






П.А. Андриюшков 
А.Л. Марченко 
Т.Ф. Черных 

Исследование профиля высвобождения и выживаемости бифидобактерий из микрокапсул на основе альгината натрия и хитозана

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ул. Проф. Попова, д. 14, Санкт-Петербург, 197376, Российская Федерация

✉ Андриюшков Павел Александрович; andryushkov.pavel@pharminnotech.com

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Пероральное применение пробиотиков затруднено ввиду их низкой выживаемости в агрессивной среде желудочно-кишечного тракта. Микрокапсулирование в альгинат-хитозановой системе позволяет защитить бактериальные клетки и обеспечить их доставку в толстый кишечник. В настоящее время недостаточно изучено влияние условий покрытия альгинатных микрокапсул хитозаном и соотношение профилей высвобождения модельных субстанций к выживаемости микрокапсулированных пробиотиков; решение требует экспериментального сопоставления параметров покрытия, размера микрокапсул и их влияния на высвобождение и КОЕ.

ЦЕЛЬ. Сформировать методические рекомендации для разработки лекарственных форм пробиотических культур на примере *Bifidobacterium bifidum*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Использованы 2% раствор альгината натрия с метамизолом натрия (2%) или бифидобактериями ($2,5 \times 10^6 / 1,25 \times 10^6$ КОЕ/мл), который экструдировали в 5% CaCl_2 с последующим покрытием микрокапсул хитозаном (0,4%, pH 6,0) путем выдержки в растворе хитозана 0–1080 мин; экструзия через иглы 0,16 и 1,8 мм; тест растворения с изменением pH без замены среды; количественное определение метамизола натрия методом УФ-спектрофотометрии ($\lambda = 258$ нм); выживаемость – подсчет количества КОЕ методом посева на питательной среде МРС-5.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Покрытие микрокапсул хитозаном уже при 15 мин выдержки в растворе существенно снижало раннее высвобождение метамизола натрия, при последующем увеличении времени выдержки микрокапсул в растворе хитозана изменения были незначительными. Выживаемость бифидобактерий: игла 0,16 мм без покрытия <1%; игла 0,16 мм с покрытием ~20% (при введении в обоих случаях бифидобактерий в микрокапсулы в количестве $0,5 \times 10^9$ КОЕ); игла 1,8 мм с покрытием ~50% при введении бифидобактерий в микрокапсулы в количестве $0,5 \times 10^9$ КОЕ и ~80% при введении бифидобактерий в микрокапсулы в количестве 1×10^9 КОЕ.

ВЫВОДЫ. Кратковременная выдержка микрокапсул в хитозане формирует функциональный барьер, уменьшающий преждевременное высвобождение содержимого и повышающий выживаемость микрокапсулированных пробиотиков; увеличение размера микрокапсул значительно повышает их защитные свойства. Для промышленной технологии микрокапсулирования пробиотиков рекомендуется покрытие хитозаном с выдержкой ~15 мин (0,4% хитозана, pH 6,0) как базовые условия. Для достижения максимальной выживаемости и удобства дозирования предпочтительно использование больших игл для экструзии с последующей упаковкой, защищающей от влаги и кислорода (Alu/Alu блистеры или флаконы с влагопоглотителем).

Ключевые слова: пробиотики; микрокапсулирование; альгинат натрия; хитозан; метамизол натрия; бифидобактерии

Для цитирования: Андриюшков П.А., Марченко А.Л., Черных Т.Ф. Исследование профиля высвобождения и выживаемости бифидобактерий из микрокапсул на основе альгината натрия и хитозана. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(1):57–65. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-1-57-65>

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Pavel A. Andryushkov 
Alexei L. Marchenko 
Tatiana F. Chernykh 

Sodium Alginate–Chitosan Microcapsules: Release Profile and Viability of Encapsulated Bifidobacteria

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University,
14 Professor Popov St., Saint Petersburg 197376, Russian Federation

✉ Pavel A. Andryushkov; andryushkov.pavel@pharminnotech.com

ABSTRACT

INTRODUCTION. Oral administration of probiotics is limited by their low viability while passing through the harsh gastrointestinal environment. Microencapsulation in the alginate–chitosan system makes it possible to protect bifidobacterial cells and ensure their delivery to the large intestine. However, the effect of chitosan coating on alginate microcapsules and the relationship between the release profiles of model compounds and the viability of encapsulated probiotics remain understudied; this necessitates an experimental comparison of coating parameters, microcapsule size, and their effects on release kinetics and colony-forming unit (CFU) recovery.

AIM. This study aimed to develop guidelines for the design of probiotic dosage forms using *Bifidobacterium bifidum* as a case.

