



Стабильность капсул с лактобациллами с использованием альгината натрия и хитозана

^{1,2}Е.С. Федорова*, ^{1,3}Л.Р. Хакимова, ²А.В. Миннибаева, ²Р.Р. Фазлинурова, ^{1,3}О.В. Чубукова, ^{1,3}З.Р. Вершинина

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уфимский государственный нефтяной технический университет», кафедра «Школа молекулярных технологий», Российская Федерация, 450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1.

²ООО «Научно-внедренческое предприятие «БашИнком»,

Российская Федерация, 450015, г. Уфа, ул. Карла Маркса, д. 37/4, помещ. 310.

³Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Российская Федерация, 450054, Уфа, пр. Октября, 71, лит. 1Е.

*E-mail: FedorovaKatyaBi@yandex.ru

Резюме

Настоящая статья посвящена исследованию стабильности альгинат-хитозановых капсул, содержащих живые культуры *Lactobacillus plantarum* L1, в течение трехмесячного периода хранения. Использовали культуральную жидкость и осажденную из нее биомассу. Актуальность данной работы обусловлена критической важностью сохранения высокой жизнеспособности пробиотических микроорганизмов на всех этапах — от производства до попадания в целевой отдел желудочно-кишечного тракта. Инкапсуляция живых клеток рассматривается как ключевой технологический подход, позволяющий решить две фундаментальные проблемы пробиотической терапии: обеспечение адресной доставки в кишечник, минуя агрессивную кислую среду желудка, и значительное повышение срока годности препаратов за счет создания защитной оболочки.

В качестве основного метода микрокапсулирования был применен простой и легко масштабируемый капельный метод с использованием шприца. Формирование основной полимерной матрицы капсулы основано на реакции ионной сшивки альгината натрия с хлористым кальцием. Была реализована стратегия двойного покрытия с использованием хитозана, что направлено на повышение механической прочности и снижение проницаемости конечной капсульной оболочки.

Ключевыми контрольными параметрами для оценки эффективности инкапсуляции и стабильности системы служили титр колониеобразующих единиц (КОЕ), отражающий сохранность жизнеспособности микрофлоры, и уровень влажности капсул, показывающий их проницаемость для окружающей их жидкой среды. Предшествующая фаза исследования включала отработку и оптимизацию технологии для создания оптимальных условий. Первичная оценка стабильности проводилась визуально с помощью наблюдения за выделением окраски капсул в дистиллированную воду. Варьируемыми параметрами являлись время сшивки альгината натрия хлористым кальцием, время реакции с хитозаном, концентрации исходного раствора альгината натрия. Также была проверена степень деацетилирования хитозана как параметр для входного контроля.

Ключевые слова: капсулирование, альгинат натрия, хитозан, пробиотики, лактобациллы.

Цитирование: Федорова Е.С., Хакимова Л.Р., Миннибаева А.В., Фазлинурова Р.Р., Чубукова О.В., Вершинина З.Р. Стабильность капсул с лактобациллами с использованием альгината натрия и хитозана. *Biomics*. 2025. 17(4). 317-327. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-28

© Авторы, Е.С. Федорова, Л.Р. Хакимова, А.В. Миннибаева, Р.Р. Фазлинурова, О.В. Чубукова, З.Р. Вершинина, 2025

Stability of lactobacilli capsules using sodium alginate and chitosan

^{1,2}E.S. Fedorova, ^{1,3}L.R. Khakimova, ²A.V. Minnibaeva, ²R.R. Fazlinurova, ^{1,3}O.V. Chbukova, ^{1,3}Z.R. Vershinina

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Ufa State Petroleum Technological University" (USPTU), Department of molecular technologies, 1 Kosmonavtov st., 450064, Ufa, Russian Federation

²Research and Innovation Company Bashkir Innovation Company – Bashinkom LLC, Ufa, 450015, Russian Federation;

³Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Prospekt Oktyabrya, 71, lit. 1E, Ufa, 450054, Russian Federation

*E-mail: FedorovaKatyaBi@yandex.ru

Resume

This article examines the stability of alginate-chitosan capsules containing live *Lactobacillus plantarum* L1 cultures over a three-month storage period. Culture fluid and biomass precipitated from it were used. The relevance of this study lies in the critical importance of maintaining high viability of probiotic microorganisms at all stages—from production to delivery to the target gastrointestinal tract. Encapsulation of live cells is considered a key technological approach for solving two fundamental problems in probiotic therapy: ensuring targeted delivery to the intestine, bypassing the aggressive acidic environment of the stomach, and significantly increasing the shelf life of the drug by creating a protective shell. A simple and easily scalable syringe-based droplet method was used as the primary microencapsulation method. Formation of the capsule's main polymer matrix is based on the ionic cross-linking reaction of sodium alginate with calcium chloride. A double-coating strategy using chitosan was implemented to increase mechanical strength and reduce permeability of the final capsule shell. The key control parameters for assessing encapsulation efficiency and system stability were the colony-forming unit (CFU) titer, reflecting the viability of the microflora, and the capsule moisture level, indicating their permeability to the surrounding liquid environment. The previous phase of the study included technology refinement and optimization to achieve optimal conditions. An initial stability assessment was performed visually by observing the color development of the capsules in distilled water. The variable parameters included the cross-linking time of sodium alginate with calcium chloride, the reaction time with chitosan, and the concentration of the initial sodium alginate solution. The degree of chitosan deacetylation was also tested as an incoming control parameter.

