

# 微胶囊包埋技术在益生菌制品中的应用

## Application of entrapped probiotics by microencapsulation

刘瑛华 赵进宝 吕秀芳

LIU Ying-hua ZHAO Jin-bao LU Xioufang

(完达山乳业股份有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150090)

(Wondersun Dairy Company, Harbin, Heilongjiang 150090, China)

**摘要:** 益生菌对人体具有保健功效, 在乳制品中的应用日趋广泛, 但制品中益生菌的存活率很低。微胶囊包埋是保护益生菌免受外界环境侵害的常用方法, 综述了益生菌的微胶囊包埋技术及在生产中的应用。

**关键词:** 益生菌; 微胶囊; 挤压; 乳化

**Abstract:** The health function was provided by probiotic bacteria lead to their increasing use in dairy products. Encapsulation has been investigated to protect the bacteria in the product's environment and improve their survival. It reviews the techniques and the application for encapsulation of probiotic bacteria.

**Keywords:** Probiotics; Microencapsulation; Extrusion; Emulsion

益生菌是活的微生物制剂, 能够改善宿主的肠道微生态平衡。寄居在人体肠道内的益生菌能抑制有害微生物和食物中病原微生物如沙门氏菌等的生长<sup>[1]</sup>。益生菌在肠道内通过产生酸、细菌素及竞争肠道黏膜的受体和提高机体免疫力来发挥功效<sup>[2,3]</sup>。益生菌在肠道内可以产生  $\alpha$ -半乳糖苷酶, 能够缓解乳糖不耐症患者的症状<sup>[4]</sup>。益生菌还具有抗肿瘤和抗突变的作用, 益生菌的这种功能涉及多个因素, 如抑制致癌物和能够转化致癌物的微生物, 提高机体免疫力等<sup>[5]</sup>。已有文献报道益生菌具有降低血清胆固醇的能力<sup>[6]</sup>。

有多种不同的微生物作为潜在的益生菌被添加到发酵乳制品中, 这些微生物包括双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、胚芽乳杆菌、发酵乳杆菌、粪链球菌和嗜热链球菌等<sup>[7]</sup>。目前的研究表明要获得所期望的保健效果, 产品中益生菌的含量必须足够高。日本的发酵乳与乳酸菌饮料协会规定乳中的益生菌菌数至少为  $10^7$  个/mL, 以确保有足够的活菌发挥保健功能<sup>[8]</sup>。但是益生菌对外界环境的抵抗能力很弱, 许多研究已经证实酸奶和发酵乳中的益生菌的存活比率很低。

发酵乳制品在  $-18^\circ\text{C}$  的条件下贮存 8~12 周后, 活菌数下降了 5~6 个对数周期。胃酸和胆盐的环境下, 乳制品中嗜酸乳杆菌和双歧杆菌菌数会很快地下降<sup>[9]</sup>。

利用微胶囊包埋技术保护益生菌是目前国内外研究的热点。微胶囊包埋可保护益生菌免受噬菌体的侵害, 提高其在冷冻干燥过程中的存活率, 增加贮存过程中的稳定性。本文对益生菌的微胶囊包埋技术及在酸奶生产中的应用作一简要综述。

### 1 微胶囊包埋益生菌的技术方法

微胶囊是一种采用高分子聚合物或其他成膜材料将物质的微粒或微滴包覆所形成的微小容器, 其粒径一般在微米至毫米级范围, 通常为  $5\sim400\ \mu\text{m}$ 。被包覆的物质称为囊心, 壁壳称囊壁, 构成囊壁的成膜材料称为壁材或囊材。囊壁通常是具有一定强度的半透性多微孔薄膜, 其壁材通常由天然或合成的高分子聚合物构成。由于囊壁的半透膜特性, 使被包覆的囊心物质可选择性地透过囊壁, 因而微胶囊构成一种控制释放系统, 其释放速度由壁材的化学结构、厚度、粒径的大小决定。另一方面, 微胶囊对囊心内被包覆物质起到保护作用, 使其不易变性。

将益生菌用微胶囊技术包埋在壁材内, 可以降低外界环境对细胞的损伤。应用于益生菌的微胶囊包埋技术可分为两类: 挤压法和乳化法。这两种方法都可以将益生菌的存活率提高  $80\%\sim95\%$ <sup>[10]</sup>。

#### 1.1 挤压法

挤压法是最普遍的利用亲水胶体制备微胶囊的方法。它包括制备亲水胶体溶液, 加入微生物细胞, 挤压细胞悬液, 使其通过注射式针头, 以液滴的形式落入固定液中。最终产品的形状和大小取决于针头的直径和液滴下落的距离。挤压法的优点是操作简单, 成本低和较高的细胞存活率。