MATERIALS AND METHODS. A 2% sodium alginate solution containing either sodium metamizole (2%) or bifidobacteria ($2.5 \times 10^6/1.25 \times 10^6$ CFU/mL) was extruded into a 5% CaCl₂ solution to form microcapsules subsequently coated with chitosan (0.4%, pH 6.0) by 0–1,080 min exposure to the coating solution. Capsules were produced using 0.16 and 1.8 mm needles. Dissolution test with stepwise pH change was performed without media replacement; sodium metamizole release was quantified by UV spectrophotometry ($\lambda = 258$ nm); bifidobacterial viability was assessed by counting CFU cultivated on MRS-5 agar.

RESULTS. After only 15 min of exposure, chitosan coating markedly reduced early sodium metamizole release in the dissolution test, while further coating produced no relevant additional changes. Bifidobacterial viability was as follows: 0.16 mm needles, without coating, <1%; 0.16 mm needles, with coating, ≈20%; 1.8 mm needles, with coating, ≈50%, at an initial load of 0.5×10^9 CFU per batch of microcapsules, and ≈80% at 1×10^9 CFU.

CONCLUSIONS. Short-term exposure of alginate microcapsules in chitosan forms a functional barrier that reduces premature release and increases the viability of microencapsulated probiotics; increasing capsule size further enhances the protective properties of the delivery system. Recommended baseline conditions for large-scale probiotic microencapsulation include chitosan coating with ~15 min exposure (0.4% chitosan, pH 6.0). Large extrusion needles and the final-product package with the high water and oxygen barrier (Alu-Alu blisters or desiccated bottles) is a preferred option for maximum viability and convenient dosing.

Keywords: probiotics; microencapsulation; sodium alginate; chitosan; sodium metamizole; bifidobacteria

For citation: Andryushkov P.A., Marchenko A.L., Chernykh T.F. Sodium alginate–chitosan microcapsules: Release profile and viability of encapsulated bifidobacteria. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(1):57–65. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-1-57-65>

Funding. The study was performed without external funding.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Пробиотические микроорганизмы, в том числе бактерии *Bifidobacterium*, широко применяются для профилактики и лечения дисбактериоза кишечника, повышения иммунологической реактивности организма и нормализации метаболических процессов [1, 2]. Бифидобактерии являются доминирующими представителями микробиоты толстого кишечника человека и участвуют в синтезе витаминов группы В, ферментации пищевых волокон, конкурентном ингибировании патогенных микроорганизмов и модуляции иммунного ответа [1, 3]. Для достижения терапевтического эффекта пробиотика при пероральном приеме должны достигать места колонизации – толстой кишки [3].

Основной проблемой терапии пероральными пробиотическими препаратами является низкая эффективность лекарственных средств в связи со снижением жизнеспособности микроорганизмов при прохождении препарата через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) [3]. Первым барьером является кислая среда желудка (рН 1,5–3,0) с высоким содержанием пепсина и других ферментов, снижающих выживаемость пробиотических культур [4, 5]. Бифидобактерии характеризуются низкой кислотоустойчивостью (за исключением *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*), что приводит к снижению жизнеспособности на 4–5 порядков в первые 5 мин воздействия модельной желудочной среды (рН 2,0–3,0) [7]. Второй барьер формируют желчные кислоты и панкреатические ферменты в двенадцатиперстной кишке [5, 6]. Таким образом, прямое пероральное введение незащищенных бактериальных клеток приводит к значительной потере их жизнеспособности до достижения места колонизации, что снижает терапевтическую эффективность препаратов [3, 5].

Одним из методов защиты микроорганизмов от воздействия среды желудочно-кишечного тракта может являться микрокапсулирование пробиотиков в биополимерных матрицах [8, 9]. В качестве материала микрокапсул часто используется альгинат натрия благодаря его биосовместимости, нетоксичности, биodeградируемости в кишечной среде и способности к ионотропному гелеобразованию в присутствии двухвалентных катионов (Ca^{2+} , Ba^{2+}) [8, 10]. Альгинат представляет собой линейный анионный полисахарид, состоящий из блоков β -D-маннуриновой и α -L-гулуриновой кислот, соединенных 1,4-гликозидными связями [10]. При контакте с Ca^{2+} происходит кооперативное связывание катионов с карбоксильными группа-

ми гулуриновых блоков соседних полимерных цепей по типу «яичной упаковки», что приводит к формированию трехмерной сетчатой структуры гидрогеля [10, 11]. Образовавшаяся кальций-альгинатная матрица обеспечивает защиту клеток микроорганизмов от внешних воздействий, при этом сохраняя пористую структуру, позволяющую пропускать питательные вещества и метаболиты [10, 12].