Keywords: encapsulation, sodium alginate, chitosan, probiotics, lactobacilli.

Citation: Fedorova E.S., Khakimova L.R., Minnibaeva A.V., Fazlinurova R.R., Chbukova O.V., Vershinina Z.R. Stability of lactobacilli capsules using sodium alginate and chitosan. *Biomics*. 2025. 17(4). 317-327. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-28 (In Russian)

© **The Authors**, E.S. Fedorova, L.R. Khakimova, A.V. Minnibaeva, R.R. Fazlinurova, O.V. Chbukova, Z.R. Vershinina, 2025

Введение

Пробиотики — это живые микроорганизмы, которые при использовании в достаточных количествах приносят пользу здоровью человека [Хакимова и др., 2023; Dahiya, Nigam, 2022]. Они действуют на организм человека посредством выработки бактериоцинов, короткоцепочечных жирных кислот, регуляции pH кишечника, подавления провоспалительных молекул [Zeng и др., 2024] и модуляции иммунного ответа [Gul, Durante-Mangoni, 2024]. Пробиотики назначаются врачами при проблемах с желудочно-кишечным трактом (ЖКТ), при приеме антибиотиков по разным причинам, лечении ран и т.д. Однако кислотная среда желудка, желчные соли, иммунные клетки и активные формы кислорода в организме человека препятствуют колонизации и росту чужеродных бактерий, входящих в состав пробиотиков, тем самым снижая их терапевтическую эффективность. Поэтому на данный

момент является актуальной разработка стратегий и технологий инкапсуляции живых бактерий с использованием биополимеров для создания защитных оболочек на поверхности бактерий, что позволит решить данную проблему [Teng et al., 2025].

Технология инкапсуляции пробиотиков работает по принципу иммобилизации клеток и осложняется необходимостью сохранения жизнеспособности бактерий во время всего процесса [Naeem et al., 2025]. Поэтому применяются различные биосовместимые инкапсулирующие агенты, которые не только защищают пробиотические бактерии от агрессивных условий окружающей среды и желудка, но и способствуют их росту. Показано, что инкапсулированные пробиотические бактерии с использованием альгината натрия и каррагинана имели высокую выживаемость в условиях кишечника [Afzaal et al., 2019]. Также выживаемость *Lactobacillus acidophilus* после капсулирования в ксантан-хитозановые и ксантан-

хитозан-ксантановыеполиэлектrolитные гели продемонстрировали высокую стабильность при хранении при температуре +4°C по сравнению с неинкапсулированными бактериями [Shu et al., 2017]. При этом самым распространённым и недорогим вариантом инкапсуляции является иммобилизация бактерий в альгинаты с последующей сшивкой хлористым кальцием. Самый простой аппаратный вариант реализации метода – капельный. Также возможно применение дополнительного слоя на основе хитозана для минимизации воздействия кислой среды ЖКТ. Хитозан имеет анионную природу и может образовывать полиэлектролитные комплексы с анионными полимерами, что нашло широкое применение [Сеин и др. (Sein et al.), 2024]. Авторы патента [Сеин и др. (Sein et al.), 2022] утверждают, что капсулы по такой технологии соответствуют требованиям Государственной фармакопеи.

Существуют модификации технологии нанокапсулирования в альгинаты с использованием гексана и четыреххлористого углерода [Кролевец и др. (Krolevets et al.), 2015]. Но возникают сложности в реализации такого способа из-за негативного влияния на жизнеспособность клеток и высокой токсичности соединений, так как снижение жизнеспособности клеток является критичным фактором [Сеин, Кролевец (Sein, Krolevets), 2024].

Хлорид кальция может оказывать ингибирующее действие на некоторые молочнокислые бактерии [Какимова и др. (Kakimova et al.), 2019]. Существует патент [Позднякова и др. (Pozdnjakova et al.), 2023] с точным процентным составом капсулы с каррагинаном, что можно использовать в дальнейших опытах. Возможно использование смеси альгината и желатина для капсулирования [Жумадилова и др. (Zhumadilova et al.), 2023]. В данной работе достаточно подробно описана лабораторная установка и фокус внимания сосредоточен на варьируемых параметрах – температуре гелеобразующей смеси, диаметре инжекторов, процентном составе. В случае альгината натрия целесообразен нагрев не выше 60°C. Подход авторов к работе можно использовать в дальнейшем. Возможно использование технологии распылительной сушки как метода капсулирования для стабильных значений титров бактерий [Rajam, Subramanian, 2022].

В случае решения вопроса технологии капсулирования целесообразно задуматься о комбинированных препаратах с симбиотическим типом воздействия [Хижняк (Khizhnyak), 2016]. Возможно добавление пребиотического компонента – лактитола, который безопасен для людей, не воспринимающих лактозу. Материалы статьи можно использовать для дальнейших разработок в функциональном питании.

Целью работы являлось исследование способности сохранять жизнеспособность лактобацилл после инкапсулирования в течение 3-х месяцев.

