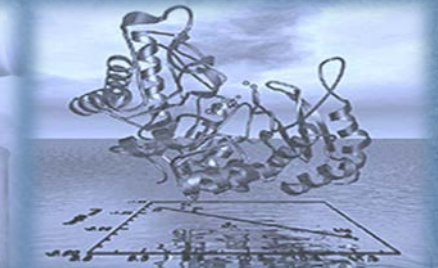
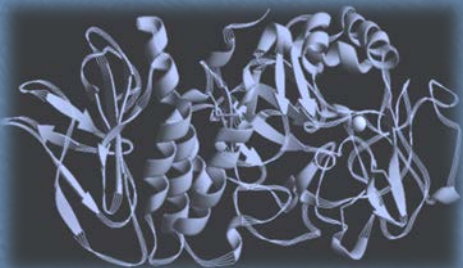


**ПРИЛОЖЕНИЕ НА КРИОБИОТЕХНОЛОГИИТЕ ПРИ  
РАЗРАБОТВАНЕ НА ЛИОФИЛИЗИРАНИ ПОЛИЕНЗИМНИ  
КОМПЛЕКСИ**

**APPLICATION OF CRYOBIOLOGICAL TECHNOLOGIES FOR  
DEVELOPMENT OF LYOPHILIZED POLY ENZYME  
COMPLEXES**

МАРИЯ ДОНЕВА, ИЛИАНА НАЧЕВА, ПЕТЯ МЕТОДИЕВА, ЯНЧО ТОДОРОВ,  
ДАНИЕЛА МИТЕВА, ЛЮБКА ГЕОРГИЕВА



**Съвременният начин на живот (хранене, въздействие на околната среда, стрес, хронични заболявания, алкохол, тютюнопушене, прием на лекарства и др.) е основата причина за физиологичните и патологични промени на храносмилателната система и съответно за нарушаване на стомашно-чревния метаболизъм.**

**Доброто хранене е ключов фактор за здравето на хората.**

**Състояния на вторична недостатъчност на задстомашната жлеза и понижено производството на храносмилателни ензими водят до промени на стомашно-чревния метаболизъм, което налага като добавка към храната да се приемат полиензимни продукти.**



Ензимните биопродукти намират широко приложение при хронични дегенеративни състояния на храносмилателната система, при ензимна недостатъчност, при нередовно, нарушено или небалансирано хранене с повече мазнини, консервирани храни, при състояние на чувство на умора след хранене, при проблеми с храносмилането (тежест, подуване, болки, газове) и др.

Като търговски продукт, ензимните препарати трябва да бъдат каталитично стабилни със запазени изходни характеристики и с достатъчно дълъг срок на съхранение.

Целта на изследването е, чрез прилагане на криобиотехнологичен подход, да се създаде нов лиофилизиран полиенизмен продукт, съдържащ едновременно храносмилателни ензими и биологично активни вещества.

# МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

## Обект на изследванията

### ➤ **Ензими:**

Микробиологичен **химозин**  
продуциран от *Mucor miehei*

Плесенна  **$\alpha$ -амилаза**  
продуцирана от *Aspergillus oryzae*

Растителен протеолитичен ензим  
**бромелин** от *Ananas comosus*

Микробиална **липаза**,  
продуцирана от *Rhizopus arrhizus*

### ➤ **Полизахаридни хидроколоиди:**

*карбоксиметилцелулоза, гуарова  
гума*

## Приложени методи за анализ

➤ **Физикохимични анализи**  
остатъчното влагосъдържание,  
Тънкослойнохроматографски анализ (TLC)

➤ **Биохимични изследвания**  
определяне на протеолитичната активност,  
определяне на  $\alpha$ -амилазна, определяне на  
липазна активност, реакция за идентификация  
на вит. Е ,

➤ **Микробиологични анализи**  
Микробиологично изследване за контрол на  
стерилност, определяне CFU/g

**Цялостният технологичен процес на производство на новия полиензимен комплекс обединява общо пет основни технологични етапа в следната последователност:**