Однако микрокапсулы из альгината недостаточно устойчивы в кислой среде желудка и склонны к преждевременному набуханию и разрушению при наличии хелатирующих агентов (фосфаты, цитраты) в ЖКТ [8, 12]. Дополнительное покрытие микрокапсул хитозаном – природным катионным полисахаридом, получаемым деацелированием хитина, позволяет существенно улучшить защитные свойства системы доставки [4, 10, 12]. Хитозан содержит протонируемые аминогруппы с pK_a 6,3–6,5, что создает в кислой среде положительный заряд полимера [13]. При контакте альгинатных микрокапсул с раствором хитозана в слабокислой среде (рН 5,0–6,0) происходит электростатическое взаимодействие между протонированными аминогруппами хитозана (NH_3^+) и отрицательно заряженными карбоксильными группами альгината (COO^-), приводящее к формированию полиэлектролитного комплекса на поверхности микрокапсул [13, 14], что значительно снижает проницаемость оболочки для ионов водорода, ферментов, а также низкомолекулярных соединений [4, 14]. В кислой среде желудка (рН 1,5–3,0) хитозановое покрытие находится в полностью протонированном состоянии, образовавшийся плотный барьерный слой блокирует поры альгинатного геля, что предотвращает преждевременное высвобождение содержимого и гибель микрокапсулированных бактерий [4, 13, 14]. При переходе в нейтральную среду кишечника (рН 6,5–7,5) происходит депротонирование аминогрупп хитозана, ослабление электростатических взаимодействий в комплексе, набухание полимерной оболочки и ускорение высвобождения жизнеспособных клеток в месте предполагаемой колонизации [14, 15].

Эффективность экранированных хитозаном альгинатных микрокапсул для защиты пробиотиков подтверждена рядом исследований. R. Ji и соавт. [10] показали, что хитозановое покрытие способствует сохранению жизнеспособности *Bifidobacterium longum* $6,12 \log \text{КОЕ/г}$ после 240 мин последовательного воздействия модельных желудочного (рН 2,5) и кишечного (рН 7,0) соков, в то время как жизнеспособные

клетки в микрокапсулах из альгината без покрытия не определялись уже через 30 и 120 мин воздействия соответственно [10]. T.W. Yeung и соавт. [12] наблюдали, что покрытие хитозаном снижает потерю жизнеспособности *Bifidobacterium infantis* UMA 299 с 2,7 до 1,4 log КОЕ после 5 мин выдерживания в модели желудочного сока. Аналогичные результаты получены для *Lactobacillus gasseri* и *Bifidobacterium bifidum*, в случае которых микрокапсулирование с хитозановым покрытием обеспечило сохранение жизнеспособности на уровне 7–8 log КОЕ/г после полного цикла воздействия желудочно-кишечных сред [4].

Несмотря на значительный прогресс в области технологии микрокапсулирования пробиотиков, влияние условий проведения процесса на функциональные характеристики микрокапсул остается недостаточно изученным [8, 12, 16]. В частности, отсутствуют систематизированные данные о влиянии времени выдержки альгинатных микрокапсул в растворе хитозана на формирование полиэлектролитного комплекса и на барьерные свойства покрытия; корреляции между профилем высвобождения низкомолекулярных модельных субстанций из микрокапсул и выживаемостью микрокапсулированных пробиотических микроорганизмов; влиянии размера микрокапсул на эффективность защиты бактериальных клеток при сохранении технологичности и приемлемости для пациентов. Решение этих вопросов требует проведения исследований с использованием модельных низкомолекулярных субстанций для оценки диффузионных свойств полимерной матрицы и последующей корреляции полученных данных с выживаемостью микрокапсулированных микроорганизмов.

Цель работы – сформировать методические рекомендации для разработки лекарственных форм пробиотических культур.

Задачи исследования:

- исследовать профиль высвобождения метамизола натрия из микрокапсул на основе альгината натрия в отсутствие / присутствии хитозанового покрытия;
- оценить влияние продолжительности выдержки микрокапсул в растворе хитозана на характеристики микрокапсул;
- оценить выживаемость бифидобактерий в зависимости от диаметра микрокапсул и наличия их покрытия хитозаном;
- определить условия микрокапсулирования для обеспечения максимальной защиты пробиотиков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

В работе использованы: натрия альгинат FOODALGA 500 (Foodchem, Китай), вязкость 1% раствора 500 мПа·с; хитозан (Hunan Yunbang Biotech Inc., Китай), степень деацетилирования >85, молекулярная масса 350 кДа; хлорид кальция безводный (ч.д.а., ЗАО «Вектон», Россия); метамизол натрия (Shandong Xinhua Pharmaceutical Co., Ltd, Китай) – модельная субстанция для оценки профиля высвобождения; хлористоводородная кислота (х.ч., ЗАО «Вектон», Россия); гидроксид натрия (ч.д.а., ЗАО «Вектон», Россия); фосфат натрия 12-водный (ч.д.а., ЗАО «Вектон», Россия); вода очищенная (по требованиям ФС.2.2.0020 Вода очищенная. Государственная фармакопея Российской Федерации, XV изд.); пробиотический препарат «Бифидумбактерин» (ООО «ПробиоФарм», Россия).

