное молоко? [Электронный ресурс] / Д. Митюрин // Конкуренция и рынок. – 2005. – № 26. – Режим доступа : <http://www.konkir.ru/article.phtml>.
9. Кігель Н. Ф. Технології бактеріальних препаратів для функціональних продуктів і біологічно активних добавок : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора. техн. наук : спец. 03.00.20 «Біотехнологія» / Н. Ф. Кігель. – К., 2003. – 32 с.
10. Пат. 39508 А Україна, МКІ А 23 С 9/123 Спосіб одержання йогурту сухого в капсулах / заявники і патентовласники Єресько Г. О., Кігель Н. Ф., Романчук І. О., Годовіченко О. Г. – опубл. 15.06.01, Бюл. № 5. – 6 с.
11. Пат. 20648 А Україна, А 61 К 35/66. Сухий молочний таблеткований продукт «Лактовіт білковий» для лікувально-профілактичного харчування та спосіб його одержання / заявники і патентовласники Єресько Г. А., Кігель Н. Ф., Седина С. А. та ін. – Опубл. 27.02.98, Бюл. № 1. – 5 с.
12. Пат. 22774 А Україна, А 61 К 35/66. Сухий вуглеводний продукт лікувально-профілактичної дії «Лактовіт» / заявники і патентовласники Гуляєв Зайцев С. С., Макосій Н. Г., Кігель Н. Ф. та ін. – опубл. 30.06.98, Бюл. № 3. – 4 с.
13. Пат. 22655 А Україна, А 23 С23/00. Бактеріальний концентрат «Старт», що використовується для одержання функціональних продуктів / заявники і патентовласники Єресько Г.О., Кігель Н.Ф., Рожанська О.М. – опубл. 07.04.98, Бюл. № 3. – 5 с.
14. Пат. 24636 А Україна, А 23 С 9/12. Спосіб одержання бактеріального концентрату БМК для виробництва продуктів функціонального харчування /

заявники і патентовласники Єресько Г. О., Кігель Н. Ф., Седіна С. А. – Оpubл. 30.10.98, Бюл. № 5. – 4 с.

15. Пат. 24770 А Україна, А 23 К 1/18. Спосіб одержання бактеріального концентрату «Біфідин» для кормових продуктів / заявники і патентовласники Кігель Н. Ф., Тарадій Г. К., Вергелесова Н. О. – Оpubл. 25.12.98, Бюл. № 6. – 5 с.

16. Пат. 521221 А Україна, А 23 С 9/12. Спосіб виробництва кисломолочного продукту / заявники і патентовласники Єресько Г. О., Млечко Л. А., Кігель Н. Ф. та ін. – Оpubл. 16.12.2002, Бюл. № 12. – 4 с.

17. Пат. 33321 А Україна, С 12 N 1/20. Спосіб одержання кисломолочного продукту «Біовіт» / заявники і патентовласники Єресько Г. О., Масіч Л. В., Вознюк О. В., та ін. – опубл. 29.12.1999, Бюл. № 8. – 6 с.

18. Пат. 57022 А Україна, 23 С 11/00. Спосіб виробництва кормового продукту «Біокорм» / заявники і патентовласники Єресько Г. О., Брік Г. Б., Кігель Н.Ф., та ін. – опубл. 16.06.2003, Бюл. № 6. – 4 с.

19. Пат. 57022 А Україна, 23 С 11/00. Спосіб виробництва кормового продукту «Біокорм» / заявники і патентовласники Єресько Г. О., Брік Г. Б., Кігель Н.Ф. та ін. – опубл. 16.06.2003, Бюл. № 6. – 4 с.

20. Тихомирова Н. А. Технология продуктов функционального питания / Н.А. Тихомирова. – М. : Франтэра, 2002. – 213 с.

21. Пономаренко К. П. Дисбактеріоз. Наслідки та лікування [Електронний ресурс] / К. П. Пономаренко, М. О. Ролавін. – Режим доступу: <http://www.medexpert.org.ua>.

22. Кондратюк Н. В. Наукові підходи створення капсульних продуктів із пробіотичними властивостями / Н. В. Кондратюк // Харчові добавки. Харчування здорової та хворої людини : четверта міжгалуз. міжнар. і наук.-практ. конф., 7–9 квіт. 2011 р. : матеріали. – Донецьк : Донец. нац. ун-т екон. і торг. ім. М. Туган-Барановського, 2011. – Т. 2. – С. 69–76.

23. Антоненко О. М. Кисломолочные продукты, содержащие пробиотики, для профилактики и коррекции умеренных нарушений пищеварения [Электронный ресурс] / О. М. Антоненко. – Режим доступа : <http://com-med.ru/magazines/cm/gastro/article/19091>.

24. Пат. 2127529 Российская Федерация МПК А 23 С9/13 Способ получения комбинированного кисломолочного продукта «Сказка» / заявители и патентообладатели Музалев А. А., Семенова В. П. Гос. образоват. учреждение ВПО «Воронежская гос. технол. академия» – № 2008141038/13 заявл.; опубл. 20.04.10.

25. Самойлов А. Функциональные ингредиенты: пробиотики, пребиотики, синбиотики / А. Самойлов // Молочная сфера. – 2010. – № 3 (33). – С. 52–53.

26. Пат. 2175192 Российская Федерация МПК А 23 С 9/12. Способ получения симбиотического кисломолочного желированного продукта // заявители и патентообладатели Андреева М. А., Молокеева Н. В., Молокеев А. В., Никулин Л. Г., Бондаренко Е. П. – опубл. 24.09.03.

27. Пат. 2130269 Российская Федерация МПК А 23 С 9/12. Способ получения симбиотического кисломолочного продукта «Бифацил» / заявители и патентообладатели Байбаков В. И., Молокеев А. В., Никулин Л. Г., Карих Т. Л.,

Андреева М. А., Молокеева Н. В., Яцентюк Р. М.; Гос. науч. центр вирусологии биотехнологии «Вектор». – Оpubл. 20.05.99.

28. Пат. 2264456 Российская Федерация МПК С12 N 1/20. Биопрепарат-пробиотик бифидин для лечения инфекционных заболеваний и дисбиозов различной этиологии и способ лечения инфекционных болезней и дисбиозов различной этиологии / заявители и патентообладатели Пospelова В. В., Ворошила Н. Н., Грачева Н. М., Гаврилов А. Ф., Семенихина В. Ф., Сундукова М. Б., Осипова И. Г. Гос. Учреждение «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского МЗ РФ. – опубл. 20.11.05.

29. Пат. 2113127 Российская Федерация МПК А 23 С 9\12. Способ производства кисломолочного продукта / заявители и патентообладатели Журов С.А., Казаков А. В. – опубл. 20.06.98.

30. Кисломолочні продукти: міфи й реалії? // Молочна промисловість. – 2007. – № 4 (39). – С. 28–30.

31. Дідух Н. А. Рекомендації щодо використання фруктози у виробництві молочних продуктів пробіотичного призначення [Електронний ресурс] / Н. А. Дідух, О. П. Чагаровський, Н. Л. Мудряк // Вісник ДонНУЕТ. – 2005. – № 1 (25). – Режим доступу : [http://www.donduet.edu.ua/docs/vestnik/2005/Vest\\_tehn\\_1\(25\)\\_2005/pok\\_yakosti](http://www.donduet.edu.ua/docs/vestnik/2005/Vest_tehn_1(25)_2005/pok_yakosti).

32. Продукция компании АЛБА-ТИММ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.alba-timm.ru/articles-2.html>.

33. Технологія продуктів харчування функціонального призначення: Монографія / М. І. Пересічний, М. Ф. Кравченко, Д. В. Федорова та ін. – К. – Київ. нац. торг.-екон. ун-т, 2008. – 718 с.

34. Пат. 2096974 Российская Федерация МПК А 23 L 1/29. Способ коррекции углеводного состава пищевых продуктов общего и специального назначения (варианты) / заявители и патентообладатели Чепурной И. П., Кунижев С. М. – Оpubл. 27.11.97.

35. Митюрин Д. Будет ли россиянам доступно натуральное молоко? [Электронный ресурс] / Д. Митюрин // Конкуренция и рынок. – 2005. – № 26. – Режим доступа : <http://www.konkir.ru/article.phtml>.

36. Пат. 2061392 Российская Федерация МПК А 23 L 2/00. Способ приготовления кваса / заявитель и патентообладатель Акционерное общество «Русский йогурт». – Оpubл. 10.06.96.

37. Могилянська Н. О. Розробка технологій ферментованих молочних напоїв діабетичного призначення з використанням комплексів синбіотиків : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук : спец. 05.18.16 «Технологія продуктів харчування» / Н. О. Могилянська. – К., 2009. – 20 с.

38. Пат. 65286 А Україна, МКІ 7 А 23 С 9/12. Спосіб виробництва кисломолочного лікувально-профілактичного продукту «Біфідка» / заявники і патентовласники Васільєва Н. І. Романчук І. О., Кігель Н. Ф., Рожанська О. М., Пічкур Т. В. – Оpubл. 15.03.04, Бюл. № 3. – 4 с.

39. Чуешов В. И. Промышленная технология лекарств. Т. 2 / В. И. Чуешов. – Х. : МТК-книга: НФАУ, 2002. – 716 с.