挤压法制备微胶囊最常用的壁材是海藻酸钠。海藻酸钠是由 D-吡喃甘露糖醛酸和 L-吡喃古洛醛酸组成的线性多糖。不同来源的海藻酸钠其组成及 D-吡喃甘露糖醛酸和 L-

作者简介: 刘瑛华 (1972-), 女, 黑龙江省完达山乳业股份有限公司  
助理工程师。E-mail: xinhua@sin.com

收稿日期: 2004-02-12

吡喃古洛醛酸的序列差异很大,同时这些差异也显著影响海藻酸钠作为包埋壁材的功能性质。二价阳离子如  $\text{Ca}^{2+}$  更易于与 L-吡喃古洛醛酸的聚合物相联结。海藻酸钠中 D-吡喃甘露糖醛酸多聚物的长度影响微胶囊颗粒的结构特征<sup>[11]</sup>。

为形成固体胶粒,细胞悬液与海藻酸钠的溶液混合,然后该混合物滴入含多价离子的溶液中,液滴立即形成凝胶球。海藻酸钠作为微胶囊壁材的优点是制备条件温和、简单、价格低廉和较高的生物相容性<sup>[12]</sup>。

形成微胶粒的海藻酸钠溶液的浓度并不固定,微胶粒的直径大约 2~3 mm,如表 1 所示。颗粒的大小和外形取决于海藻酸钠溶液的浓度和液滴下落的距离。随着海藻酸钠浓度的提高,颗粒直径变小。挤压器的出口孔径是另外一个重要影响因素,它可以控制液滴的大小。液滴的大小也受海藻酸钠组成的影响,L-吡喃古洛醛酸的含量越低,则微球的直径越小<sup>[13]</sup>。

1.2 乳化法

乳化包埋法是将少量益生菌细胞悬液(非连续相)加入到大量的植物油中(连续相)如大豆油、葵花籽油或玉米油,然后经过均质形成油-水乳液。一旦油水乳液形成,水溶性的多聚物相互交联,在油中形成不溶性的微小胶粒。乳液中不连续相的体积越小,最后形成的微粒的尺寸越小。形成油不溶性的微粒的方法取决于所选用的壁材,最后通过过滤收集微胶粒。微胶粒的大小取决于搅动速率,一般的微粒的尺寸在 25  $\mu\text{m}$  和 2 mm 之间。此项技术已成功用于包埋乳酸菌生产发酵乳<sup>[14]</sup>。

1.2.1 连续相介质<sup>[15]</sup> 对于食品生产来说,植物油一般被用来作为连续相介质,也有学者利用石蜡油和矿物油来作为连续相。由于乳化剂能够降低表面张力,因此加入乳化剂可以改善乳化状态,形成更小的微胶粒。目前最常用的乳化剂是 Tween-80 (0.2%)。

1.2.2 壁材 用于乳化法的壁材有很多种,包括卡拉胶和刺槐豆胶的混合物,海藻酸钠、壳聚糖和明胶等。

卡拉胶 卡拉胶是从红藻中提取的天然多糖,通常作为食品添加剂使用,一般是在 60~80℃ 下制备浓度为 2%~5% 的卡拉胶溶液。改变温度可促进卡拉胶形成凝胶。灭菌后的卡拉胶溶液冷冻至 40~45℃ 后,加入细胞悬液,降至室温后就会形成凝胶。当微胶粒形成后,K 离子 ( $\text{KCl}$ ) 常用来稳定凝胶,防止膨胀。但  $\text{KCl}$  对某些乳酸菌有一定的抑制作用,其它一些单价离子如  $\text{Rb}^+$ 、 $\text{Cs}^+$ 、 $\text{NH}_4^+$  同  $\text{K}^+$  相比能够形成强度更高的凝胶。在卡拉胶中添加 50% 的刺槐豆胶可显著提高凝胶的强度<sup>[16]</sup>。

壳聚糖<sup>[17]</sup> 壳聚糖是带正电的线性多糖,以几丁质为原料经过脱乙酰化后制得,在 pH 6.0 以下可溶于水中,壳聚糖可以被阴离子或多聚阴离子交联,如多聚磷酸盐、 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 、 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ 。但壳聚糖对乳酸菌有不同程度的抑制作用。为克服这一缺点,可以先将用海藻酸钠包埋的微胶粒浸泡在 0.4% 的壳聚糖溶液中约 40 min,最终胶粒中的菌数可达到  $10^{10} \text{ cfu g}^{-1}$ 。

明胶<sup>[18]</sup> 明胶是一种蛋白质,作为包埋壁材具有形成热可逆凝胶的特点。由于明胶具有两性的特点,当 pH 值在明胶的等电点以下时,带正电荷的明胶与带负电荷的 gellan-gun 相互作用,所形成凝胶能将微生物细胞包覆。明胶还可通过与甲苯-2,4-二异氰酸盐交联来包埋乳酸菌进行生物转化。