Оборудование

Для формирования капель/экструзии применена шприцевая установка, разработанная лабораторией аддитивных технологий Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета. В работе использованы магнитная мешалка AREC.T (VELP, Италия), тестер растворения RC-1, оснащенный лопастной мешалкой (LPMIE, Китай), привод лабораторный ПЭ-0270 с листовой мешалкой (ООО «Экоприбор», Россия), pH-метр PH2101 (ООО «Экостаб», Россия) спектрофотометр UV 1240 mini (Shimadzu, Япония), шприцы одноразовые стерильные Luer Lock (MedAim, Россия/Китай).

Объекты исследования

Модельная субстанция метамизол натрия выбрана как относительно стабильное, доступное, хорошо растворимое в воде, легко детектируемое УФ-спектрометрическим методом вещество¹. Использование модельной субстанции позволяет быстро получать данные по высвобождению препарата при варьировании параметров микрокапсулирования и покрытия без необходимости проведения трудоемких и длительных микробиологических анализов. Профиль высвобождения модельной субстанции необходим для оценки проницаемости микрокапсул, что позволит оценить потенциальную выживаемость микрокапсулированных микроорганизмов. Замедленное высвобождение метамизола натрия в кислой среде будет указывать на формирование плотного барьера, предотвращающего проникновение ионов

¹ ФС.2.1.0003.15 Метамизол натрия. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

водорода, ферментов и других веществ к бактериальным клеткам.

Непосредственный объект исследования – чувствительные к агрессивным условиям ЖКТ, широко применяющиеся в медицине и пищевой промышленности бифидобактерии (*Bifidobacterium bifidum*). Показатель эффективности технологии покрытия – выживаемость бифидобактерий.

Методы

Получение микрокапсул. 2% раствор натрия альгината готовили в воде очищенной (20 °С) при перемешивании на лабораторной мешалке с листовыми лопастями с перфорацией ($n=600$ об./мин) до полного растворения (~1 ч). В раствор вносили метамизол натрия (2%) или бифидобактерии ($(1,25-2,5) \times 10^6$ КОЕ/мл), перемешивали до полного растворения/суспендирования. Раствор/суспенсию альгината с метамизолом натрия / бифидобактериями экструдировали через иглу в 5% раствор CaCl_2 при перемешивании магнитной мешалкой ($n=100$ об./мин) для формирования микрокапсул. Время выдержки в растворе CaCl_2 – 15 мин. После формирования капсул их промывали водой очищенной (однократно). Условия микрокапсулирования (скорость магнитной мешалки, температура раствора, концентрация альгината) были определены в ранее проведенном исследовании [17].

Концентрация CaCl_2 5% и время отверждения 15 мин были выбраны по данным исследований формирования альгинатных микрокапсул [18–20]. Отверждение в течение 15 мин является достаточным для полного гелеобразования [21]. Поскольку микрокапсулы в дальнейшем подвергались сушке, то продолжительность выдержки не определяла конечный размер высушенных микрокапсул.

Покрытие хитозаном. Для формирования покрытия готовили 0,4% раствор хитозана в 0,1 М HCl, затем доводили pH раствора до 6,0 раствором NaOH (20%). Данные параметры обеспечивают эффективное формирование полиэлектролитного комплекса [10, 12, 13]. Альгинатные микрокапсулы помещали в раствор хитозана путем погружения на определенное время: 0 (контроль – без покрытия), 15, 30, 60, 180 и 1080 мин. Время покрытия хитозаном от 15 мин основано на кинетических данных о формировании комплекса альгинат-хитозан:

при выдержке более 10 мин происходит изменение ζ -потенциала с -8 до $+13$ мВ, что свидетельствует о полном формировании покрытия [10–12]. После покрытия микрокапсулы промывали водой очищенной.

Сушка микрокапсул. Сушка осуществлялась без использования дополнительного оборудования при комнатной температуре на чашках Петри в течение 24 ч.

Тест «растворение» и кинетика высвобождения (метамизол натрия). Тест «растворение» выполняли в соответствии с требованиями фармакопей² с использованием тестера растворения RC-1 (LPMIE, Китай), оснащенного лопастной мешалкой (37 °С, $n=50$ об./мин). Для анализа использовали методику № 1 для лекарственных препаратов 2 группы с отсроченным высвобождением (таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой; кишечнорастворимые капсулы, гранулы и другие кишечнорастворимые твердые дозированные лекарственные формы). Тест проводили для микрокапсул с метамизолом натрия, выдержанных в растворе хитозана в течение 0, 15, 30, 60, 180 и 1080 мин. 1 стадию исследования (кислотную) проводили в течение 2 ч, аликвоты отбирали каждые 15 мин с последующим возвращением в среду растворения, 2 стадию исследования (буферную) проводили до полного растворения микрокапсул, аликвоты отбирали каждые 15 мин без возвращения в среду растворения. При переходе от 1 ко 2 стадии среду не меняли: моделировали переход от кислотной стадии (pH 1,2) к буферной (pH 6,8) путем изменения pH в объеме среды растворения. Анализ аликвот проводили методом УФ-спектрофотометрии ($\lambda = 258$ нм)³. Для количественного определения была построена калибровочная кривая по стандартным растворам различной концентрации метамизола натрия. Для каждого образца выполняли расчет содержания метамизола натрия в среде растворения.