40. Пат. 2147183 Российская Федерация. Кисломолочный продукт «Нарине» в сухой форме / заявители и патентообладатели Хачатрян А. П., Хачатрян Р. Г. – Оpubл. 24.05.01.

41. Коршунов А. П. Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррекции микрофлоры кишечника / А. П. Коршунов, Б. А. Ефимов, А. П. Пикина // Журн. микробиологии. – 2000. – № 3. – С. 86–91.
42. Пат. 2166936 Российская Федерация МПК А 61 К 9/20. Способ получения дозировочных единиц путём мокрой грануляции / заявители и патентообладатели Де Хан П., Йокоминус А., Звинкелс М., АКЦО Нобель Н. В. – № 97106339/14 ; опубл. 20.05.01.
43. Ганина В. И. Микрокапсулирование как способ защиты пробиотических культур от неблагоприятных факторов / В. И. Ганина, Н. В. Ананьева, Л. В. Калинина // Перспективы производства продуктов питания нового поколения : междунар. науч.-практ. конф. : материалы. – Омск : ОмГАУ, 2005. – С. 100–102.
44. Фридрихсберг Д. А. Курс коллоидной химии / Д. А. Фридрихсберг. – Л. : Химия, 1984. – С. 316–330.
45. Прогнозування умов досягнення конформаційної рівноваги і термодинамічної стійкості в системах «AlgNa-Ca<sup>2+</sup>» / П. П. Пивоваров, С. І. Оковитий, Є. П. Пивоваров, Н. В. Кондратюк та ін. // Наукові праці Одеської нац. акад. харч. технологій. Сер. Технічні науки. – Одеса, 2010. – Вип. 38, т. 2. – С. 148–152.
46. Пат. 2157192 Российская Федерация МПК 7 А 61 К 9/48. Мягкая желатиновая капсула / заявители и патентообладатели Макаров В. Г., Дадали В.А., Шиков А. Н. – опубл. 10.10.00, Бюл. № 28.
47. Пат. 2123343 Российская Федерация МПК А 61 К 35/74. Способ получения капсул, содержащих бактерии *V. Bifidum* (Бифидумбактерин сухой в капсулах) / заявители и патентообладатели Алин Б. И., Красильникова О. Б., Ворончихин А.А., Ким Галина Бен Гон, Чуприна Р. П. – № 97110769 ; опубл. 20.12.98.
48. Сравнительное тестирование – 6 препаратов от дисбактериоза [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.consumerinfo.org.ua>.
49. Пат. 2108787 Российская Федерация МПК А 61 К 31/455. Фармацевтические мягкие капсулы, содержащие лизинхлоникинат, способ их получения / заявитель и патентообладатель Васкес Карлос Е. М., Роммерс С. А. С. – № 93045704/14 ; опубл. 20.04.98.
50. Никитюк В. Г. История, преимущества и современная классификация желатиновых капсул [Электронный ресурс] / В. Г. Никитюк, Н. А. Шемет // Провизор. – 1999. – № 2. – Режим доступа : <http://www.provisor.com.ua/archive/1999/N2/shemet.php>.
51. Разработка микрокапсулированных и гелеобразных продуктов и материалов для различных отраслей промышленности / М. С. Вилесова, Н. И. Айзенштадт, М. С. Босенко и др. // Российский химический журнал. – 2001. – Т. XLV, № 5/6. – С. 2–10.
52. Солодовник В. Д. Микрокапсулирование / В.Д. Солодовник. – М.: Химия, 1980. – 216 с.
53. Пат. 2067114 Российская Федерация МПК С 12 N 1/20. Способ приготовления сухого препарата на основе бифидо- и/или лактобактерий и препарат, изготовленный этим способом / заявители и патентообладатели Нахабин И. М., Перелыгин в. В., Биркина Ю. С., Старцев А. В. Гос. НИИ прикладной микробиологии. – № 5016135/13 ; опубл. 10.03.05.

54. Пат. 6652895 США, МПК<sup>7</sup> A23 L 1/22, A23 G 3/00. Encapsulation compositions / Porzio Michael A., Popplewell Levis M.; Mc Cormich & Co. – № 10/142882 ; заявл. 13.05.03 ; опубл. 25.11.03. – 15 с.
55. Alginate microspheres of *Bacillus subtilis* / [C. Bregni, J. Degrossim, R. Garcia, et al.] // *Ars. Pharmaceutica*, 2000. – № 41:3. – P. 245–248.
56. Sheu T. – Y. Improving Survival of Culture Bacteria in Frozen Desserts by Microentrapment / T. Y. Sheu, R. T. Marshall, H. Heymann // *J. Dairy Sci.* – 1993. – № 76 . – P. 1902–1907.
57. Lee K. – Y. Survival of *Bifidobacterium longum* Immobilized in Calcium Alginate Beads in Simulated Gastric Juices and Bile Salt Solution / K. Y. Lee, T. R. Heo // *J. Dairy Sci.* – 2000. – Vol. 66, № 2. – P. 869–873.
58. Draget K. I. Alginates from Algae. Biosynthesis and Biodegradation / K. I. Draget, O. Smidsrod, G. Skjåk-Braæk. – *Wenheim : WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, 2005. – 30 p.
59. Jung J. K. Survival of Double – Microencapsulated *Bifidobacterium brm* in Milk in Simulated Gastric and Small Intestinal Conditions / [J. K. Jung, J.–H. Kil, S. K. Kim et al.] // *J. Food Sci. Nutr.* – 2007. – Vol. 12. – P. 58–63.
60. Инкапсулированные микронутриенты как компоненты функциональных продуктов питания / А. И. Сидоров, О. В. Манаенков, Е. А. Клиnger, А. В. Савин // *Технология и продукты здорового питания : междунар. науч.-практ. конф. : материалы.* – Саратов : ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2007. – С. 106–109.
61. Пат. 2129809 Российская Федерация МПК 6 А 23 L1/325. Способ получения пищевого продукта в капсулах / заявители и патентообладатели Захарчук А. В., Гневушев Е. Г., Арупонян А. А. – № 98107294/13 ; заявл. 24.04.98 ; опубл. 10.05.99., Бюл. № 13.
62. Пат. 2122464 Российская Федерация МПК В 01 J 13/06. Способ получения микрокапсул / заявители и патентообладатели Латышев В. Н., Наумов А. Г., Боровков Н. Ю., Чиркин С. А. – № 96118078/04 ; опубл. 27.11.98.
63. Деркач Т. М. Сучасні наукові напрями в харчуванні : навч. посібник / Т. М. Деркач, Н. В. Кондратюк. – *Дніпропетровськ : ДНУ*, 2009. – 238 с.
64. Питательные среды для медицинской микробиологии. Поляк М. С., Сухаревич В. И., Сухаревич М. Э., 2002 г. - 72 с.
65. Раевич-Биргер Е. Д. Пособие по приготовлению питательных сред. / Е. Д. Раевич-Биргер – М. : Медицина, 1965. – С. 248.
66. Меркулова О. В. Влияние состава питательной среды на биохимическую активность закваски с бифидобактериями [Электронный ресурс] / О. В. Меркулова, А. Д. Лодыгин // *Сб. научн. Трудов СевКавГТУ. Серия «Продовольствие».* – 2006 – № 2, Режим доступа : [http://www.ncstu.ru/Science/articles/food/2006\\_2/21.pdf](http://www.ncstu.ru/Science/articles/food/2006_2/21.pdf)
67. Cow milk feeding in infancy gastrointestinal blood loss and iron nutrition status./ Fomon S.J., Ziegler E.E., Nelson S.E., Edwards B.B. – *J. Pediatrics* – 1981. – 98 с.
68. Clinical trials prove the safety and efficacy of the probiotic strain *Bifidobacterium Bb12* in follow-up formula and growing-up milks / Haschke F.,

W. Wang, Guozai Ping, Wandee Varavithya, Amornrath Podhipak, Florence Rochat et al. // *Monatsschr Kinderhelikd Suppl* 1, 146: 526-530, 1998.

69. Медицинская микробная экология и функциональное питание. / Шендеров В. А. Т. 3 : Пробиотики и функциональное питание. – М. : Грантъ, 2001 – 288 с.

70. Храмцов А. Г. Молочная сыворотка: переработка и использование / А. Г. Храмцов. – М. : Пищевая пром–сть, 1978. – 272 с.

71. Васи́лин С. В. Промышленная переработка молочной сыворотки / С. В. Васи́лин, П. Г. Нестеренко, Т. К. Ширяева. – М. : Пищевая пром-сть 1976. – 38 с.

72. Пивоваров Є.П. Перспективи використання капсульних структурованих продуктів у харчуванні / Є. П.Пивоваров, Н.В. Кондратюк // Зб. наук. праць ОНАХТ. Одеса : Вид-во ОНАХТ, 2009. – 298 с.

73. Авдєєва О. Ю., Обґрунтування використання альгінату натрію для отримання капсульних продуктів / О. Ю. Авдєєва, О. О. Грінченко, Є. П. Пивоваров // Прогресивні техніка та технології харчових виробництв, ресторанного господарства і торгівлі: Зб. наук. праць – Х. : ХДУХТ, 2005. – Вип.2. – С. 144–148.