**Етап I** - подготвителен (получаване на растителните екстракти и подготовка на хидроколидните матрици);

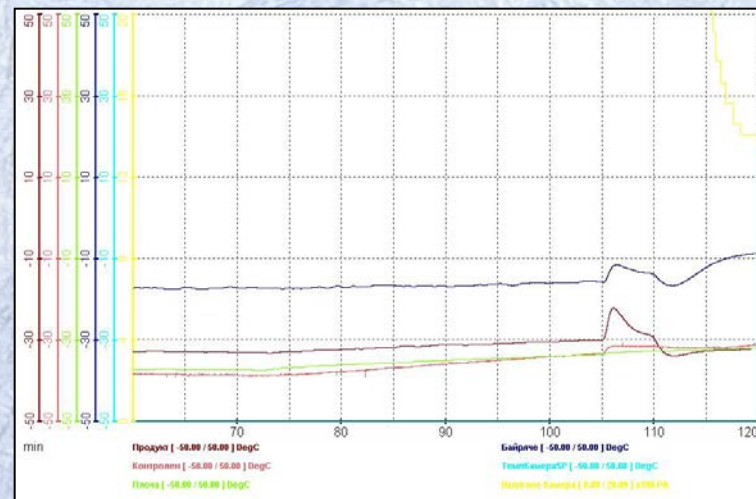
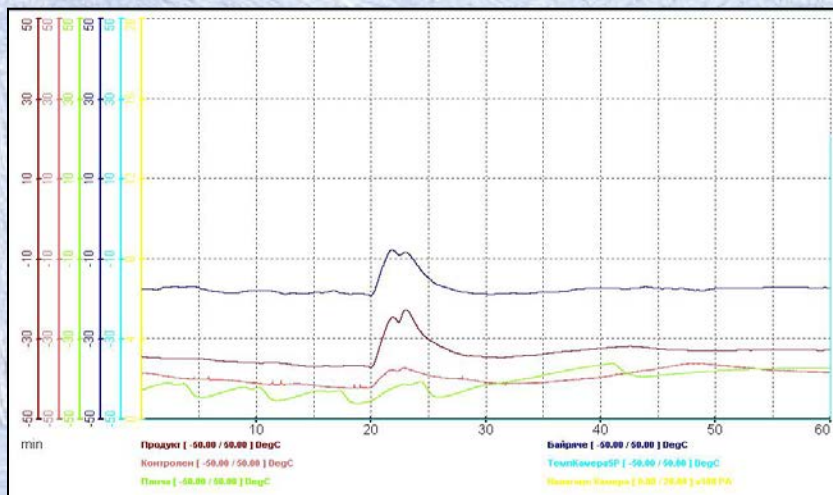
**Етап II** - включване на ензимите в хидроколоидна матрица;

**Етап III** - сублимационно сушене;

**Етап IV** – оситняване на лиофилизирания материал и смесване с пълнителя и витамин E;

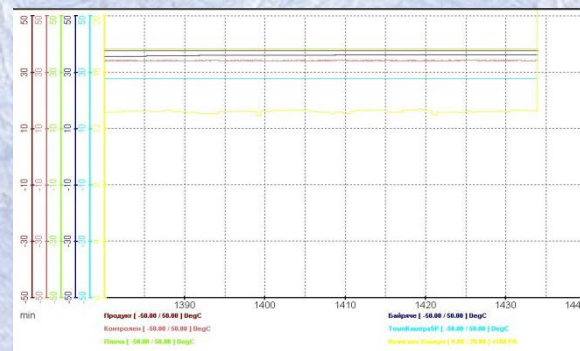
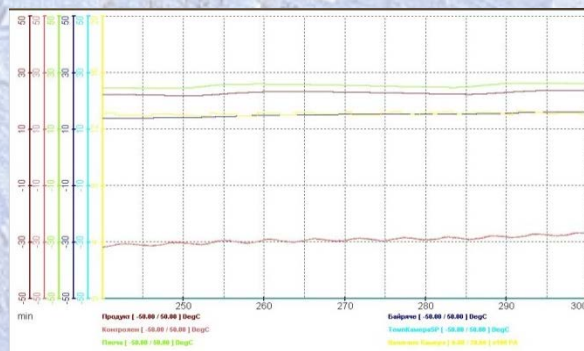
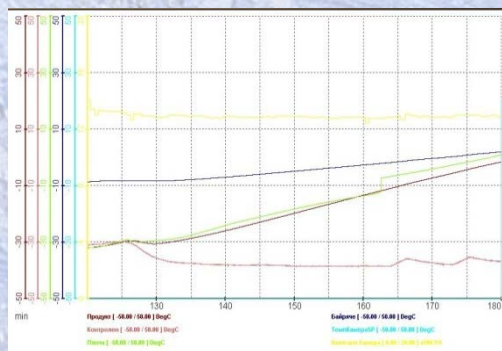
**Етап V** - Дозиране и пълнене в желатинови капсули.

Сублимационното сушене осъществихме във вакуумна сублимационна инсталация на фирмата -“Hochvakuum-TG –16.50” с контактно нагряване на плочите.



**А**

**Б**



**В**

**Г**

**Д**

**Запис от автоматичните контроли при провеждане на процеса лиофилизация: А-начало на процеса -замразяване в сублимационната камера; Б-вакумиране до дълбок вакуум  $2 \cdot 10^1$  Pa; В - сублимационно сушене при отрицателни температури; Г - досушаване – десорбция на остатъчната влага при положителни температури и по-висок вакуум; Д - край на процеса – нарушаване на вакуума; достигане на определената крайна остатъчна влага.**

# Охарактеризиране на полиензимния продукт по органолептични, физикохимични, биохимични, микробиологични показатели

## Органолептични показатели

Органолептичните показатели на полученият лиофилизиран полиензимен продукт, са отразени в таблицата:

Външен вид	прахообразен продукт
Консистенция	еднородна прахообразна
Цвят	кремав до бледо розов
Вкус и аромат	специфични за състава

Полученият ензимен комплекс е с ниско остатъчно влагосъдържание до 6% което отговаря на предварително програмираните от нас стойности за този показател. Този факт доказва надеждността на приложения технологичен процес на сублимационно сушене и оптимално подбраните параметри за неговото протичане.