Подбор кинетических моделей не проводили, поскольку основная задача исследования заключалась в сравнительной оценке влияния параметров покрытия и размера микрокапсул на профиль высвобождения, а не в детальном моделировании механизма высвобождения.

Оценка выживаемости пробиотиков. Испытания проводили методом последовательных разведений, в качестве питательной среды

² ОФС.1.4.2.0014 Растворение для твердых дозированных лекарственных форм. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

³ Высокоразмерные данные – данные, где на каждое исследуемое соединение (наблюдение) приходится огромное количество измеренных характеристик.

использовали МРС-5, для разведения использовали фосфатный буфер с pH 6,8⁴.

Статистическая обработка. Статистическую обработку результатов проводили при помощи компьютерной программы Microsoft Office Excel 2016. Каждое испытание выполняли в трех повторностях ($n=3$), доверительный интервал $P=0,95$ (95%). Результаты представляли в виде $X \pm \Delta X$, где X – среднее арифметическое значение; ΔX – доверительный интервал. Для сравнения групп применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с уровнем значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кинетика высвобождения метамизола натрия из микрокапсул

При отсутствии покрытия хитозаном отмечалось быстрое высвобождение метамизола натрия в кислотной стадии: через 15 мин высвободилось $11,60 \pm 0,82$ мг, что составляет $29,0 \pm 2,1\%$ от максимального количества субстанции. К концу кислотной стадии (120 мин) накопительное высвобождение достигло $23,75 \pm 3,39$ мг ($59,4 \pm 8,5\%$), что свидетельствует о недостаточной защите альгинатной матрицы от проникновения низкомолекулярных соединений в кислой среде (рис. 1). Статистический анализ показал значимое различие ($p < 0,05$) между микрокапсулами без покрытия и всеми микрокапсулами с хитозановым покрытием во всех временных точках кислотной стадии (0–120 мин).

Нанесение хитозанового покрытия значительно снижало раннее высвобождение метамизола

натрия в кислой среде. При выдержке 15 мин в модельном растворе высвобождение составило $1,07 \pm 0,22$ мг ($2,7 \pm 0,5\%$), что в 10,8 раза ниже, чем в группе без покрытия. К концу кислотной стадии (120 мин) высвобождение составило $1,14 \pm 0,20$ мг ($2,9 \pm 0,5\%$), что в 20,8 раза ниже по сравнению с непокрытыми микрокапсулами (критерий Фишера $F=2106,04$; $p < 0,05$ для временной точки 15 мин; $F=81,99$; $p < 0,05$ для временной точки 120 мин).

Увеличение времени выдержки в растворе хитозана свыше 15 мин не приводило к существенному дополнительному снижению высвобождения в кислотной фазе. Так, через 15 мин проведения теста высвобождение составило: $0,85 \pm 0,08$ мг (выдержка в хитозане 30 мин), $0,78 \pm 0,09$ мг (выдержка в хитозане 60 мин) и $1,21 \pm 0,19$ мг (выдержка в хитозане 180 мин), что статистически не отличается от группы «15 мин» ($p=0,24$) (рис. 1). Это указывает на то, что формирование функционального покрытия происходит в первые минуты / десятки минут, и дальнейшее увеличение времени экспозиции приводит лишь к незначительному изменению барьерных свойств.

После перехода к буферной стадии (pH 6,8) наблюдался резкий скачок высвобождения во всех группах, что связано с набуханием альгинатной матрицы и депротонированием хитозанового покрытия при нейтральном pH. При этом группы с хитозановым покрытием демонстрировали более медленную кинетику высвобождения в буферной среде.

