

Mikroenkapsulacja

– innowacyjna technologia zwiększająca biodostępność probiotyków dojelitowych

Gastroenterolog, prof. dr hab. n.med. Jacek Muszyński
mgr Piotr Hudemowicz
mgr inż. Magdalena Gawlik

Streszczenie:

Stosowanie probiotyków jest zjawiskiem powszechnym. Większość dostępnych probiotyków produkowana jest nadal w technologii tradycyjnej, co prowadzi do znacznej redukcji szczepów probiotycznych na etapie tranzytu przez przewód pokarmowy. Szukanie nowych metod, zwiększających m.in. biodostępność probiotyków dojelitowych, jest jednym z kluczowych elementów wpływających na skuteczność bakterii z gatunku *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*.

Nowoczesna, potwierdzona w badaniach klinicznych metoda mikroenkapsulacji jest innowacyjnym kierunkiem zwiększającym biodostępność szczepów probiotycznych (LAB).

Słowa kluczowe:

mikroenkapsulacja, probiotyki, LAB

Probiotyki są żywymi mikroorganizmami, które po podaniu w odpowiednich ilościach przynoszą korzyści zdrowotne gospodarzowi, zgodnie z definicją FAO/WHO (9). Zażywanie probiotyków w formie leków, suplementów diety czy też żywności funkcjonalnej stało się w ostatnim okresie bardzo popularne. Ponad połowa Polaków wie do czego służą probiotyki, a większość pacjentów jest świadoma stosowania probiotyków np. osłonowo w trakcie kuracji antybiotykami, bez konsultacji z lekarzem lub farmaceutą.

Mimo rosnącej świadomości stosowania probiotyków, również wśród lekarzy i farmaceutów, nadal w wielu sytuacjach o wyborze probiotyku decydują: cena, wielkość opakowania czy reklama. Niewielka część z nas kieruje się w poszukiwaniu probiotyku analizując funkcje i działanie określonego szczepu bakterii (np. *Lactobacillus acidophilus* LA02, kod DSM 21717), ilość szczepów w opakowaniu czy technologię farmaceutyczną proponowaną przez wytwórcę.

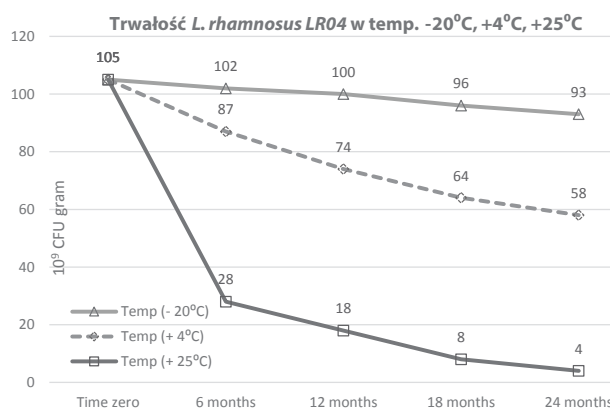
Niestety, nadal pojawiają się niepokojące informacje, że istotna część dostępnych na rynku probiotyków nie zawiera w opakowaniu deklarowanej ilości szczepów probiotycznych lub szczepy te nie są do końca sklasyfikowane czy przebadane (1).

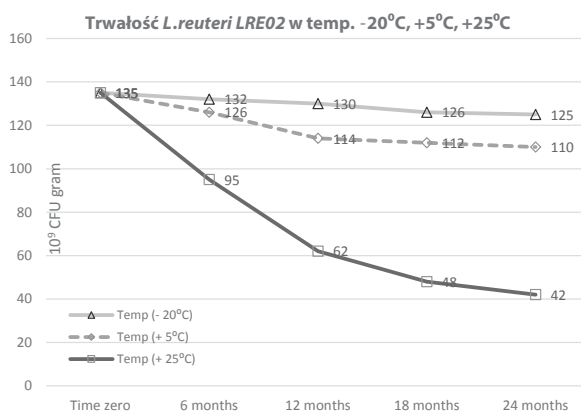
Aby probiotyk spełniał swoje funkcję i przynosił korzyści zdrowotne pacjentowi, musi przetrwać nie tylko proces technologicznej produkcji, ale również zachować trwałość w okresie dystrybucji i przechowywania.