74. Авдєєва О. Ю. Вивчення структурно-механічних показників гелів альгінату кальцію для отримання капсульних продуктів / О. Ю. Авдєєва, Є. П. Пивоваров // Вісник ДонНУЕТ. : Донецьк. : ДонНУЕТ, 2007. – № 16. – С. 112–118.

75. Тагер А. А. Физико-химия полимеров : [учеб. пособ.] / А. А. Тагер. – М. : Химия, 1968. – 536 с.

76. Пивоваров Є. П. Вивчення властивостей системи натрію альгінат – кальцію цитрат в умовах створення гранульованих продуктів на основі плодово-ягідної сировини / Є. П. Пивоваров, А. А. Гудковська, В. С. Калина // Харчова наука і технологія. – Одеса : ОНАХТ, 2010. – № 1 (10). – С. 62–63.

77. Зуев В. В. Физика и химия полимеров : [учеб. пособ.] / В. В. Зуев, М. В. Успенская, А. О. Олехнович. – СПб. : СПбГУ ИТМО, 2010. – 45 с.

78. Alginates / S. T. Moe, K. I. Draget, G. Skjåk-Bræk, O. Smidsrod // *Food polysaccharides and their applications.* – New York : Marcel Dekker, 1995. – P. 245–286.

79. Rees D. A. Secondary and tertiary structure of polysaccharides in solutions and gels / D. A. Rees, E. J. Welsh // *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* – 1997. – Vol. 16. – P. 214–224.

80. Пронин В. А. Структуры альгината [Электронный ресурс] / В. А. Пронин. – Режим доступа : <http://www.chem.msu.su/rus/teaching/papers/nemuch.html>.

81. Альгинат натрия [Электронный ресурс] // Химическая энциклопедия. – Режим доступа : <http://www.ximuk.ru/encyklopedia/2655.html>.

82. Clark A. H. Structure and mechanical properties of biopolymer gels / A. H. Clark, S. B. Ross-Murphy // *Advances in Polymer Science.* – 1987. – Vol. 83. – P. 59–191.

83. Квантово-химическое моделирование в химических системах [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.wbd.ru>.

84. Методичні вказівки до вивчення курсу «Квантово-хімічні методи дослідження механізмів хім. реакцій» / [укл. : С. І. Оковитий, Л. І. Кас'ян, М. Ф. Сеферова]. – Дніпропетровськ : ДДУ, 1999. – 32 с.
85. Расчетные методы конформационного анализа углеводов / А. Г. Гербст, А. А. Грачев, А. С. Шашков и др. // Биоорганическая химия. – 2007. – Т. 33, № 1. – С. 28–43.
86. Braccini I. Conformational and configurational features of acidic polysaccharides and their interactions with calcium ions: a molecular modeling investigation / I. Braccini, R. P. Grasso, S. Perez // Carbohydrate Research. – 1999. – Vol. 317, № 13. – P. 119–130.
87. Lii J.-H. Molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons – 1 / J. H. Lii, N. L. Allinger, Y. H. Yuh // J. Am. Chem. Soc. – 1989. – Vol. 111, № 23. – P. 8551–8566.
88. Lii J.-H. Molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 2. Vibrational frequencies and thermodynamics / J.-H. Lii, N. L. Allinger // J. Am. Chem. Soc. – 1989. – Vol. 111, № 23. – P. 8566–8575.
89. Lii J.-H. Molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 3. The van der Waals' potentials and crystal data for aliphatic and aromatic hydrocarbons / J. H. Lii, N. L. Allinger // J. Am. Chem. Soc. – 1989. – Vol. 111, № 23. – P. 8576–8582.
90. Кобзев Г. И. Применение неэмпирических и полуэмпирических методов в квантово-химических расчётах / Г. И. Кобзев. – Оренбург : ОГУ, 2004. – 73 с.
91. Квантово-химическое моделирование димера гулурановой кислоты / С. И. Оковитый, П. П. Пивоваров, Е. П. Пивоваров, Н. В. Кондратюк и др. // Вісник ДНУ. Хімія. – Дніпропетровськ : ДНУ, 2010. – Вип. 16, т. 18. – С. 200–204.
92. PCModel v 8.5. – Serena Software : Bloomington, 2003. – 18 p.
93. PCModel v 9.0. – Serena Software : Bloomington, 2005. – 24 p.
94. Stewart J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V (Modification of NDDO approximations and application to 70 elements) / J. J. P. Stewart // J. Mol. Model. – 2007. – Vol. 13, № 12. – P. 1173.
95. Stewart J. J. P. MOPAC2009 [Electronic resource] / J. J. P. Stewart // Computational Chemistry. – Colorado Springs, 2007. – Access mode : <http://OpenMOPAC.net>.
96. Визуализация результатов расчетных программ [Электронный ресурс]. – Режим доступа : [http://www.ivtn.ru/2008/pdf/d08\\_01.pdf](http://www.ivtn.ru/2008/pdf/d08_01.pdf).
97. Панкратов А. Н. Реакционная способность и количественные соотношения структура-свойство / А. Н. Панкратов // Известия Саратовского университета. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2005. – Вып. 1, Т. 5. – 16 с.
98. Система проведения квантово-химических расчетов в системе MOPAC [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.chem.ac.ru/Chemistry/Soft/MOPAC.ru.html>.
99. A DFT Study of the Complexation of Alginic Acid with Ca<sup>2+</sup> Ions / [S. I. Okovytyu, P. P. Pivovarov, E. P. Pivovarov, N. V. Kondratyuk, K. I. Kalashnikova] // 10th Southern School on Material Science and Computational Chemistry. – Jackson, 2010. – P. 62–63.

100. Пивоваров Є. П. Закономірності формування маси оболонки капсул, одержаних шляхом іонотропного гелеутворення / Є. П. Пивоваров, О. Ю. Нагорний // наук. праці Одеської нац. акад. харч. технол. – Одеса, 2010. – № 38, Т. 2. – С. 166–173.
101. Дослідження впливу технологічних факторів на умови культивування біфідобактерій у харчових поживних середовищах на основі сироватки молочної / П. П. Пивоваров, Є. П. Пивоваров, Н. В. Кондратюк, Л. В. Тропко // Вісник Східно-українського нац. технол. ун-ту. – Луганськ, 2010. – № 1 (143), ч. 1. – С. 383–387.
102. Вентцель Е. С. Курс теории случайных процессов / Е. С. Вентцель. – М. : Наука, 1975. – 320 с.
103. Крайнюк Л. М. Про показники якості кулінарної продукції та їх контроль / Л. М. Крайнюк, Л. О. Касілова, Ж. А. Крутовий // Прогресивні техніка та технології харчових виробництв ресторанного господарства і торгівлі : зб. наук. пр. / Харк. держ. ун-т харч. та торг. – Х., 2008. – Ч. 1. – 387 с.
104. МР 4.4.4-108-2004. Періодичність контролю продовольчої сировини та харчових продуктів за показниками безпеки. Методичні рекомендації.
105. МУ 2657-82. Методические указания по санитарно-микробиологическому контролю на предприятиях общественного питания и торговли пищевыми продуктами.
106. Про затвердження Порядку етикетування харчових продуктів, які містять генетично модифіковані організми або вироблені з їх використанням та введення в обіг : постанова Кабінету Міністрів України № 468 від 13.05.2009.
107. Gajewski J. J. MMX: an enhanced version of MM2 / J. J. Gajewski, K. E. Gilbert, J. McKelvey // In Advances in Molecular Modelling. – Liotta, D. A., Ed. JAI Press : Greenwich, 1990. – Vol. 2. – P. 65.
108. COSMO прикладные аспекты применения [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.kirensky.ru>.
109. Квантово-химическое моделирование в программной среде [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.qchem.ru>.
110. Григоренко Б. Л. Моделирование реакций в водных кластерах методами квантовой химии / Б. Л. Григоренко, М. А. Князева, А. В. Немухин // Весник Моск. ун-та. Сер. 2, Химия. – 2001. – Т. 42, № 2. – 92 с.
111. Clark A. H. Structure and mechanical properties of biopolymer gels / A. H. Clark, S. B. Ross-Murphy // Advances in Polymer Science. – 1987. – Vol. 85. – P. 34–159.
112. Takano Y. Benchmarking the Conductor-like Polarizable Continuum Model (CPCM) for Aqueous Solvation Free Energies of Neutral and Ionic Organic Molecules / Y. Takano, K. N. Houk // J. Chem. Theory Comput. – 2005. – Vol. 1. – P. 70–77.



# ДОДАТКИ

## ДОДАТОК 1

### Комп'ютерна реалізація моделювання процесу гелеутворення в оболонках капсул з позиції квантової хімії

Метод молекулярної механіки заснований на допущенні можливості переносу цих параметрів з однієї молекули в іншу, так що чисельні значення параметрів, підібрані для деяких простих молекул, використовуються далі під час прогнозування властивостей інших більш складних сполук [79].