Материалы и методы исследований

В качестве исследуемого штамма в работе использовали *Lactobacillus plantarum* L1 (из коллекции микроорганизмов ООО НВП «БашИнком»). В работе использовали культуральную жидкость (КЖ) и осажденную из нее биомассу. Выращивали на среде MPC (*Lactobacillus* MRS agar) (HiMedia, India). Для покрытия капсул брали альгинат натрия (Китай) сшитый хлоридом кальция (Нидерланды) и хитозан (Jiangsu Aoxin Biotechnology Co., Ltd, Китай) с заявленной степенью деацетилирования выше 85%. В дальнейшем степень деацетилирования (DD) была проверена методом потенциометрического титрования раствором 0,1M NaOH с растворением образца в 0,1M растворе HCl [Кучина и др. (Kuchina et al.), 2012]. Перевод хитозана в форму раствора для дальнейшего капсулирования осуществлялся янтарной кислотой (АО «Химреактивснаб», Россия), перед применением раствор хитозана подщелачивали до pH 6 раствором 0,1M NaOH. Нерастворимые примеси удалялись фильтрованием с использованием воронки Бюхнера и колбы Бунзена.

В ходе экспериментальной части делалась отработка технологии инкапсуляции за счет варьирования времени реакции сшивки альгината натрия хлоридом кальция, времени пребывания капсул в растворе хитозана и концентрации раствора альгината натрия. Первичная оценка стабильности проводилась визуально посредством наблюдения за выделением окраски капсул в дистиллированную воду над ними (использовался краситель водорастворимый: для автохимии, бытовой химии, косметики, Синий K199, ECORD, Россия).

После получения визуально стабильного состава проводилось определение исходных параметров *Lactobacillus plantarum* L1 - титра КОЕ в КЖ и в осажденной из нее биомассе посредством серийных разведений, окрашивание по Грамму со взятием материала с чашек для определения титра.

Для определения титра КОЕ проводили поэтапное разбавление и далее посев полученных образцов на чашки Петри. Для этого отбирали 0,5 мл пробы и 4,5 мл физраствора, содержимое пробирки перемешивали с помощью встряхивателя вибрационного типа. Разбавление далее проводили аналогичным способом до 8 пробирки. Перемешанные образцы сеяли на среду MRS. Отбирали 0,1 мл из каждой пробы на чашку и петлей содержимое распределяли равномерно по чашке. Чашки выдерживали в термостате электрическом сухоовоздушном TC-1/80 СПУ в перевернутом виде несколько суток. Для подсчета результатов выбирали чашки с числом колоний от 10 до 100.