Najwyższą kontrolę pod tym względem mamy przy produktach wytwarzanych w standardzie farmaceutycznym GMP. Informacje, na które zarówno lekarz, jak i farmaceuta powinni zwrócić szczególną uwagę przy poleceniu probiotyku to:

- czy producent stosuje pełną identyfikację szczepów,
- dawka szczepów (CFU) w kapsułce i w opakowaniu,
- produkcja GMP i technologie użyte do ochrony bakterii (sposób pakowania, podłoże, warunki przechowywania).

Warunki przechowywania dotyczące temperatury odgrywają kluczową rolę w trwałości szczepów bakterii z gatunku *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, wykorzystywanych do produkcji probiotyków. Praktycznie wszystkie szczepy wykazują znaczącą zależność od temperatury. Część szczepów nawet w warunkach chłodniczych (+5°C) nie jest w stanie przetrwać okresu 12 czy 24 miesięcy.





Dane przedstawione na wykresach nr 1 i 2 prezentują utratę żywych kultur bakterii (CFU), nawet w temperaturze lodówkowej. Wyniki te stanowią najlepszy przykład, że rozwój produktów probiotycznych w farmacji i medycynie w równym stopniu zależy od wyizolowania i pozyskania szczepów probiotycznych aktywnych klinicznie, jak również nowoczesnych technologii zapewniających trwałość w okresie przechowywania jak również tranzytu żołądkowo-jelitowego.

Niekorzystne oddziaływanie otoczenia

Na przeżywalność szczepów probiotycznych niekorzystnie wpływają parametry tj.: temperatura, ciśnienie osmotyczne, wilgotność, światło, a nawet rodzaj użytego podłoża probiotycznego, opakowanie czy typ zastosowanej kapsułki.

W synbiotykach podłoże jest elementem zapewniającym odpowiedni wzrost bakterii. Najczęściej stosowane są podłoża z wielocukrów, tj.: FOS, inulina czy skrobia. Cukry te w większości mają udokumentowane działanie zdrowotne, które jednak u osób z dolegliwościami jelitowymi mogą być gorzej tolerowane. Dodatkowo podłoża te posiadają wysoką liczbę wodną, co sprawia że bakterie zbyt szybko się namnażają i obumierają na etapie przechowywania. Istnieją podłoża, które cechują się dobrą tolerancją przez osoby z IBS, takie jak błonnik rozpuszczalny. Pektyny, słuzy roślinne i gumy, to frakcje rozpuszczalnego błonnika, które nie wywołują wzdęć, nie drażnią jelit, a jednocześnie część z nich charakteryzuje się niską aktywnością wodną, co wydłuża przeżywalność bakterii.

Warto również zwrócić uwagę na rodzaj kapsułki. Zwykle stosowane są kapsułki żelatynowe. Żelatyna, charakteryzuje się wysoką liczbą wodną, przez co bakterie LAB szybciej chłoną wodę, przyspiesza się ich metabolizm i obumierają, co również jest zjawiskiem niekorzystnym na etapie przechowywania produktu.

Tranzyt żołądkowo-jelitowy LAB

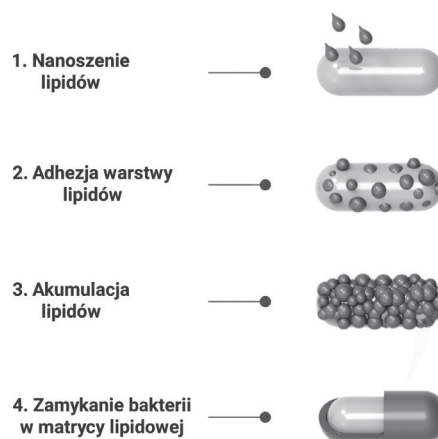
Probiotyki po zażyciu są poddawane silnemu działaniu soku żołądkowego, żółci i enzymów trawiennych. Niskie pH w żołądku ma znaczenie barierowe i ochronne, co stanowi podstawowy mechanizm obrony przed bakteriami chorobotwórczymi. W przypadku doustnych probiotyków działanie niskiego pH soku żołądkowego ma jednak nie-

korzystny efekt. Zdecydowana większość szczepów bakterii LAB jest wrażliwa na działanie soku żołądkowego, żółci i enzymów trawiennych. Niektóre szczepy LAB przy krótkiej ekspozycji na sok żołądkowy są w stanie przetrwać, jednak żółć i enzymy trawienne w dwunastnicy powodują wręcz lawinową destrukcję pałeczek kwasu mlekowego (LAB). Elementy prawidłowo funkcjonujących procesów trawiennych przewodu pokarmowego w konsekwencji prowadzą nawet do 10-krotnej redukcji liczby bakterii probiotycznych, zanim te dotrą do jelita cienkiego.