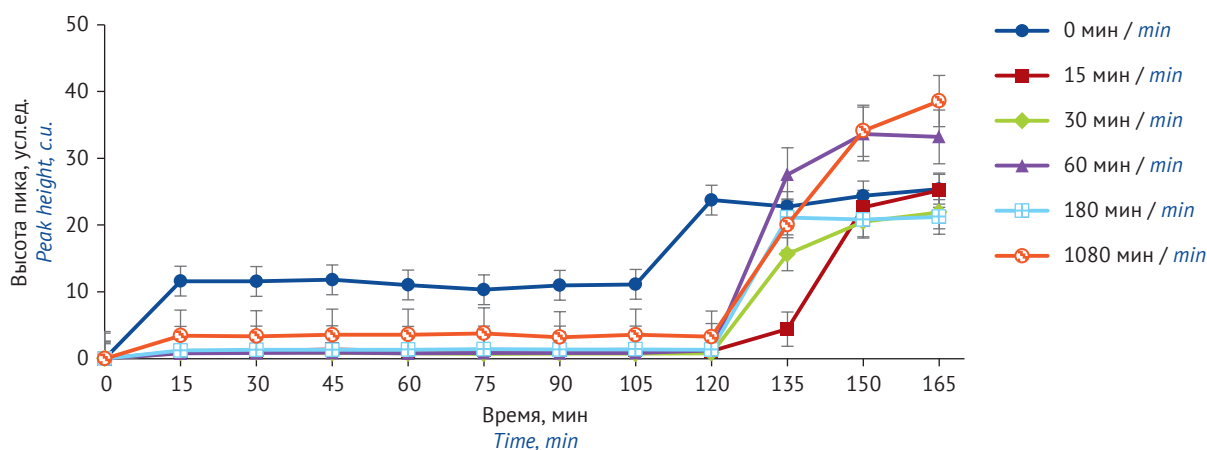


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Профиль накопительного высвобождения метамизола натрия (мг) в зависимости от времени выдержки микрокапсул в растворе хитозана (в легенде названия кривых отражают время выдержки)

Fig. 1. Cumulative release of sodium metamizole (mg) depending on the exposure time of microcapsules to chitosan solution (the names of the curves on the legend indicate the exposure time)

⁴ ОФС.1.7.2.0009.15 Определение специфической активности пробиотиков. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

Использование в качестве модельной субстанции метамизола натрия как малой молекулы позволяет оценить проницаемость альгинат-хитозановых микрокапсул для малых молекул и для агрессивных компонентов желудочного сока. Замедленное высвобождение метамизола натрия в кислой среде указывает на формирование плотного барьера, ограничивающего диффузию веществ как из микрокапсулы наружу, так и извне внутрь. Однако следует учитывать, что механизм высвобождения микроорганизмов может быть иным, в том числе высвобождение бактерий из микрокапсул в результате их набухания и эрозии, поэтому полное перенесение результатов, полученных для малых молекул, на биологические объекты невозможно и требует подтверждения в экспериментах с использованием микрокапсулированных бифидобактерий.

Выживаемость бифидобактерий

Микрокапсулы без покрытия хитозаном, полученные при малом диаметре иглы (0,16 мм), не обеспечивали защиту: выживаемость бактерий оказалась ниже предела обнаружения (<1%). Нанесение хитозанового покрытия значительно повышало выживаемость в случае применения игл обоих диаметров (0,16 и 1,8 мм), причем эффект выражен сильнее в случае более крупных микрокапсул (1,8 мм). При увеличении количества пробиотиков (1×10^9 КОЕ) в микрокапсулах диаметром 1,8 мм с покрытием наблюдали наилучшие результаты – до 80% выживаемости (табл. 1).

При увеличении размера микрокапсул объем частицы также увеличивается; как следствие, уменьшается ее удельная поверхность. Это приводит к снижению воздействия агрессивной среды на пробиотические микроорганизмы

в силу матричного строения ядра из альгината. Кроме того, при прочих равных условиях крупные микрокапсулы более устойчивы к разрушению при механических стрессах.

Ограничение размера иглы до 1,8 мм связано с физическими особенностями процесса экструзии раствора альгината натрия. При превышении этого размера происходит самопроизвольное вытекание раствора через иглу, что приводит к получению неоднородных по размеру и форме микрокапсул. Данное ограничение является фактором, определяющим максимальный размер получаемых микрокапсул в используемой установке и, следовательно, оптимальное соотношение между их защитными свойствами и производственными возможностями.

Сопоставление данных по высвобождению метамизола натрия и выживаемости бифидобактерий демонстрирует корреляцию между барьерными свойствами микрокапсул и защитой микроорганизмов. В группах с наиболее низким высвобождением метамизола натрия в кислой фазе (15–60 мин выдержки в хитозане) наблюдалась наибольшая выживаемость бифидобактерий при сопоставимых условиях (диаметр иглы 1,8 мм, покрытие 15 мин). Это подтверждает гипотезу о том, что профиль высвобождения низкомолекулярной модельной субстанции может служить прогностическим параметром для оценки защитных свойств системы доставки.