Капсулы с лактобациллами с альгинатом натрия и хитозаном

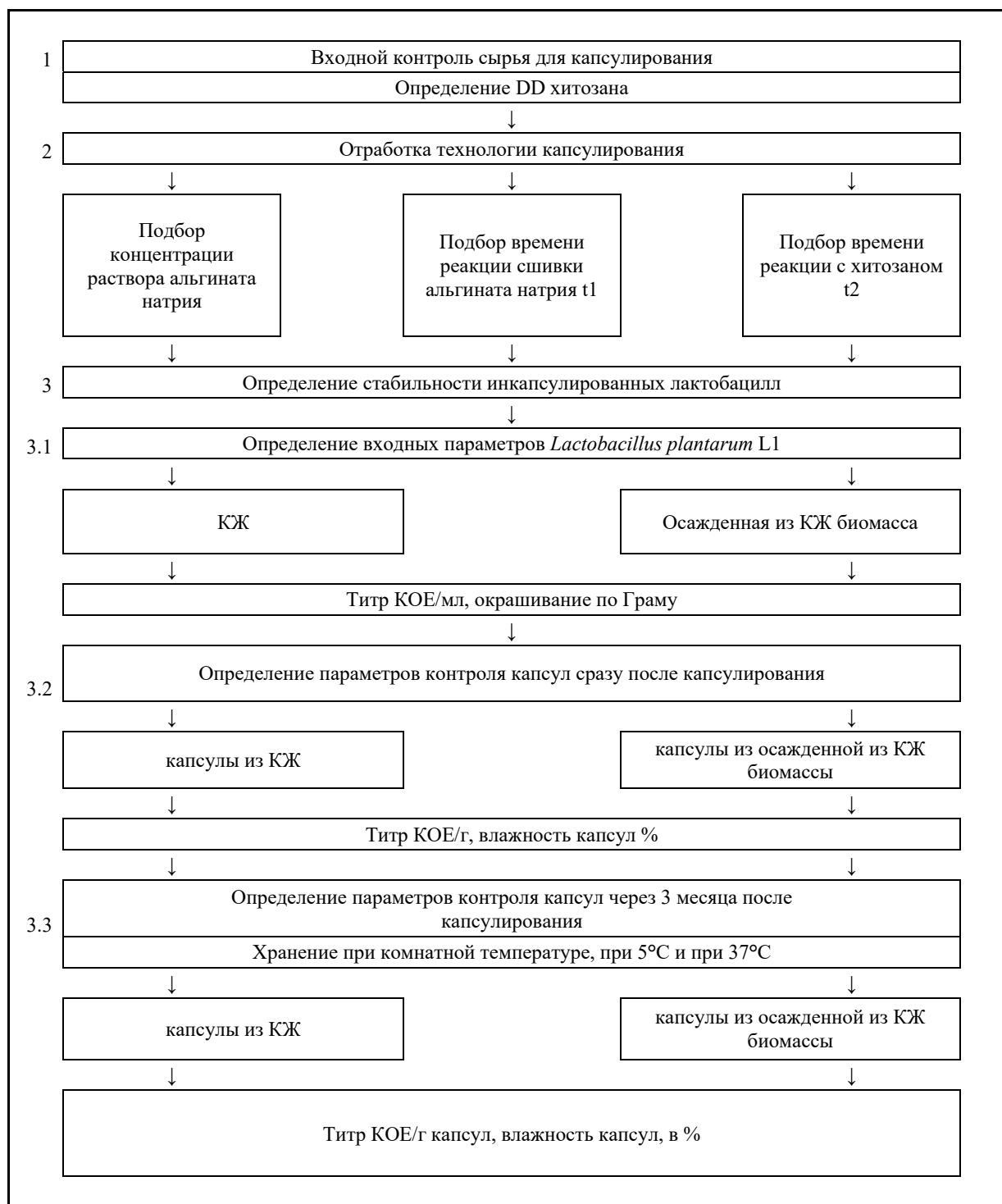


Рисунок 1 – Схема проведения эксперимента / Figure 1 – Experimental scheme

Капсулы изготавливались капельным методом с помощью шприца, объемом 10 мл. Все растворы предварительно стерилизовались с путем автоклавирования при 110°C при 0,5 атм. в течение 30 минут. Для дальнейшего хранения капсулы помещались в дистиллированную воду в стеклянную емкость с закрытой крышкой и хранились при комнатной температуре и при 5°C в холодильнике витрина «ШХС и 370СК» («МХМ», Россия). Титр КОЕ капсул определяли аналогичным способом с использованием их механического разрушения.

Сразу после капсулирования определяли титр КОЕ лактобацилл в микрокапсулах и влажность капсул. По истечении 3 месяцев у капсул определяли титр КОЕ лактобацилл и влажность капсул. Определение влажности капсул проводили на Влагомере весовом серии MX-50 (AND, Япония).

Результаты и обсуждение

На плотной питательной среде *L. plantarum* L1 образовывал выпуклые, непрозрачные, белые колонии округлой формы. Микроскопия после окраски показала грамположительные палочки разной длины, расположенные одиночно, парами, короткими цепочками. Данные характеристики штамма

проверяли на каждом этапе исследования для контроля контаминации препарата.

Для более глубокой отработки технологии и рассмотрения ее возможного масштабирования были частично рассмотрены параметры контроля качества исходных реактивов.

В лабораторных условиях до закладывания эксперимента на стабильность был проведен входной контроль сырья узла капсулирования путем определения титра закладываемой культуральной жидкости, определения степени деацетилирования хитозана. На данном этапе варьируемыми параметрами были: время реакции, концентрации растворов. Схема проведения эксперимента представлена на рисунке 1.

В результате потенциометрического титрования было подтверждено соответствие DD хитозана заявленной в паспорте величине (не менее 85 %). За окончательный результат принимали среднее арифметическое значение результатов трех параллельных измерений, относительное расхождение между которыми не превышало 2 %. Расчетное значение 85,29%. Визуализация результатов титрования первого параллельного измерения представлена на рисунке 2.

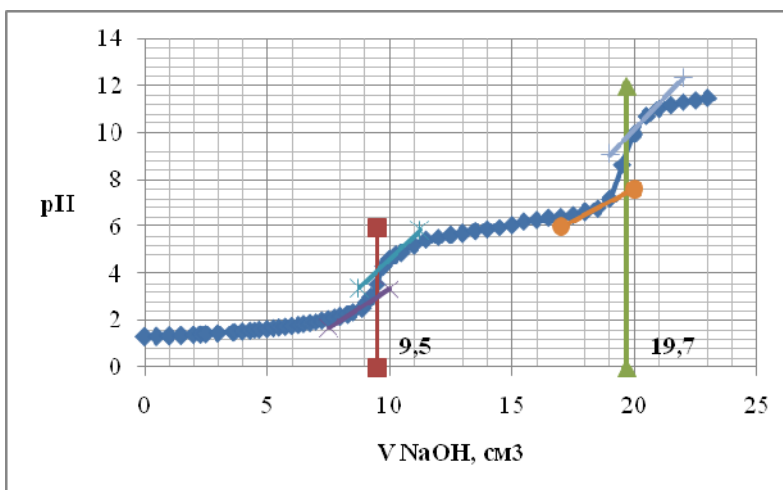


Рисунок 2 – Потенциометрическая кривая определения DD хитозана (первое параллельное измерение)
Figure 2 – Potentiometric curve for determining DD of chitosan (first parallel measurement)

Отработку технологии для упрощения работы вели без учета микробиологической составляющей. Процентный состав раствора альгината натрия учитывал будущее разбавление КЖ и осажденной из КЖ биомассы.

Схема капсулирования представлена на рисунке 3. Процесс начинается с приготовления и автоклавирования растворов. При комнатной температуре вводятся лактобациллы. Инкапсуляция происходит с помощью шприца за счет сшивки

альгината натрия хлористым кальцием. Покрытие layer-by-layer достигается с помощью подщелочённого раствора хитозана. Для промывки капсул используется дистиллированная вода.