Розрахунки, проведені згідно методу молекулярної механіки, полягають у мінімізації кожного з енергетичних внесків у систему, що дає оптимальні енергії (E) молекули у цілому. Так, за допомогою методу молекулярної механіки одержано інформацію для повного опису геометрії різних конформерів MG, GG, GM та MM-блоків в основному стані й у сідлових точках на поверхні потенційної енергії (ППЕ), наведених на рис. 3.5–3.8, а також наведені геометричної будови димерів у просторі. Також були визначені теплоти утворення, енергії напруги, енергії окремих конформерів та висоти бар'єрів для конформаційних перетворень, частоти коливань, розподіл електричного заряду, дипольні моменти, хімічні зсуви у спектрах ЯМР, швидкості хімічних реакцій тощо.

На основі розрахунків структурних параметрів альгінату натрію та енергії димерів поліцукру у рівноважному стані були досліджені можливості їх рухів у середині і між молекулярні, що стали предметом подальшого вивчення засобами методів молекулярної динаміки [80].

1 Програми та методи створення квантово-хімічних моделей засобами методів молекулярної механіки

У роботі були проведені розрахунки методами молекулярної механіки MMX [107] і MM3 [86–88] у програмі PCMODEL [91], а також квантово-хімічним напівемпіричним методом PM6 [88] за допомогою програми MORAC2009 [93].

#### **Програма PCMODEL**

PCMODEL Версія 9.0 являє повний пакет молекулярного моделювання на персональному комп'ютері або робочій станції. Він дозволяє скоригувати хімічні дослідження систем, що розглядаються. В даному випадку альгінатні структури, наведені на рис. 3.10, сконструйовані і побудовані у оболонці програми PCMODEL. Також ця програма дозволяє міняти в намальованих структурах блоки, видаляти атоми, задавати між ними відстань у просторі. Використовуючи команди побудови моделей, можливості програми дозволяють створити структури повністю підлеглі законам стереохімії. У функціях підменю можливе створення бібліотеки часто використовуваних структур у необхідному для даного користувача орієнтуванні. Їх проекції також можна пересувати, зістикувати й видозмінювати на екрані монітора за допомогою звичайних маніпуляцій з мишею.

Версія 9.0 включає підтримку різних силових полів MMX, MM3, MMFF94, Amber і Oplsaa. Процедури конформаційних досліджень методом GMMX були включені для пошуку конформацій MG, GG, GM та MM-блоків, Програма дозволила одержати інформацію про міжатомні відстані у структу-

рах, величини кутів і констант зв'язувань. Для більш наочного відображення отриманих даних до програми були додані функції підтримки запису й зчитування PDB і SDF файлів.

PCMODEL підтримується програмами Gaussian, Gamess, Jaguar, ADF, PQS, Turbomole, Hondo, Ampac and Morac. В PCMODEL є можливість створення стандартних вихідних файлів для всіх програм квантової хімії, зміни в стандарті можуть бути внесені за допомогою простих діалогів. Дані квантових розрахунків у програмі відображаються у вигляді структурних моделей. Зображення орбіталей і нормальних вібраційних моделей можуть бути представлені з використанням допоміжних програм Orbdraw and Vibrate. Структури можуть сполучатися з однією або декількома підструктурами. Сполучення може бути виконане шляхом мінімізації або моделювання згідно інших стилів. Є можливість сполучення структур вручну. Специфічні взаємодії введених підструктур можуть бути внесені в обрані ділянки структури. Опції пакета мінімізації для файлів численних структур і вибір мінімізації індивідуальних підструктур дозволяє швидко й легко одержати необхідні результати. Необмежений метод розрахунків Хартри-Фока призначений для сполучених систем забезпечує безпрецедентну точність розрахунків молекулярної механіки для відкритих просторових оболонок. Стандартні RHF розрахунки можуть бути використані для моделювання закритих просторових оболонок, що містять атоми карбону, нітрогену та кисню. Відмінна геометрія специфічних типів ароматичних вуглеводнів забезпечується без  $\pi$ -розрахунків. Крім того, силові поля методів MM3, MMFF94, Amber і Oplsaa включені в програму з усіма відомими в цей час параметрами. Метод MMX для розрахунків водневих зв'язків досить точно враховує кутові залежності й залежності міжатомних відстаней. Специфіка атомів водню може бути врахована як за участю водневого зв'язку, так і без неї. Перехід зі стану моделі в динамічне моделювання здійснюється в PCMODEL шляхом натискання однієї кнопки.

Якщо PCMODEL все-таки не має необхідних для проведення моделювання параметрів, то можливо додати свої параметри в загальну базу даних. Так, можливо додати кути зв'язувань, довжини зв'язків, торсійні константи та інформацію про диполі шляхом створення, зручних для зчитування файлів. Індикація опцій у програмі PCMODEL запущена в дію для того, щоб доповнити комплекс складних розрахунків у наданні необхідної інформації про хід моделювання. Заряджені поверхні, сили Ван-Дер-Ваальсової взаємодії, поверхні сольватованих і гідратованих об'єктів відбиваються на екрані монітора й можуть бути роздруковані. Програма також дозволяє проводити моделювання в системі поліпептидів і поліциукрів.

Геометрія моделей і величини зарядів можуть легко відобразитися на екрані. Міжатомні кути й відстані, торсійні кути, водневі зв'язки й заряди атомів відбиваються за допомогою обраних опцій. Інформацію про отримані моделі можна порівняти між собою [92].

Таким чином, програма PCMODEL містить усі необхідні функції для створення квантово-хімічних моделей складних органічних молекул. Тому по-

передню оптимізацію залишків уронових кислот було здійснено за процедурою методів ММХ та ММЗ.

### Метод ММХ

За процедурою ММХ атоми розглядаються як ньютонівські частинки, що взаємодіють між собою засобами деяких емпірично заданих потенціальних полей. Потенційна енергія такої взаємодії залежить від довжин та кутів зв'язків, торсійних кутів та нековалентних взаємодій (в тому числі Ван-дер-Ваальсових, електростатичних та водневих зв'язків). У цих розрахунках діючі на атоми сили, представлені у вигляді функцій координат атомів.

Якщо у робочій області виділити тільки частину системи, тоді розрахунку підлягатимуть взаємодії тільки виділеного сегменту. Під час оптимізації геометрії та розрахунках методом молекулярної динаміки, в цьому випадку тільки атоми виділеної ділянки будуть змінювати своє положення у просторі, в той час, як неозначені сегменти будуть стаціонарні у просторі. При цьому у розрахунках будуть враховуватись потенційні взаємодії між частинами системи.

Перед початком оптимізації у діалоговому вікні обирають *Силове поле (Force field)*, тобто потенційну функцію для розрахунків.

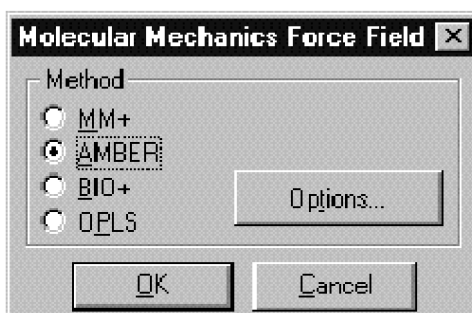


Рисунок 1 – Діалогове вікно для вибору методу молекулярної динаміки

Серед представлених чотирьох методів для розрахунку органічних молекул поліцукрової природи необхідно обрати процедуру ММ+, тому що інші методи призначені для оптимізації білків та нуклеїнових кислот.

Метод ММ+ враховує потенційні поля, які формуються усіма атомами системи та дозволяє гнучко модифікувати параметри розрахунку залежно від конкретної задачі, що з одного боку робить його найбільш узагальненим, з іншого – значно збільшує необхідні ресурси порівно з іншими методами молекулярної механіки. Ряд можливостей для зміни параметрів цього методу можна отримати, обравши пункт підменю *Options* у пункті меню вибору *Силового поля* (рис. А.2).

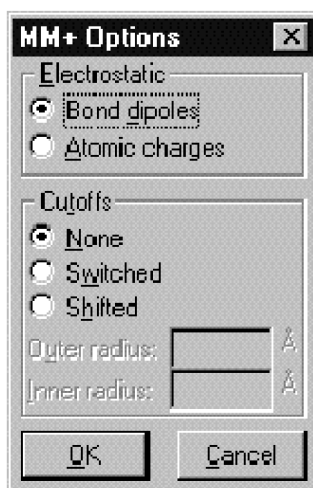


Рисунок 2 – Діалогове вікно молекулярної механіки MM+ Options

Діалогове вікно MM+ містить набір налаштувань для відповідного силового поля.

**Electrostatics (Електростатика).** Нековалентні електростатичні взаємодії розраховуються з використанням взаємодій дипольного типу або часткових атомних зарядів.

*Bond dipoles* використовується для розрахунків нековалентних електростатичних взаємодій. Значення цього параметру визначається у файлі параметрів MM+.

*Atomic charges* використовується для розрахунків нековалентних електростатичних взаємодій. Тут можливо задати неповні (часткові) атомні заряди за допомогою меню **Build**, пункту *Set Charge* або провести напівемпіричні чи ab initio розрахунки, спочатку розрахувавши часткові заряди для кожного атома за методом Муллікена.

**Cutoffs (Відключення).** Цей параметр визначає мінімальну відстань для нековалентних взаємодій.

*Switched* вводить функцію, що згладжує розрахунки молекул у *Periodic Box* (Періодичному ящику). Цей підхід дозволяє плавно зменшувати слабкі взаємодії аж до нуля при переміщенні з внутрішньої сфери у зовнішню. У цьому випадку встановлюється параметр *Switched* та значення внутрішньої (*Inner*) та зовнішньої (*Outer*) сфер (*Spheres*).