Tranzyt żołądkowo-jelitowy bakterii probiotycznych stał się tym samym wyzwaniem technologicznym dla przemysłu farmaceutycznego, gdyż tylko niewielka część szczepów LAB jest w stanie dotrzeć do jelit i wywołać korzystny efekt terapeutyczny.

Coraz częściej pojawiają się formy probiotyków zamknięte w kapsułkach olejowych lub dojelitowych, które mają ochronić pałeczki *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* przed niekorzystnym działaniem enzymów i niskim pH.

4 ETAPOWY PROCES MIKROENKAPSULACJI



Nowa technologia ochrony

Jedną z najnowszych i jednocześnie najbardziej obiecujących technologii ochrony szczepów probiotycznych przed działaniem czynników środowiskowych, a jednocześnie zapewniających transfer do jelit, jest technologia mikroenkapsulacji.

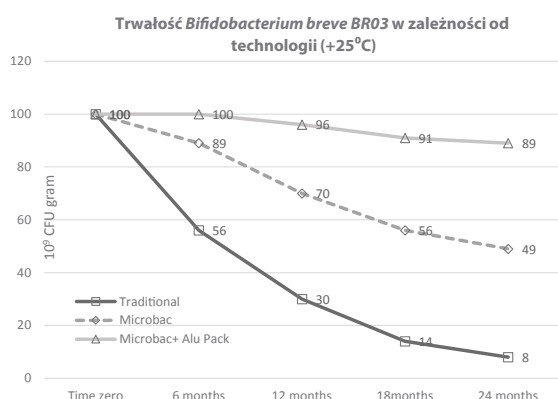
Mikroenkapsulacja to opatentowany proces powlekania szczepów bakterii (m.in. MICROBAC), który prowadzi do „zamykania” liofilizowanych szczepów bakterii w matrycach lipidowych, co znacząco wydłuża przeżywalność szczepów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, w niekorzystnych warunkach soku żołądkowego, żółci i enzymów trawiennych, a także kilkukrotnie zwiększa kolonizację pałeczek LAB w świetle jelit (2,3).

Proces mikroenkapsulacji prowadzony jest w specjalistycznych urządzeniach fluidalnych, w ściśle kontrolowanych warunkach. Technologia ta, w rezultacie gwarantuje szczepom bakterii LAB ochronę przed niekorzystnymi warunkami otoczenia, takimi jak utlenianie, zmiany ciśnienia osmotycznego, wilgoć i zmiany pH.

Potwierdzona skuteczność

Skuteczność mikroenkapsulowania pałeczek LAB na kolonizację jelit została potwierdzona w badaniach klinicznych z użyciem szczepów powlekanych w technologii mikroenkapsulacji i niepowlekanych (metoda tradycyjna). Zastosowanie technologii mikroenkapsulacji aż 5-krotnie zwiększa ilość żywych kultur bakterii probiotycznych (LAB) w jelitach. Ochotnicy przyjmujący dziennie 2 mld CFU bakterii probiotycznych w formie mikroenkapsulacji uzyskali wyższe stężenie LAB w jelitach, niż pacjenci przyjmujący dziennie 10 mld CFU w formie niepowlekanej (4,5).

W badaniach klinicznych przeprowadzonych przez M. Del Piano i współpracowników skupiono się na przebadaniu szczepów wykazujących istotne efekty kliniczne oraz często stosowanych w mieszankach probiotycznych (6). Kliniczną skuteczność mikroenkapsulacji potwierdzono m.in. na szczepach: *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), który ma najwyższy stopień referencyjności w hamowaniu biegunek antybiotykowych u dzieci i dorosłych (7);



Lactobacillus acidophilus LA02 (DSM 21717) i *Lactobacillus plantarum* LP01 (LMG P-21021), ograniczających do 50% objawy towarzyszące pacjentom z zespołem jelita drażliwego (IBS) (8) oraz bakterii z gatunku *Bifidobacterium breve* BR03 (DSM 16604) i *Bifidobacterium lactis* BS01 (LMG P-21384) wykazujące korzystny wpływ na odbudowę mikroflory jelitowej i ograniczeniu zaburzeń ze strony przewodu pokarmowego, m.in.: zaparcie u dorosłych i dzieci.