Варьируемыми параметрами являлись концентрация альгината натрия и время реакции. Также важным моментом было предварительное автоклавирование раствора альгината натрия, т.к. это влияло на физические свойства - понижало густоту раствора, что влияло на прочность оболочки.

Капсулы с лактобациллами с альгинатом натрия и хитозаном

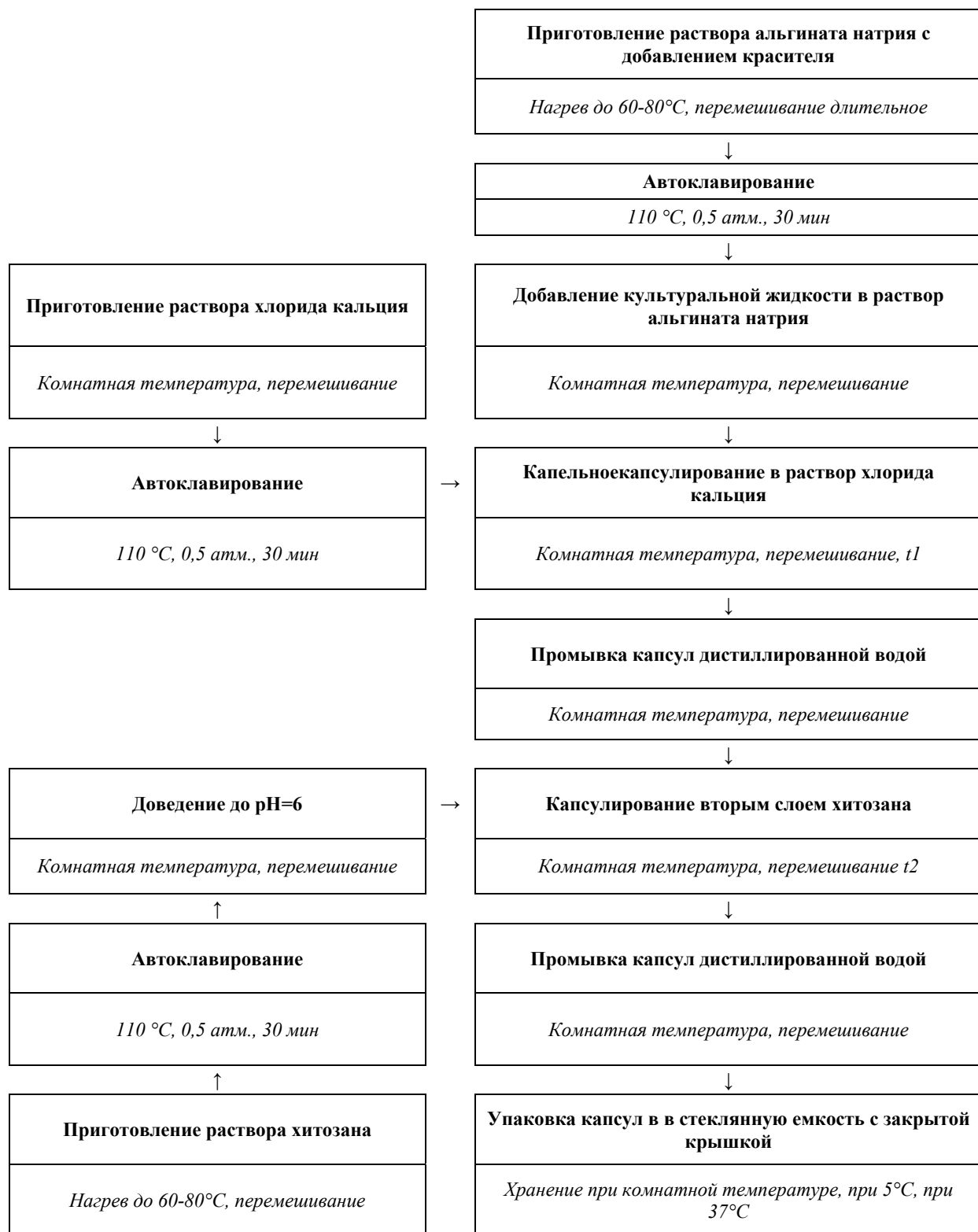


Рисунок 3 – Схема капельного капсулирования / Figure 3 – Droplet encapsulation diagram

Таблица 1 – Отработка технологии капсулирования / Table 1 – Development of encapsulation technology

№	Концентрация альгината натрия в растворе, %	Время реакции альгината натрия и хлорида кальция, t1, мин	Время реакции с хитозаном, t2, мин	Визуальные наблюдения	
				Окрашивание окружающей капсулы дистиллированной воды при наблюдении за стеклянной емкостью 1 месяц	Разрушение оболочки капсул сразу после капсулирования
1	0,5	30	5	насыщенный синий цвет, окрашивается сразу	явное
2	0,5	120	120	насыщенный синий цвет, окрашивается сразу	явное
3	1	60	60	менее насыщенный синий цвет	отсутствует
4	1	120	120	голубой цвет	отсутствует
5	1,2	120	120	голубой цвет	отсутствует
6	1,6	120	120	отсутствует	отсутствует

Использование подкрашивающего реагента показало необходимость увеличения концентрации альгината натрия до 1,6% и увеличения времени реакции до двух часов. Процесс визуального наблюдения представлен ниже (рисунок 4). Показано

снижение интенсивности окраски окружающей капсулы дистиллированной воды и более равномерное вымывание красителя по всему объёму капсул при повышении концентрации альгината натрия и при увеличении времени реакции.