*None.* Цей параметр встановлюється для розрахунку систем у вакуумі.

*Shifted* вводить згладжуючу функцію, яка діє на весь простір від 0 до зовнішньої сфери. Ця функція дозволяє плавно зменшувати нековалентні взаємодії до 0.

*Outer radius* для параметрів *Switched* та *Shifted* визначає мінімальну відстань, на якій нековалентні взаємодії сягають значення 0. Зазвичай це значення обирається не менш ніж на 4 Å більше від внутрішнього радіусу. Для періодичних граничних умов це значення дорівнює половині мінімального розміру періодичного ящика.

*Inner radius* обирається тільки у випадку установки *Switched cutoffs*. Це максимальна міжатомна відстань для повного врахування нековалентних

взаємодій. У випадку вибору періодичних граничних умов це значення обирається на  $4 \text{ \AA}$  менше, ніж половина максимального розміру періодичної скрині, або навіть менше із можливістю встановлення значення 0.

Установки **Cutoffs** повертаються до своїх стандартних значень у випадку, коли у робоче поле поміщається нова молекула [108].

### **Методи MM2/MM3**

Методи MM2 та MM3 схожі між собою. Різниця складається у тому, що останній має деякі розширені опції порівняно із своїм попередником, а також здатен за більш короткий час провести оптимізацію досліджуваних систем.

Для первинної оптимізації геометрії використовується силове поле MM2/MM3. У силу своєї економічності з точки зору витрат машинного часу дані методи використовуються, в основному, для первинного аналізу конформаційної заселеності.

За старту для методів МО було обрано геометрію уронових залишків, отриману за методом MM3. Результати моделювання було порівняно із аналогічними результатами за процедурою MM+. Дані проведеної оптимізації достатньо точно збігались за усіма параметрами, що надало змогу обрати метод MM3 у якості базового для проведення подальших етапів квантово-хімічного моделювання.

Для виводу прогностичних співвідношень доцільно використовувати напівемпіричні квантово-хімічні методи. Так, газофазні квантово-хімічні розрахунки проводились методами PM3 та PM6 (модель континуума, що поляризується) за програмами з пакету MOPAC з повною оптимізацією геометрії [98].

## **1. Програми та методи проведення оптимізації геометрії квантово-хімічних моделей за допомогою напівемпіричних методів**

До сих пір для вирішення багаточисельних інтерпретаційних задач хімії зберігають свої значення напівемпіричні квантово-хімічні методи. Вони здатні пояснити та прогнозувати важливіші риси структури та реакційної здатності сполук, що складаються з великих молекул, макромолекул, періодичних структур та при цьому відтворюють фізико-хімічні властивості молекулярних систем та речовин тестової оболонки. Використання напівемпіричних методів є перспективним для моделювання специфічних та неспецифічних ефектів розчинників, для вивчення тонких деталей електронної будови молекулярних систем, електронних ефектів у молекулах, природи хімічного зв'язку, дисперсійних та інших слабких взаємодій, адсорбції, каталізу, для аналізу поверхонь потенційної енергії більшості типів реакцій [96].

За своєю суттю напівемпіричні методи аналогічні неемпіричним методам розв'язання рівняння Шредингера для багатоатомних молекулярних систем, однак для полегшення розрахунків у напівемпіричних методах вводяться додаткові спрощення. Як правило, ці спрощення пов'язані із валентним приближенням, тобто засновані на описі лише валентних електронів, а також зі зневагою певними класами молекулярних інтегралів у точних рівняннях того

емпіричного методу, в рамках якого виконується напівемпіричний розрахунок. Інші молекулярні інтегралі (або їх лінійні комбінації) замінюються на емпіричні параметри, значення яких визначаються з умови співпадіння розрахункових та експериментальних характеристик для визначення базових молекул.

Вибір емпіричних параметрів заснований на узагальненні досвіду неемпіричних розрахунків, урахуванні хімічних уявлень про будову молекул та феноменологічних закономірностей. Зокрема, ці параметри необхідні для апроксимації впливу стаціонарних електронів на валентні, для завдання ефективних потенціалів, що створюються електронами остову тощо. Використання експериментальних даних для калібрування емпіричних параметрів дозволяє усунути помилки, зумовлені згаданими вище спрощеннями, однак лише для тих класів молекул, представники яких виконують роль опорних молекул, і лише для тих властивостей, за якими параметри визначено.

Найбільш поширені напівемпіричні методи, засновані на уявах про молекулярні орбіталі. У комбінації із ЛКАО-наближенням це дозволяє виразити гамільтоніан молекули через інтегралі на атомних орбіталях. При побудові напівемпіричних методів у молекулярних інтегралах виділяють добуток орбіталей, залежних від координат одного й того ж електрону (диференційні перекривання), і зневажають на деякі класи інтегралів. (CNDO-complete neglect of differential overlap). Застосовують також часткове або модифіковано часткову зневагу диференційним перекриванням (INDO- intermediate neglect of differential overlap або Mindo-modified INDO), зневага двохатомним диференційним перекриванням (neglect of diatomic differential overlap (NDDO), модифіковану зневагу двохатомним перекриванням (modified neglect of diatomic overlap, MNDO). Як правило, кожний з напівемпіричних методів має декілька варіантів, які прийнято вказувати у назві методу цифрою або буквою після ко-сої риски. Наприклад методи CNDO /2, MNDO /3, MNDO /2 параметризовані для розрахунків рівноважної конфігурації ядер молекули в основному електронному стані, розподілу заряду, потенціалів іонізації, ентальпій утворення хімічних сполук, метод CNDO використовується для розрахунків спінових густин. Для розрахунків енергій електронного збудження застосовують спектроскопічну параметризацію (метод NDDO/3).

Поширене також використання в назвах напівемпіричних методів відповідних програм для ЕОМ. Наприклад один з розширених варіантів методу MNDO називають Остинською моделлю, як і відповідну (Austin model, AM). Є декілька сотень різних варіантів напівемпіричних методів, зокрема розроблені напівемпіричні методи, аналогічні методу конфігураційної взаємодії. За зовнішньої схожості різних варіантів напівемпіричних методів, кожний з них можна застосовувати для розрахунків лише тих властивостей, за якими проведено калібрування емпіричних параметрів.

Під час вивчення макромолекул, наприклад білків, поліцукрів або кристалічних утворень нерідко користуються напівемпіричними методами, у яких електронна будова не аналізується, а визначається безпосередньо поверхня потенційної енергії. Енергію системи приблизно вважають сумою парних потенціалів взаємодії атомів. Такі напівемпіричні методи дозволяють проводити

розрахунки рівноважної геометрії, конформаційних ефектів, енергії ізомеризації тощо. Часто парні потенціали доповнюють певними для окремих фрагментів молекули багаточастковими виправленнями. Напівемпіричні методи такого типу, як правило, відносять до молекулярної механіки.

У більш широкому розумінні до напівемпіричних методів відносяться будь-які методи, у яких визначені розв'язком зворотних завдань параметри молекулярної системи використовуються для прогнозувань нових експериментальних даних, побудови кореляційних співвідношень. У цьому сенсі напівемпіричними методами вважаються методи оцінки реакційної здатності, ефективних зарядів на атомах тощо. Комбінація напівемпіричних розрахунків електронної будови з кореляційними співвідношеннями дозволяє оцінювати біологічну активність різних речовин, швидкості хімічних реакцій, параметри технологічних процесів. До напівемпіричних методів відносяться й деякі адитивні схеми, наприклад ті, що застосовуються в хімічній термодинаміці, такі як методи оцінки енергії утворення як суми внесків окремих фрагментів молекули.

Інтенсивний розвиток напівемпіричних методів і неемпіричних методів квантової хімії робить їх важливими засобами сучасних досліджень механізмів хімічних перетворень, динаміки елементарного акту хімічної реакції, моделювання біохімічних та технологічних процесів. При правильному використуванні (з урахуванням принципів побудови й способів калібрування параметрів) напівемпіричні методи дозволяють одержати надійну інформацію про будову й властивості молекул, а також їх перетворень [80].

### **Програма МОРАС**

Добре відомий у нашій країні й дуже популярний у світі комплекс напівемпіричних програм МОРАС розроблений Дж. Стьюартом (J.J.P.Stewart). МОРАС може застосовуватися при розрахунках електронної структури основного й збуджених станів атомів, молекул і твердих тіл. В МОРАС реалізовані наступні напівемпіричні методи: MINDO/3, MNDO, AM1 і PM3.

МОРАС дозволяє розраховувати гігантські (> 10 000 атомів) біомолекули (у тому числі ферменти, ДНК, поліцукри тощо) на основі використання локалізованих молекулярних орбіталей; збуджені й основні стани молекул у розчині; зонну структуру твердих тіл; перетинання станів різної симетрії; молекули з урахуванням d-АО.