Однако следует учитывать, что данная корреляция не является линейной и зависит от размера микрокапсул. Малые микрокапсулы (0,16 мм), несмотря на наличие хитозанового покрытия, обеспечивают лишь умеренную выживаемость (20%). Крупные микрокапсулы (1,8 мм) демонстрируют существенно более высокую защиту (50–80%), что подчеркивает важность

Таблица 1. Выживаемость бифидобактерий в микрокапсулах на основе альгината натрия и хитозана

Table 1. Viability of bifidobacteria in sodium alginate/chitosan microcapsules

Диаметр иглы, мм <i>Needle diameter, mm</i>	Покрытие <i>Coating</i>	Введенное количество бифидобактерий, КОЕ <i>Injected bifidobacteria, CFU</i>	Выживаемость, % <i>Viability, %</i>	Выживаемость, КОЕ <i>Viability, CFU</i>
0,16	Нет / <i>No</i>	$0,5 \times 10^9$	<1	Нет / <i>No</i>
0,16	Да / <i>Yes</i>	$0,5 \times 10^9$	$19,8 \pm 6,5$	$9,9 \times 10^7$
1,8	Да / <i>Yes</i>	$0,5 \times 10^9$	$47,9 \pm 18,4$	$2,4 \times 10^8$
1,8*	Да / <i>Yes</i>	1×10^9	$76,5 \pm 6,4$	$7,7 \times 10^8$

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

* Данные для микрокапсул диаметром 1,8 мм без хитозанового покрытия не приведены, так как основной целью эксперимента являлось исследование влияния хитозанового покрытия на выживаемость пробиотиков.

* Data for 1.8 mm microcapsules without chitosan coating not provided, since the main objective of the experiment was to study the effect of chitosan coating on the viability of probiotics.

оптимизации размера частиц для достижения максимальной выживаемости пробиотиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нанесение хитозанового покрытия на альгинатные микрокапсулы способствует формированию эффективного поверхностного барьера уже при кратковременной экспозиции в хитозане, значимо снижает раннее высвобождение модельной субстанции (метамизола натрия) в кислой среде по сравнению с непокрытыми микрокапсулами, а также существенно повышает выживаемость микрокапсулированных бифидобактерий. Увеличение размера микрокапсул существенно усиливает защитный эффект.

Для промышленной технологии микрокапсулирования пробиотиков рекомендуется рассматривать покрытие хитозаном с выдержкой ~15 мин (0,4% хитозана, pH 6,0) как базовое условие.

Для достижения максимальной выживаемости и удобства дозирования предпочтительны микрокапсулы большего диаметра (практически – использование больших игл для экструзии) с последующей упаковкой, защищающей от влаги и кислорода (Alu/Alu блистеры или флаконы с влагопоглотителем).