Рисунок 4 – Демонстрация визуальной оценки степени окрашенности окружающей капсулы дистиллированной воды
Figure 4 – Demonstration of visual assessment of the degree of coloration of distilled water surrounding the capsule

Примечание: 1 – Концентрация альгината натрия в растворе – 0,5 %, время реакции альгината натрия и хлорида кальция – 30 мин, время реакции с хитозаном – 5 мин; 2 – Концентрация альгината натрия в растворе – 1 %, время реакции альгината натрия и хлорида кальция – 60 мин, время реакции с хитозаном – 60 мин.

Note: 1 – Sodium alginate concentration in the solution is 0.5%, the reaction time of sodium alginate and calcium chloride is 30 min, the reaction time with chitosan is 5 min; 2 – Sodium alginate concentration in the solution is 1%, the reaction time of sodium alginate and calcium chloride is 60 min, the reaction time with chitosan is 60 min.

Повышение концентрации раствора альгината натрия в сочетании с достаточным временем реакции значительно улучшает механическую стабильность оболочки. При уменьшении этих параметров наблюдается вымывание красителя, неравномерная степень окрашенности капсул и явное разрушение оболочек капсул. Результаты отработки технологии представлены в таблице 1. Максимальную концентрацию альгината натрия выбирали исходя из удобства приготовления, так как из всех

используемых в работе реактивов именно альгинат имеет большее время растворимости.

На плотной питательной среде штамм *L. plantarum* L1 образовывал выпуклые, непрозрачные, белые колонии округлой формы (рисунок 5). Микроскопия после окраски показала грамположительные палочки разной длины, расположенные одиночно, парами, короткими цепочками (рисунок 5). Данные характеристики штамма проверяли на каждом этапе исследования для контроля отсутствия контаминации препарата.

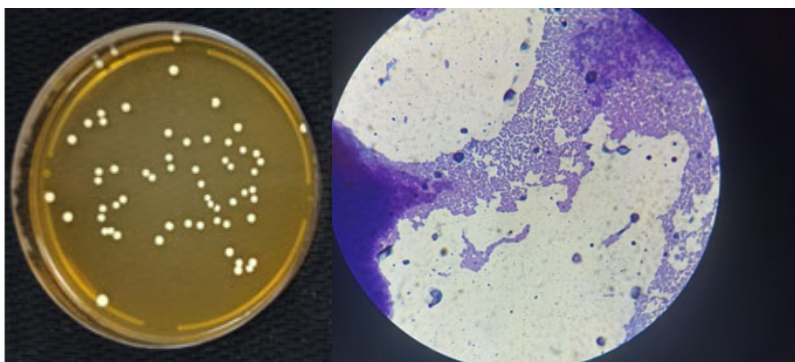


Рисунок 5– Колонии *L. plantarum* (образец для определения титра КОЕ в КЖ, $5,9 \cdot 10^8$ титр КОЕ/мл) и окрашивание по Граму исходной КЖ

Figure 5 – Colonies of *L. plantarum* (sample for determination of CFU titer in CL, $5,9 \cdot 10^8$ CFU titer/ml) and Gram staining of the original CL

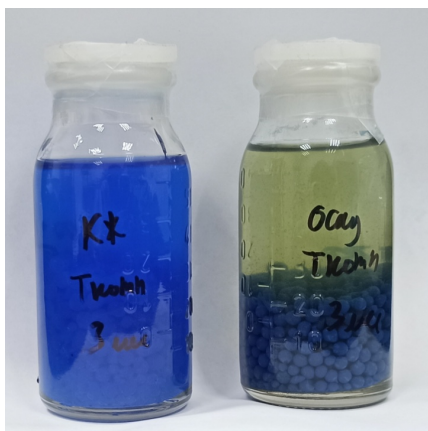


Рисунок 6 – Хранение образцов капсул, содержащих КЖ, в стеклянной таре в течение 3 месяцев в комнатной температуре

Figure 6 – Storage of capsule samples containing LC in a glass container for 3 months at room temperature

Исследуемые образцы лактобацилл смешивали с 2% раствором альгината натрия в соотношении 1:4. Капсулирование проводили в 2,2% растворе хлорида кальция с помощью стерильного шприца объемом 10 мл, для повышения прочности капсулы дополнительно обрабатывали 1,6% раствором хитозана с рН 6. Образцы хранили в таре, представленной на рисунке 6.

Также для определения проницаемости капсул, их набухания в дистиллированной воде проводили определение влажности с помощью влагомера. В результате капсулы с КЖ, хранившиеся в холодильнике 3 месяца, имели более высокую влажность (98,15%), чем капсулы с осажженной из КЖ биомассой, хранившиеся при комнатной температуре 3 месяца (96,86 %).

По истечении 3 месяцев хранения проверяли капсулы на наличие лактобацилл и их количество (таблица 2).