## Биохимични показатели

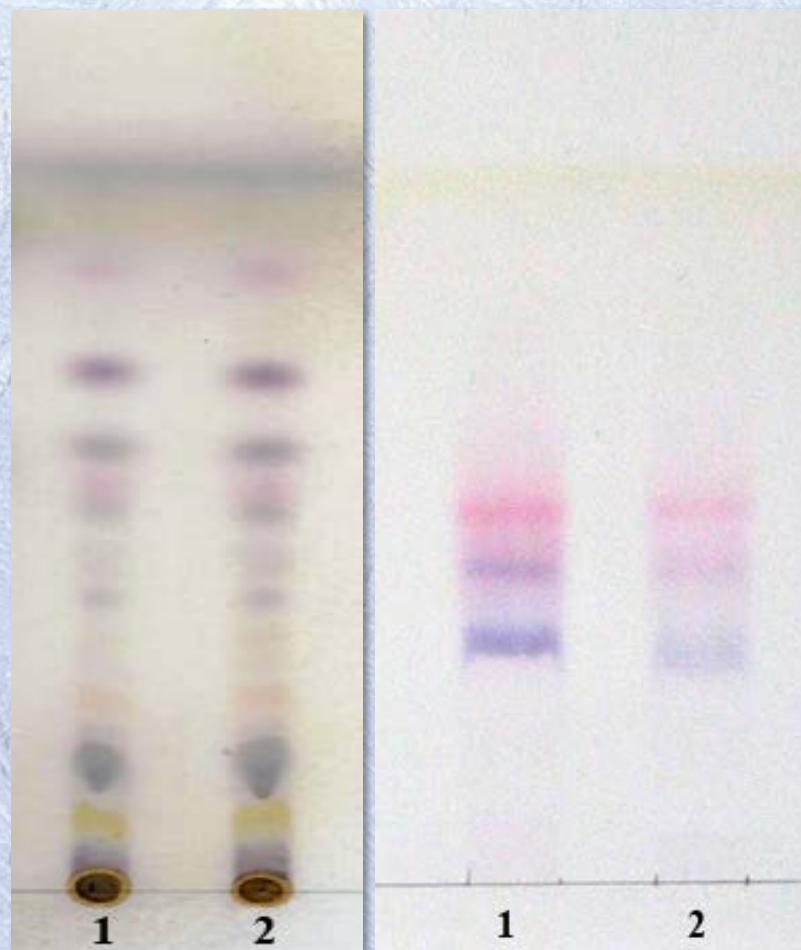
Всяка капсула от продукта съдържа ензими с минимална активност :

- амилазна - 100 U/g
- протеазна - 20 U/g
- липазна– 200 U/g



**Изследването за идентичност** на включените в биопrodukта биологично – активни растителни екстракти от градински чай и черна боровинка бе осъществено посредством TLC. Установява се и почти пълно съвпадение между състава на екстрактите преди и след включване в лиофилизирания полиензимен продукт.

Това ни дава основание да заключим, че в продукта включените растителни екстракти са със запазен химичен състав.



*Резултати от TLC за изследване на идентичност:*

*A2 екстракт от градински чай;*

*Б – екстракт от черна боровинка*



Новият комплексен ензимен биопродукт е анализиран за микробиална чистота.

Представените резултати показват, че новият продукт не съдържа патогенна микрофлора и отговаря на стандартните изисквания за микробиална чистота. Отсъствието на обсемененост с патогенни микроорганизми доказва, че цялостният технологичен процес е осъществен в съответствие със санитарните норми и изисквания.

*Таблица 1 Микробиологични показатели*

<b>Микробиологични показатели</b>	<b>Норма</b>	<b>Установен резултат</b>
Общ брой CFU/g	$10^3$ CFU/g	не се откриват
Патогенни коли	да не се изолират	не се изолират
Salmonella sp./10g	да не се изолират	не се изолират
Staphylococcus aureus / 0.1 g	да не се изолират	не се изолират
Candida albicans	да не се изолира	не се изолира
Плесени и дрожди	да не се изолират	не се изолират

# ЗАКЛЮЧЕНИЕ

---

Новият лиофилизиран продукт, представлява комплексен полиензимен препарат с допълнително включени растителни биологично активни компоненти и витамин Е. Със своя ензимен състав (химозин,  $\alpha$  – амилаза, бромелин, липаза) е подходящ за профилактика при състояния на дискомфорт на стомашно чревния тракт и нарушено храносмилане, особено след прием на обилно количество храна богата на мазнини и белтъци.

Приложеният биотехнологичен подход - включване на ензимите в хидроколоидна матрица, високоскоростно замразяване и последващо сублимационно сушене е подходящ за производство на лиофилизирани полиензимни комплекси. Доказана е надеждността на използваните криобиотехнологични методи, по отношение на микробиална чистота, каталитична активност и структурна стабилност при производство на лиофилизирани ензими биопродукти.

**БЛАГОДАРЯ ЗА ВНИМАНИЕТО!**