У новій версії–МОРАС–2002 з'явилися наступні нові можливості: додані параметри AM1 для V і Pd, так що в spd-базисі тепер можна розраховувати наступні метали: V, Fe, Cu, Mo, Pd, Ag і Pt; з'явився новий набір параметрів PM5, що включає параметри для всіх нерадіоактивних елементів головних груп, а також Zn, Cd і Hg. PM5 дає в середньому в 4 рази більш точні теплоти утворення, ніж AM1 та PM3; для методів MNDO, AM1, PM3 також включені параметри для всіх елементів, доступних в PM5; поліпшена реалізація методу COSMO: тепер стало можливим розраховувати більші системи, а час розрахунків лише на чверть збільшено, порівняно із газофазними; в SCF/MOZYME додана процедура зсуву рівня для прискорення збіжності [97].



## Методи PM3 та PM6

Необхідно чітко усвідомлювати те, що результати напівемпіричних розрахунків не можуть достатньо точно передавати одночасно всі фізичні й хімічні властивості молекул. По-перше, спрощення теорії неминує приводить до закругленню результатів розрахунків, по-друге, підгонка параметрів проводиться за однією, рідше за декількома властивостями. У зв'язку із цим виникають різні параметризації методів, що покликані задовільно описувати певну властивість або групу властивостей.

Спрощені теоретичні моделі повинні задовольняти наступним основним вимогам:

1. Напівемпіричні методи повинні бути достатньо прості, щоб їх можна було б застосовувати для розрахунків великих молекул.
2. За допомогою параметризації вони повинні компенсувати недоліки методу Хартри-Фока (електронну кореляцію, енергію нульових коливань).
3. Результати розрахунків повинні бути інваріантні стосовно ортогональних перетворень АО. Це означає, що такі величини, як ентальпія утворення, дипольний момент, електронний розподіл тощо не повинні залежати від повороту молекули в просторі.

У напівемпіричних методах багатоцентрові інтеграли взаємодії приймаються рівними нулю, що також суттєво скорочує час розрахунків. На методи *NDDO* засновані найбільш точні напівемпіричні методи, найбільше поширення одержали процедури MNDO (М. Дьюар, 1977), AM1 (М. Дьюар, 1985) і PM3 (Дж. Стюарт, 1989).

У методі MNDO враховуються інтеграли міжелектронного відштовхування, що включають одноцентрові перекривання.

У параметризації AM1 (Austin Model) у вираженні для  $E_{core}$  включені додаткові члени, які можна розглядати як члени ван-дер-ваальсового відштовхування. У результаті метод AM1 краще відтворює водневий зв'язок і дає кращі результати для активаційних параметрів, ніж метод MNDO.

Метод PM3 дуже близький до методу AM1, відмінність полягає в тому, що в методі PM3 усі параметри, що апроксимують інтеграли взаємодії, підбираються щонайкраще (оптимізуються за допомогою набору сполук із надійно вимірними експериментальними властивостями), тоді як в AM1 інтеграли міжелектронної взаємодії розраховуються з експериментальних спектроскопічних даних для атомів.

Відмінною рисою методу PM3 є те, що він порівняно з іншими методами непогано відтворює будову та енергетику так званих гіпервалентних сполук. Оскільки розглянуті вище методи засновані на валентному наближенні, тобто в утворенні хімічних зв'язків беруть участь тільки *s*- і *p*-орбіталі, то напівемпіричні методи принципово не придатні для розрахунків сполук, у яких хімічне зв'язування здійснюється за рахунок *d*-орбіталей.

Підводячи підсумок розгляду напівемпіричних методів, відзначимо, що процедури MNDO, AM1 і PM3 забезпечують достатню точність для якісного відтворення багатьох фізико-хімічних властивостей молекул, можуть бути використані для моделювання механізмів хімічних реакцій. Найкраще використо-

увати ці методи для порівняльного аналізу будь-яких властивостей сполук, тоді як надійні кількісні оцінки можна проводити тільки за допомогою *ab initio* методів з інтенсивним урахуванням електронної кореляції [109].

У 1985 році була зроблена спроба щодо поліпшення методу MNDO шляхом додавання стабілізаційної функції Gaussian в основній взаємодії з урахуванням водневого зв'язку (метод AM1). Протягом наступних декількох років, метод був значно поліпшений за допомогою оптимізації параметрів. Результатом цього стала раніше описана процедура PM3. У той же час були запропоновані різні зміни у вихідному наборі наближень, використовуваних в MNDO, найбільш важливими з яких були крім розрахунків d-орбіталей, введення двохатомних параметрів. Подальші вдосконалення привели до розробки нового методу, що складається з остаточного набору наближень, що використовуються в оптимізованих параметрах. Цей метод використовується як параметричний метод під номером 6, або PM6. Назву процедури PM6 було обрано в запобіганні плутанини із двома іншими методами PM4 і PM5 [93].

## **2. Програми та методи створення квантово-хімічних моделей у полі розчинника**

Неемпіричні методи квантової хімії досить активно застосовуються при моделюванні будови й динаміки молекулярних систем, причому акценти усе більш зміщаються у бік розрахунків елементарних хімічних реакцій у конденсованих середовищах. Згідно зрозумілих причин реакціям у водному середовищі приділяється особлива увага. Теоретичні підходи до розрахунків енергетичних профілів реакцій у полярних розчинниках, зокрема у воді, ґрунтуються або на континуальних, або на кластерних моделях. Опис молекул розчинника ефективними фрагментами при повній оптимізації геометричних параметрів усієї системи впродовж усієї реакції дозволяє значно прискорити розрахунки енергетичних профілів [110].

### **Програма Gaussian**

Програмні комплекси Gaussian на даний момент є найбільш популярним засобом виконання неемпіричних квантово-хімічних розрахунків. Основними причинами цього являються широкий спектр реалізованих квантово-хімічних методик, висока ефективність і зручний інтерфейс користувача. Нещодавно розроблена версія Gaussian-2003 (G03) відрізняється від Gaussian-98 (G98) у першу чергу розширенням спектра квантово-хімічних методів та їх модифікацій, що підтримуються даною програмою. Існують версії комплексів Gaussian практично для всіх апаратних платформ і операційних систем.

Основні можливості пакетів програм G98 і G03:

1. Розрахунки енергій і оптимізація структур досліджуваних систем методами молекулярної механіки, напівемпіричними наближеннями, обмеженим і необмеженим методом Хартри-Фока.

2. Широко реалізовані методи урахування кореляційної енергії – можливі розрахунки енергії та оптимізація з аналітичними градієнтами для методів теорії збурювань, зв'язаних кластерів, конфігураційної взаємодії, функціоналу

щільності, багатоконфігураційного методу самопогодженого поля.

3. Можливість моделювання надвеликих молекулярних систем завдяки методиці порціонування молекул ONIOM, розробленій проф. Морокумой та ін., у якій молекулярна система розбивається на 3 області, які розглядаються з різним ступенем точності.

4. Аналітичне обчислення силових констант для методів RHF, UHF, DFT, RMP2, UMP2 і CASSCF.

5. Можливість розрахунків великого спектру властивостей молекул, у тому числі прецизійне визначення термохімічних параметрів і хімічних зсувів ЯМР.

6. Облік впливу розчинника на властивості досліджуваних систем.

До недоліків комплексів Gaussian можна віднести відносно повільну швидкість роботи, а також високі вимоги, що висуваються до апаратного забезпечення.

Неемпіричний розрахунок багато у чому дуже схожий з відповідними розрахунками з приближенням MNDO та MINDO/3. Для проведення неемпіричних розрахунків дослідники використовують програму Gaussian, оптимізація геометрії за якою може здійснюватись за одним з трьох методів. Якщо специфікація відсутня, програма автоматично обирає *метод Х. Бернарда Шлегеля*. Він також може завдаватись ключовим словом «BERNY». Ця процедура найшвидша з трьох можливих методів, вона розраховує аналітичні градієнти енергії та численно наближену матрицю силових констант, що постійно оновлюється у процесі оптимізації, для оцінки положення мінімуму енергії. Процедура BERNY швидко та ефективно визначає положення мінімуму енергії для класичних структур, однак для циклічних молекул, а також для молекул з незвичайними силовими константами вона може бути неефективною: процес оптимізації проходитиме дуже повільно або взагалі результати будуть невірними.

Другий метод – *метод Метаса-Серженца*. У ньому використовується інша стратегія для пошуку структури з мінімальною енергією. Він працює повільніше ніж попередній метод, але вважається більш надійним.

Третій варіант оптимізації – *метод Флетчера-Пауелла*. Його передбачено для таких ситуацій, коли не представляється можливим розрахувати градієнти аналітичним шляхом. У таких випадках метод Флетчера-Пауелла обирається програмою автоматично. Після цього градієнти енергії оцінюються за методами кінцевих різниць. Така процедура може бути використана для будь-яких способів розрахунку енергії, але вона надзвичайно повільна порівняно з методами аналітичного розрахунку градієнтів (сил на атомах). Стратегія пошуку мінімуму в останньому методі аналогічна реалізованому у програмі MORAC із тою лише різницею, що в напівемпіричних програмах градієнти розраховуються аналітично, а не за методом кінцевої різниці. В останніх версіях Gaussian процедура оптимізації включає аналітичний розрахунок градієнтів за алгоритмом Давідона-Флетчера-Пауелла. Така процедура протікає повільніше, ніж BERNY, але більш надійно визначає положення мінімуму.