Таблица 2 – Проверка стабильности капсул лактобациллами / Table 2 – Stability testing of lactobacilli capsules

№	<i>Lactobacillus plantarum</i> L1 В капсулах	Время хранения	Температура хранения	Титр КОЕ	Влажность, %
1	КЖ	Анализ до капсулирования	-	1,2*10 ⁸	-
2	осажденная из КЖ биомасса			1,9*10 ⁹	-
3	КЖ	Анализ сразу после капсулирования	-	5,3*10 ⁷	97,96
4	осажденная из КЖ биомасса			1,5*10 ⁶	95,34
5	КЖ	через 3 месяца содержания в капсулах	комнатная	0	98,77
6			+37°C	0	98,93
7			+5°C	3,8*10 ⁶	98,15
8	комнатная		4,5*10 ⁴	96,86	
9	осажденная из КЖ биомасса		+37°C	2,7*10 ³	96,89
10			+5°C	7,3*10 ⁶	96,43

Сразу после капсулирования заметно падение значений титра КОЕ, что объясняется как разбавлением, так и механическим воздействием (процессы перемешивания, инкапсуляции, промывания и т.д.), большее падение значений наблюдается у осажденной из КЖ биомассы. В ходе хранения также наблюдается падение титра КОЕ у всех образцов. Показатели влажности капсул растут. Эти показатели указывают на проницаемость оболочки. Образцы из осажденной из КЖ биомассы более стабильные при хранении, что связано с меньшим разжижением раствора в сравнении с образцами из КЖ. Наилучшие показатели титра КОЕ отмечены при хранении капсул в холодильнике.

Таким образом, выбранная методика капсулирования требует доработок для меньшего снижения титра КОЕ у капсул с лактобациллами. Для капсул с осажденной из КЖ биомассы требуется снижение механического воздействия. Для капсул с КЖ необходимо снизить процент ввода КЖ или же повысить концентрацию альгината натрия. Также необходима дальнейшая доработка технологии с варьируемым временем реакции для повышения стабильности капсул при комнатной температуре.

Литература

- Жумадилова Г.А., Какимов А.К., Абдилова Г.Б. и др. Разработка состава гелеобразующей смеси для оборудования инкапсулирования пробиотиков. *Вестник Алматинского технологического университета*. 2023. (2). 38–46.
- Какимова Ж.Х., Какимов А.К., Бепеева А.Е. и др. Капсулирование пробиотиков в гидрофильные полимеры. Биотехнология и общество в XXI веке: сборник статей Международной научно-практической конференции, Барнаул, 15–18 сентября 2015 года. Барнаул: Алтайский государственный университет. 2015. 176–179.
- Кролевец А.А., Сеин О.Б., Богачев И.А. Способ инкапсуляции лактобифадола. Патент РФ № 2570379. 10.12.2015.
- Кучина Ю.А., Долгопятлова Н.В., Новиков В.Ю. и др. Инструментальные методы определения степени деацетилирования хитина. *Вестник МГТУ*. 2012. 15(1). 107-113.
- Позднякова А.В., Миленцева И.С., Асякина Л.К. и др. Способ производства капсулированной формы пробиотической пищевой добавки. Патент РФ № 2795965. 15.05.2023.
- Сеин О.Б., Гутенева А.И., Желейкин Р.А. Сравнительная оценка биологических свойств лактобифадола после нано- и микрокапсулирования. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2024. (4). 112–115.
- Сеин О.Б., Сеин Д.О., Керимов К.Б. и др. Способ получения микрокапсул пробиотика Ветом 1. Патент РФ № 2781792. 18.10.2022.
- Сеин О.Б., Кролевец А.А. Разработка способов инкапсуляции пробиотика лактобифадола и их сравнительная оценка. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2024. (2). 117–120.
- Хакимова Л.Р., Потапова С.М., Ахметова Л.Р. и др. Изучение биологических свойств аутоштаммов *Lactobacillus* spp. для создания пробиотиков. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023. 68(8). 480-488. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-8-480-488
- Хижняк О.С. Разработка комплексного пробиотического препарата для лечебно-профилактических целей. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2016. № 5 (226). 165–169.
- Afzaal M, Saeed F, Arshad MU et al. The Effect of Encapsulation on The Stability of Probiotic Bacteria in Ice Cream and Simulated Gastrointestinal Conditions.