Направлениями будущих исследований может быть изучение выживаемости пробиотиков в условиях, максимально приближенных к реальным; серия экспериментов с разными фармацевтически значимыми штаммами *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*; исследование сочетаний покрытия хитозаном с другими технологиями защиты пробиотиков (внедрение пребиотиков, вспомогательных веществ, повышающих стабильность, модификация альгината, использование твердых кишечнорастворимых капсул для получения финальной готовой лекарственной формы).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Раскина КВ, Мартынова ЕЮ, Фатхутдинов ИР, Потешкин ЮЕ. Современные бактериологические средства: влияние на микробиоту кишечника и роль в лечении заболеваний. *PMЖ*. 2018;26(5–2):86–91. Raskina KV, Martynova EYu, Fatkhutdinov IR, Poteshkin YuE. Modern bacteriological agents: the effect on gut microbiota and the role in the treatment of diseases. *RMJ*. 2018;26(5–2):86–91 (In Russ.). EDN: [YQJMLZ](https://doi.org/10.17116/dok-gastro2019803145)
2. Кайбышева ВО, Никонов ЕЛ. Пробиотики с позиций доказательной медицины. *Доказательная гастроэнтерология*. 2019;8(3):45–54. Kaibysheva VO, Nikonov EL. Probiotics from the standpoint of evidence-based medicine. *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*. 2019;8(3):45–54 (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/dok-gastro2019803145>
3. Han S, Lu Y, Xie J, et al. Probiotic gastrointestinal transit and colonization after oral administration: A long journey. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:609722. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.609722>
4. Chávarri M, Marañón I, Ares R, et al. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *Int J Food Microbiol*. 2010;142(1–2):185–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.022>
5. Sánchez B, Champomier-Vergès MC, Collado Mdel C, et al. Low-pH adaptation and the acid tolerance response of *Bifidobacterium longum* biotype *longum*. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(20):6450–9. <https://doi.org/10.1128/AEM.00886-07>
6. Wendel U. Assessing viability and stress tolerance of probiotics – A review. *Front Microbiol*. 2022;12:818468. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.818468>
7. Alp G, Aslim B. Relationship between the resistance to bile salts and low pH with exopolysaccharide (EPS) production of *Bifidobacterium* spp. isolated from infants feces and breast milk. *Anaerobe*. 2010;16(2):101–5. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2009.06.006>
8. Wang X, Gao S, Yun S, et al. Microencapsulating alginate-based polymers for probiotics delivery systems and their application. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;15(5):644. <https://doi.org/10.3390/ph15050644>
9. Cook MT, Tzortzis G, Charalampopoulos D, Khutoryanskiy VV. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *J Control Release*. 2012;162(1):56–67. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.06.003>
10. Ji R, Wu J, Zhang J, et al. Extending viability of *Bifidobacterium longum* in chitosan-coated alginate microcapsules using emulsification and internal gelation encapsulation technology. *Front Microbiol*. 2019;10:1389. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01389>
11. Gåserød O, Smidsrød O, Skjåk-Bræk G. Microcapsules of alginate-chitosan-I. A quantitative study of the interaction between alginate and chitosan. *Biomaterials*. 1998;19(18):1815–25. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(98\)00073-8](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(98)00073-8)
12. Yeung TW, Üçok EF, Tiani KA, et al. Microencapsulation in alginate and chitosan microgels to enhance viability of *Bifidobacterium longum* for oral delivery. *Front Microbiol*. 2016;7:494. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00494>
13. Hamman JH. Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems. *Mar Drugs*. 2010;8(4):1305–22. <https://doi.org/10.3390/md8041305>
14. Gierszewska M, Ostrowska-Czubenko J, Chrzanowska E. pH-responsive chitosan/alginate polyelectrolyte complex membranes reinforced by tripolyphosphate. *Eur Polym J*. 2018;101:282–90. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.070>
15. Thinkohkaew K, Paseephol T, Sangsawad P. Microencapsulation of probiotics in chitosan-coated alginate/gellan microcapsules. *Food Hydrocoll*. 2024;151:109788. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109788>
16. Pupa P, Apiwatsiri P, Sirichokchatchawan W, et al. The efficacy of three double-microencapsulation methods for preservation of probiotic bacteria. *Sci Rep*. 2021;11(1):13753. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93263-z>
17. Андрюшков ПА, Марченко АЛ, Казарина ТС, Аракелян АД. Технология микрокапсул на основе альгината натрия. В кн.: *Сандеровские чтения*. СПб: Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет; 2024. С. 18–22. Andryushkov PA, Marchenko AL, Kazarina TS, Arakelyan AD. Technology of microcapsules based on sodium alginate. In: *Proceedings of the Sanderov Readings Conference*. Saint Petersburg: Saint

- Petersburg State Chemical Pharmaceutical University. P. 18–22 (In Russ.). EDN: [INSANL](https://doi.org/10.3390/polym15204163)
18. Bennacef C, Desobry S, Jasniewski J, et al. Influence of alginate properties and calcium chloride concentration on alginate bead reticulation and size: A phenomenological approach. *Polymers*. 2023;15:4163. <https://doi.org/10.3390/polym15204163>
 19. Hoad CL, Rayment P, Cox E, et al. Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 2: *In vivo* characterisation. *Food Hydrocoll*. 2009;23(3):833–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.04.013>
 20. Lotfipour F, Mirzaeei S, Maghsoodi M. Evaluation of the effect of CaCl₂ and alginate concentrations and hardening time on the characteristics of Lactobacillus acidophilus loaded alginate beads using response surface analysis. *Adv Pharm Bull*. 2012;2(1):71–8. <https://doi.org/10.5681/apb.2012.010>
 21. Chandramouli V, Kailasapathy K, Peiris P, Jones M. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect Lactobacillus spp. in simulated gastric conditions. *J Microbiol Methods*. 2004;56(1):27–35. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.09.002>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: П.А. Андрюшков – концепция работы, выполнение экспериментов, написание текста рукописи, формулировка выводов; А.Л. Марченко – обсуждение в ходе выполнения экспериментов, участие в формулировании выводов, утверждение окончательной версии рукописи для публикации, Т.Ф. Черных – проведение микробиологической части эксперимента.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Pavel A. Andryushkov* conceptualized the work, performed the experiments, drafted the manuscript, and formulated the conclusions. *Alexei L. Marchenko* discussed the experiments, participated in formulating conclusions, and approved the final version for publication. *Tatiana F. Chernykh* performed the microbiological part of the experiment.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Андрюшков Павел Александрович / Pavel A. Andryushkov

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-3062-1855>

Марченко Алексей Леонидович, канд. фарм. наук, доцент / **Alexei L. Marchenko**, Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8049-6207>

Черных Татьяна Федоровна, д-р фарм. наук, профессор / **Tatiana F. Chernykh**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-1539-8013>

Поступила 19.09.2025

После доработки 22.12.2025

Принята к публикации 11.02.2026

Received September 19, 2025

Revised December 22, 2025

Accepted February 11, 2026