Badania pokazują, że zastosowanie metody MICROBAC jest skutecznym sposobem na zapewnienia wysokiej przeżywalności szczepów probiotycznych w tranzycie jelitowym. Technologia MICROBAC zwiększa przeżywalność kultur bakterii w temperaturze pokojowej, co przy zastosowaniu dodatkowych czynników (tj. odpowiednie podłoże, opakowanie ALU-ALU) umożliwia przechowywanie probiotyków w warunkach pokojowych (temp. +25°C) zapewniając deklarowaną ilość probiotyków w całym okresie daty ważności produktu.

Przykład podany na wykresie 3, przedstawia jak technologia ma kluczowe znaczenie na stabilność, a tym samym skuteczność pałeczek LAB. Przeżywalność szczepu probiotycznego w okresie przechowywania może ulegać zmianie, w zależności od użytych metod produkcji. Na wspomnianym wykresie została przedstawiona trwałość szczepu *Bifidobacterium breve* BR03 (DSM16604), w czasie 0-24 miesięcy. W tradycyjnych metodach, już po 6 miesiącach przechowywania obserwowany jest prawie 50% spadek ilości szczepów, a po 2 latach przeżywa jedynie 8%. Zastosowanie technologii MICROBAC znacząco zwiększa trwałość szczepów w czasie przechowywania. Po 2 latach przeżywalność jest notowana na poziomie ok. 50%. Jeśli technologię MICROBAC wzmocnimy odpowiednim opakowaniem, jakie stosuje się w przypadku antybiotyków (blister Alu-Pack), trwałość szczepu zachowuje się na poziomie 90% nawet pod koniec okresu trwałości produktu.

Wnioski

Mikroenkapsulacja wydaje się zatem nowym kierunkiem w rozwoju produktów probiotycznych, zapewniającym:

- większą trwałość bakterii probiotycznych w okresie produkcji i przechowywania (odporność na temperaturę i wilgotność)
 - 5-krotnie zwiększony tranzyt jelitowy i większą biodostępność bakterii LAB w jelicie cienkim i grubym.
- W celu uzyskania efektu prozdrowotnego pacjentów niezbędne jest zastosowanie odpowiedniej liczby jednostek tworzących kolonie bakterii kwasu mlekowego, w dawkach rekomendowanych przez WHO. ■

Literatura:

- (1) Raport NIK, Nr ewid. 195/2016/P/16/078/LLO
- (2) Del Piano M. et al. In Vitro Sensitivity of Probiotics to Human Pancreatic Juice. J Clin Gastroenterol. 2008; 42 (3): S170-173.
- (3) Charteris WP. et al. Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. J Appl Microbiol. 1998; 84 (5):759-768.
- (4) Del Piano M. et al. Evaluation of the intestinal colonization by microencapsulated probiotic bacteria in comparison with the same uncoated strains. J Clin Gastroenterol. 2010 Sep;44 Suppl 1:S42-6.
- (5) Del Piano M. et al. Is microencapsulation the future of probiotic preparations? The increased efficacy of gastro-protected probiotics. Gut Microbes. 2011 Mar-Apr; (2):120-3
- (6) Del Piano M. et al. Comparison of the kinetics of intestinal colonization by associating 5 probiotic bacteria assumed either in a microencapsulated or in a traditional, uncoated form. J Clin Gastroenterol. 2012 Oct;46 Suppl:S85-92.
- (7) Valeria Agamennone, Cyrille A. M. Krul, Ger Rijkers and Remco Kort. A practical guide for probiotics applied to the case of antibiotic-associated diarrhea in The Netherlands. Agamennone et al. BMC Gastroenterology (2018) 18:103
- (8) Alfredo Saggiaro, MD. Probiotics in The Treatment of Irritable Bowel Syndrome. J Clin Gastroenterol, July 2004, Volume 38, Supp.2
- (9) Hill, C. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 11, 506-514 (2014)
- (10) Amal Bakr Shori. Microencapsulation Improved Probiotics Survival During Gastric Transit. HAYATI Journal of Biosciences 24 (2017) 1e5
- (11) Technical data sheet 2013 for probiotic strain: *Lactobacillus reuteri* LRE02 (DSM 23878), *Bifidobacterium breve* BR03 (DSM 16604), *L.rhamnosus* LR04 (DSM 16605)
- (12) Aziz Koleilat. Probiotics Nowadays. EC Pediatrics 2.1 (2016): 100-106