- Probiotics Antimicrob Proteins*. 2019. 11(4). 1348-1354. doi: 10.1007/s12602-018-9485-9
12. Dahiya D, Nigam PS. Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Fermented Foods as Potential Biotics in Nutrition Improving Health via Microbiome-Gut-Brain Axis. *Fermentation*. 2022. 8(7). 303. DOI: 10.3390/fermentation8070303
 13. Gul S, Durante-Mangoni E. Unraveling the Puzzle: Health Benefits of Probiotics-A Comprehensive Review. *J Clin Med*. 2024. 13(5). 1436. doi: 10.3390/jcm13051436
 14. Naeem H, Shahbaz M, Farooq U et al. Development and Characterization of Synbiotic Microbeads for Enhanced Viability of Probiotics for Food Applications. *J Food Sci*. 2025. 90(7).e70390. doi: 10.1111/1750-3841.70390
 15. Rajam R, Subramanian P. Encapsulation of probiotics: past, present and future. *Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci*. 2022. 11. 46. doi: 10.1186/s43088-022-00228-w
 16. Shu G, He Y, Chen L et al. Microencapsulation of Lactobacillus Acidophilus by Xanthan-Chitosan and Its Stability in Yoghurt. *Polymers (Basel)*. 2017. 9(12). 733. doi: 10.3390/polym9120733
 17. Teng M, Luo X, Chang J et al. Engineering encapsulated living bacteria for advanced healthcare management. *Biotechnol Adv*. 2025. 83. 108640. doi: 10.1016/j.biotechadv.2025.108640
 18. Zeng J, Li Y, Zou Y et al. Intestinal toxicity alleviation and efficacy potentiation through therapeutic administration of *Lactobacillus paracasei* GY-1 in the treatment of gout flares with colchicine. *Food Funct*. 2024. 15(3). 1671-1688. doi: 10.1039/d3fo04858f
 5. Khakimova L.R., Potapova S.M., Ahmetova L.R., Gimranova I.A. Study of biological properties of *Lactobacillus* spp. to create probiotics. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2023. 68(8). 480-488. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-8-480-488 (In Russian)
 6. Khizhnyak O.S. Development of a complex probiotic preparation for preventive-treatment purposes. *Scientific Bulletin of Belgorod State University. Series: Medicine, Pharmacy*. 2016. № 5 (226). 165–169.
 7. Krolevets A.A., Sein O.B., Bogachev I.A. Method of lactobifadol encapsulation. RF Patent No. 2570379. 12.10.2015.
 8. Naeem H, Shahbaz M, Farooq U et al. Development and Characterization of Synbiotic Microbeads for Enhanced Viability of Probiotics for Food Applications. *J Food Sci*. 2025. 90(7).e70390. doi: 10.1111/1750-3841.70390
 9. Kuchina Yu.A., Dolgopyatova N.V., Novikov V.Yu. et al. Instrumental methods for determining the degree of chitin deacetylation. *Bulletin of the Moscow State Technical University*. 2012. 15(1). 107-113.
 10. Pozdnyakova A.V., Milentyeva I.S., Asyakina L.K. et al. A method for the production of a capsule form of a probiotic dietary supplement. Patent of Russian Federation No. 2795965. 05.15.2023
 11. Rajam R, Subramanian P. Encapsulation of probiotics: past, present and future. *Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci*. 2022. 11. 46. doi: 10.1186/s43088-022-00228-w
 12. Sein O.B., Sein D.O., Kerimov K.B. and others. Method of obtaining microcapsules of probiotic Vetom I. Patent of the Russian Federation No. 2781792. 10.18.2022.
 13. Sein O.B., Guteleva A.I., Zheleikin R.A. Comparative assessment of the biological properties of lactobifadol after nano- and microcapsulation. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2024. (4). 112-115.
 14. Sein O.B., Krolevets A.A. Development of probiotic lactobifadol encapsulation methods and their comparative evaluation. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2024. (2). 117-120.
 15. Shu G, He Y, Chen L et al. Microencapsulation of Lactobacillus Acidophilus by Xanthan-Chitosan and Its Stability in Yoghurt. *Polymers (Basel)*. 2017. 9(12). 733. doi: 10.3390/polym9120733
 16. Teng M, Luo X, Chang J et al. Engineering encapsulated living bacteria for advanced healthcare management. *Biotechnol Adv*. 2025. 83. 108640. doi: 10.1016/j.biotechadv.2025.108640
 17. Zeng J, Li Y, Zou Y et al. Intestinal toxicity alleviation and efficacy potentiation through therapeutic administration of *Lactobacillus paracasei* GY-1 in the treatment of gout flares with colchicine. *Food Funct*. 2024. 15(3). 1671-1688. doi: 10.1039/d3fo04858f

References

1. Afzaal M, Saeed F, Arshad MU et al. The Effect of Encapsulation on The Stability of Probiotic Bacteria in Ice Cream and Simulated Gastrointestinal Conditions. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2019. 11(4). 1348-1354. doi: 10.1007/s12602-018-9485-9
2. Dahiya D, Nigam PS. Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Fermented Foods as Potential Biotics in Nutrition Improving Health via Microbiome-Gut-Brain Axis. *Fermentation*. 2022. 8(7). 303. DOI: 10.3390/fermentation8070303
3. Gul S, Durante-Mangoni E. Unraveling the Puzzle: Health Benefits of Probiotics-A Comprehensive Review. *J Clin Med*. 2024. 13(5). 1436. doi: 10.3390/jcm13051436
4. Kakimova J.H., Kakimov A.K., Bepeeveva A.E. et al. Encapsulation of probiotics in hydrophilic polymers. *Biotechnology and Society in the 21st century: collection of articles of the International Scientific and Practical Conference, Barnaul, September 15-18, 2015. Barnaul: Altai State University*. 2015. 176–179. (In Russian)

18. Zhumadilova G.A., Kakimov A.K., Abdilova G.B. et al. Development of the composition of a gel-forming mixture for probiotic encapsulation equipment. *Bulletin of the Almaty Technological University*. 2023. (2). 38–46. (In Russian)