Після завершення оптимізації геометрії програма виконує маллікенівський аналіз заселеностей аналогічно тому, що проводиться у комплексі MORAC.

Аналіз заселеності за Маллікеном представляє собою процедуру розподілу електронної густини між атомами та атомними орбіталями, заснований на значеннях коефіцієнтів АО у молекулярних орбіталях та приближенні рівномірного розподілу густини перекривання (приближення Маллікена).

Таким чином, під час оптимізації геометрії за програмою Gaussian значення кожного структурного параметра розраховується у трьох точках: вихідній, а також для більшого та меншого значень параметра. За трьома точками методом параболічного екстраполювання знаходиться вірогідне положення мінімуму параметра, що варіюється, після цього вся процедура повторюється циклічно для кожного параметру до тих пір, поки повна енергія не досягне положення мінімуму [111]. Тому попередню оптимізацію зазвичай проводять у комплексах з напівемпіричними методами розрахунків досліджуваних моделей, а потім об'єкти, що мають мінімальну енергію, переміщують до оболонки програми Gaussian і проводять уточнення отриманих результатів.

### **Методи CPCM та COSMO**

Багато хімічних, біологічних та технологічних процесів протікають у водному середовищі, найбільш сприятливому для полярних та іонних реакцій ніж газова фаза. Багато вчених працювали над розробкою методів для розрахунка енергетичних бар'єрів реакцій, що протікають у стислій фазі з експериментальною точністю.

Одна з найбільш успішних моделей сольватації – *модель континуума, що поляризує (CPCM)*. Теорія діелектричного континуума з-за порівняно низької ефективності зараз не знайшла широкого використання для опису ефекту гідратації у комбінації з квантово-хімічними розрахунками. CPCM2 та PCM3 два найбільш точних та зручних у використанні методи, що описують модель сольватованого об'єкта. У них розчинені речовини з розчинником представлені моделлю діелектричного континуума. Молекули розчиненої речовини вбудовуються у оточуючі їх порожнини за умов врахування континуума діелектричної проникності. Точність континуальних моделей залежить від декількох факторів. По-перше, найбільш важливим є використання точних умов зв'язування на поверхні порожнин, що містять розчинену речовину. CPCM та PCM визначають порожнини як сферичні оболонки, що центровані на атомах або групах атомів: число таких моделей може бути задано. У середині порожнини діелектрична константа така ж як і у вакуумі, ззовні – приймає значення розчинника, що описується. Після того, як порожнина була описана поверхня плавно відображається у вигляді невеликих ділянок, що називаються тессерами. Кожний з тессерів характеризується положенням центру, плоскості та нормальним електростатичним вектором, що проходить через його центр. Метод CPCM удосконалено та розширено таким чином, що тепер можна обирати порожнини у різній кількості шляхів. У роботі авторів [112] проведено порівняльний аналіз вільної енергії водної сольватації за методами CPCM, Cluster-Continuum Model, COSMO, SM5.42R, PCM та IPCMf з експериментальними даними, у ході якого підтверджується доцільність використання обраних нами методів розрахунків COSMO, PCM та CPCM. Найбільш приближені до експериментальних дані отримані за методом COSMO.

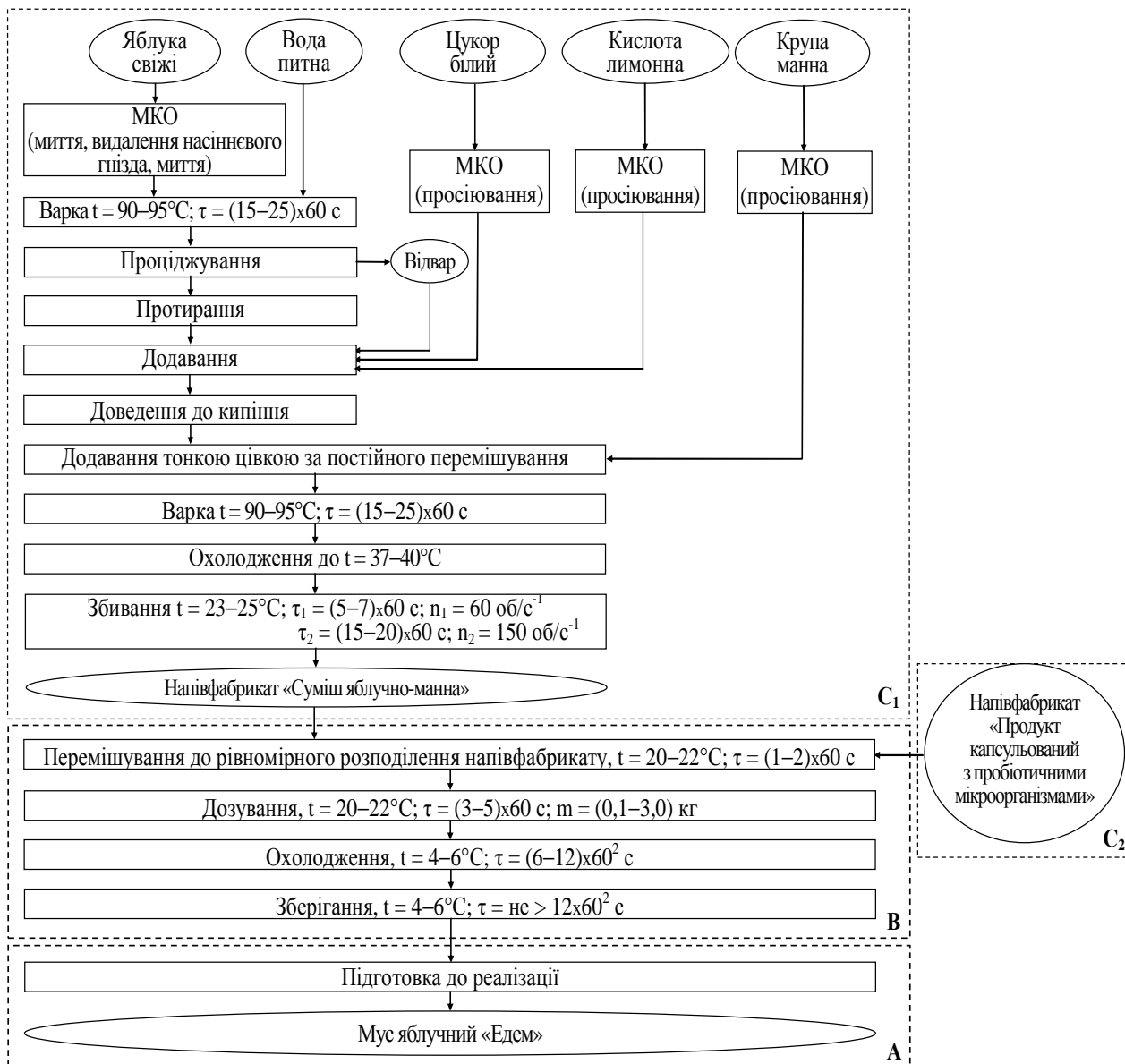
### 3. Програми-інтерпретатори результатів квантово-хімічних розрахунків

У першому наближенні користувач інструментальними засобами та опціями програми VIEWMOL 3D повинен намалювати молекулу у вигляді кулестрижнєвої моделі. Точність молекулярної механіки набагато перевищує те, що така модель відображає, і для вирішення більшості актуальних проблем необхідно найповніше використати таку можливість. Якщо концепція про довжини зв'язків та квалентних кутів достатньо спрощена у додатку до кулестрижнєвої моделі, то простота втрачається, якщо вимагається найбільша точність у знанні геометричних параметрів. Це зумовлюється тим, що в реальних молекулах атоми ніколи не бувають у стані спокою, а постійно здійснюють коливальні рухи. В загальному випадку, ці коливання ангармонійні, а це означає, що прості уявлення про коливальний рух достатньо наближені. Сучасні експериментальні методи вимірюють довжини зв'язків з точністю до  $0,001 \div 0,0001 \text{ \AA}$ , тоді як у результаті коливального руху атоми переміщуються на  $0,01 \div 0,001 \text{ \AA}$ . Таким чином, інтерпретація точного фізичного сенсу прецизійних вимірювань довжин зв'язків стає зовсім нетривіальним завданням, оскільки необхідно проводити усереднене положення атомів вздовж вектору коливального руху.

На сьогодні існує три фізичних метода, що широко використовуються для встановлення точної геометричної будови молекул: рентгеноструктурний аналіз (РСА), призначений для вивчення кристалів, а також електронографія та мікрохвильова спектроскопія, що використовуються для вивчення газоподібних об'єктів. Номінально кожний з цих методів надає довжини зв'язків та валентні кути, але насправді вимірює різні фізичні величини, тому і виправданим є те, що значення вказаних параметрів у незначній мірі залежать від метода вимірювання. На цьому і засновано розробку програм-інтерпретаторів.

Тому результати квантово-хімічних розрахунків представляють файл з великим об'ємом інформації про будову досліджуваної молекули (знаходження ядер у просторі), розподіл електронного густини вздовж молекули, що розраховується як сума густин вірогідності кожного електрона. Виводяться відомості про повну енергію молекули та її складових: електронної енергії та енергії відштовхування ядер, а також величини остової, кулонівської та обмінної енергій. Хвильова функція молекули являє собою матрицю власних векторів (*eigenvectors*) – коефіцієнтів розкладання  $\Psi$  за обраним базисним набором [95,109].

**ДОДАТОК 2**  
**Принципові технологічні схеми солодких страв**  
**з використанням напівфабрикату «Продукт капсульований**  
**з пробіотичними мікроорганізмами»**



**Рисунок 1 – Принципова технологічна схема мусу яблучного «Едем»**

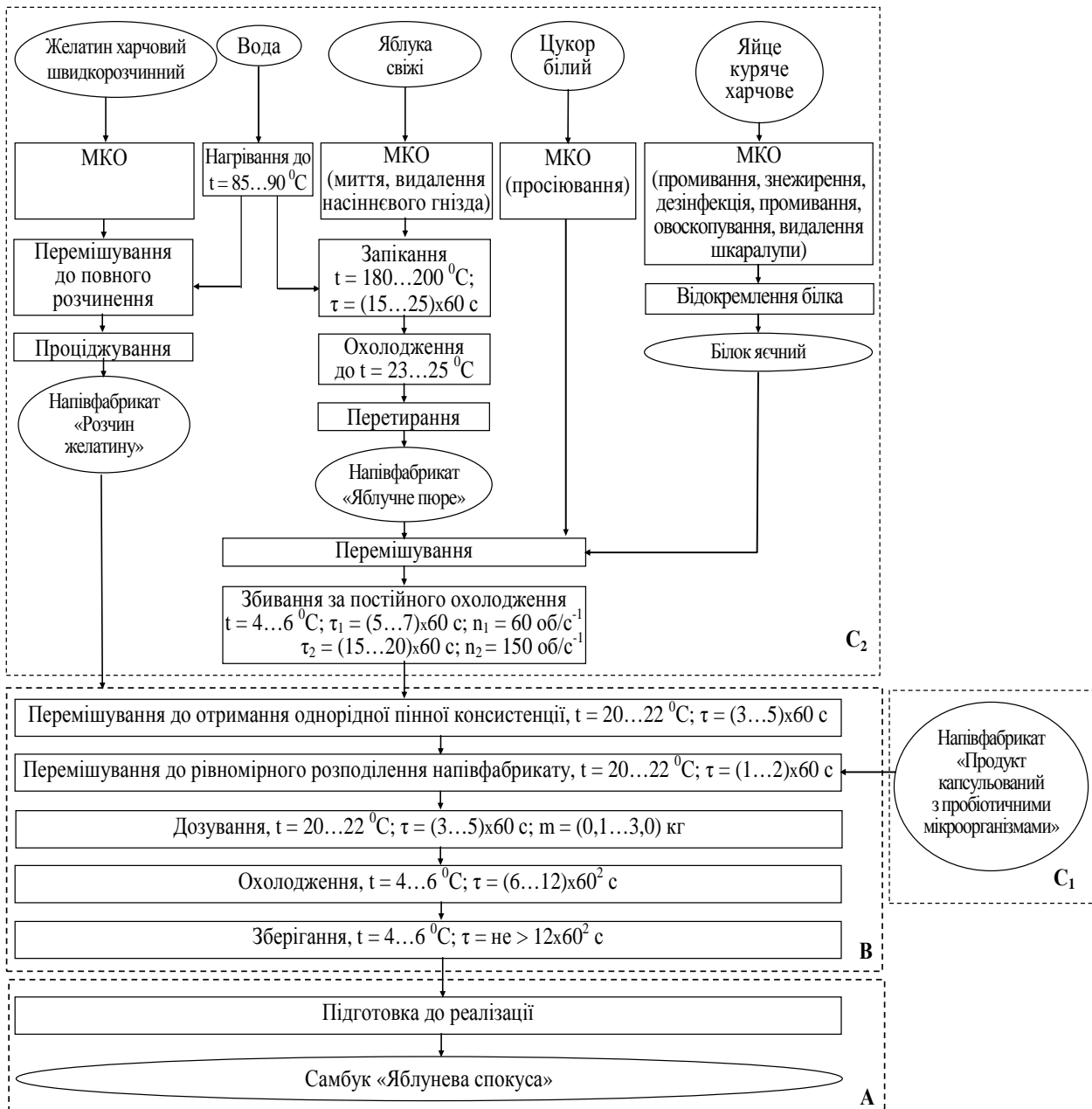


Рисунок 2 – Принципова технологічна схема самбуку «Яблунова спокуса»

**ДОДАТОК 3**  
**Рецептурний склад солодких страв з напівфабрикатом**  
**«Продукт капсульований з пробіотичними мікроорганізмами»**

*Таблиця 1. – Рецептний склад мусу яблучного «Едем»*

Найменування рецептурних компонентів	Витрати сировини на 100 кг продукції, кг	
	брутто	нетто
Альгінат натрію	0,156	0,156
Вода питна	7,724	7,724
<i>Маса напівфабрикату «Розчин альгінату натрію»</i>		7,88
Сироватка суха підсирна	0,605	0,605
Натрій карбоксиметилцелюлоза	0,182	0,182
Хлорид кальцію	0,06	0,06
ВВ-12	0,013	0,013
Вода питна підготовлена	12,386	11,26
<i>Маса напівфабрикату «Рецептурна суміш, що підлягає капсулюванню»</i>	–	12,12
<i>Маса напівфабрикату «Продукт кисломолочний з капсульованими пробіотичними мікроорганізмами»</i>	–	20,0
Яблука свіжі	27,8	24,0
Цукор білий	12,0	12,0
Крупа манна	6,4	6,4
Кислота лимонна	0,12	0,12
Вода питна	60,0	60,0
<i>Маса напівфабрикату «Мус яблучний на крупі манній»</i>	–	102,5
<i>Вихід</i>	–	100



Таблиця 2. – Рецептурний склад самбуку «Яблунева спокуса»

Найменування рецептурних компонентів	Витрати сировини на 100 кг продукції, кг	
	брутто	нетто
Альгінат натрію	0,156	0,156
Вода питна	7,724	7,724
<i>Маса напівфабрикату «Розчин альгінату натрію»</i>		7,88
Сироватка суха підсирна	0,605	0,605
Натрій карбоксиметилцеллюлоза	0,182	0,182
Хлорид кальцію	0,06	0,06
ВВ-12	0,013	0,013
Вода питна	12,386	11,26
<i>Маса напівфабрикату «Рецептурна суміш, що підлягає капсулюванню»</i>	–	12,12
<i>Маса напівфабрикату «Продукт кисломолочний з капсульованими пробіотичними мікроорганізмами»</i>	–	20,0
Яблука свіжі	63,6	56,0
Цукор білий	16,0	16,0
Желатин харчовий швидкорозчинний	1,2	1,2
Яйце куряче харчове	160 шт	3,84
Вода для желатину	33,6	33,6
<i>Маса напівфабрикату «самбук яблучний»</i>	–	110,6
<i>Вихід</i>	–	100

Таблиця 3. – Рецептурний склад крему ванільного «Смак життя»

Найменування рецептурних компонентів	Витрати сировини на 100 кг продукції, кг	
	брутто	нетто
Альгінат натрію	0,156	0,156
Вода питна	7,724	7,724
<i>Маса напівфабрикату «Розчин альгінату натрію»</i>		7,88
Сироватка суха підсирна	0,605	0,605
Натрій карбоксиметилцеллюлоза	0,182	0,182
Хлорид кальцію	0,06	0,06
ВВ-12	0,013	0,013
Вода питна	12,386	11,26
<i>Маса напівфабрикату «Рецептурна суміш, що підлягає капсулюванню»</i>	–	12,12
<i>Маса напівфабрикату «Продукт кисломолочний з капсульованими пробіотичними мікроорганізмами»</i>	–	20,0
Молоко коров'яче питне пастеризоване	16,9	16,0
Вершки коров'ячі (35 % жирн.)	40,0	40,0
Цукор білий	12,0	12,0
Ванілін	0,012	0,012
Яйце куряче харчове	160 шт	6,4
Желатин харчовий швидкорозчинний	1,6	1,6
Вода для желатину	12,8	12,8
<i>Маса напівфабрикату «самбук яблучний»</i>	–	88,8
<i>Вихід</i>	–	100

Наукове видання

КОНДРАТЮК Наталія В'ячеславівна  
ПІВОВАРОВ Євген Павлович  
НЕКЛЕСА Ольга Павлівна

**НАУКОВІ АСПЕКТИ ТЕХНОЛОГІЇ СОЛОДКИХ СТРАВ  
З КАПСУЛЬОВАНИМИ ПРОБІОТИЧНИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ**

Монографія

Відповідальний за випуск зав. кафедри технології харчування д-р техн. наук,  
проф. Гринченко О.О.

Техн. редактор А. О. Гончарова

План 2015 р., поз. 265/117

Підп. до друку 14. 12. 2015. Формат 60×84 1/16. Папір офсет. Друк офс.

Ум. друк. арк. 8,7 Тираж 300 прим.

---

Видавець і виготівник

Харківський державний університет харчування та торгівлі

Вул. Клочківська, 333, м. Харків-51, 61051

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи

ДК № 4417 від 10.10.12 р.