2 挤压和乳化包埋方法的比较

挤压法和乳化法是目前常用的包埋益生菌的方法。这两种技术的优缺点见表 1。挤压法相对简单,但同乳化法相比由于微胶体形成速度慢,因此并不适于大规模应用。乳化法是一门新兴技术,便于大规模工业化生产。相对于挤压法,乳化法形成的胶粒更小 (25  $\mu\text{m}$ ~2 mm)。挤压法形成的微胶粒的大小尺寸取决于注射器针孔直径,而乳化法则取决于搅动速率及使用的乳化剂的类型。由于需要食用植物油作为连续相介质,乳化法的成本比挤压法高。

表 1 挤压法和乳化法的比较

	成本	操作过程	存活率/ %	胶粒大小
挤压法	低	复杂	80~95	2~5 mm
乳化法	高	简单	80~95	25 $\mu\text{m}$ ~2 mm

3 应用

同传统的间歇式生产方法相比,微胶囊固定化微生物细胞生产发酵乳制品相对较复杂,但具有很多优点。应用微胶囊包埋技术生产的发酵产品品质更稳定,微胶囊包埋技术可使干酪的发酵时间缩短 50%~60%,也可使发酵冰淇淋中乳酸杆菌的活菌数增加 40%,经过微胶囊包埋处理后,双歧杆菌制品在贮存过程中的活菌数可增加 10%~20%<sup>[19]</sup>,经包埋后的益生菌对肠道环境的抗性增强,有利于在肠道内定殖。

微胶囊包埋技术还可用于其他微生物转化过程,该技术可使菌种免受噬菌体的侵染,而且,包埋后的微生物细胞更加稳定,代谢物的产率也更高,微胶囊包埋处理可使发酵液中的细胞密度由  $18.6 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$  提高到  $123.1 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$ 。在实际生产中向发酵介质中添加碳酸钙可使包埋微生物的微胶粒更加稳定<sup>[20]</sup>。

4 结论

微胶囊包埋处理益生菌作为一项新技术已广泛用于多种发酵乳制品的生产。目前对益生菌微胶囊化的研究仅限于应用方面。今后有必要对包埋后的微生物的代谢及代谢产物的传递行为进行深入研究,这对扩大应用范围、简化操作有重要意义。

参考文献

1 Kim, K., huh, J. H. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria[J]. Journal of Dairy Science, 1993, 76(8):2168~2174.  
2 Ravula, R. R., Shah, N. P. Viability of probiotic bacteria in fermented frozen dairydesserts [J]. Food Australia, 1998, 50(3):136~139.  
3 赵刚,王大泉,李建清. 益生菌应用于菌群调节及免疫调节的研究现状[J]. 中国微生态学杂志, 2001, 10(2):120~121.

- 4 Noh, D. O., Gilliland, S. E. Influence of bile on cellular integrity and beta ~ galactosidase of *Lactobacillus acidophilus*[J]. *Journal of Dairy Science*, 1993, 76(5):1253 ~ 1259.
- 5 Gilliland, S. E. *Acidophilus* milk products: A review of potential benefits to consumers[J]. *Journal of Dairy Science*, 1989, 72(10):2483 ~ 2494.
- 6 Buck, L. M., Gilliland, S. E. Comparisons of freshly isolated strains of *Lactobacillus acidophilus* of human intestinal for ability to assimilate cholesterol during growth [J]. *Journal of Dairy Science*, 1994, 77(10):2925 ~ 2928.
- 7 张艳杰, 徐红华. 益生菌及在食品中的应用[J]. *中国乳品工业*, 2001, 29(5):47 ~ 50.
- 8 曹永梅, 许时婴, 张灏. 肠溶性双歧杆菌微胶囊的制备[J]. *食品与发酵工业*, 1999, 25(2):71 ~ 77.
- 9 Hekmat, S., MacMahon, D. J. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in the ice cream for use as probiotic food[J]. *Journal of Dairy Science*, 1992, 75(6):1415 ~ 1422.
- 10 Kebary, K. M. K., Hussein, S. A., Badawi, R. M. Improving viability of *Bifidobacteria* and their effect on frozen ice milk[J]. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 1998, 26(2):319 ~ 337.
- 11 Skjak ~ Braek, G., Larsen, B., Smidsrod, O. Tailoring of alginates by enzymatic modification in vitro[J]. *International Journal of biological Macromolecules*, 1986, 8(6):330 ~ 336.
- 12 Tanaka, H., Masatose, M., Veleky, I. A. Diffusion characteristics of substances in Ca ~ alginate beads[J]. *Biotechnology and bioengineering*, 1984, 26(1):53 ~ 58.
- 13 Martinsen, A., Skjak, ~ Braek, C., Smidsrod, O. Alginate as immobilization material. .Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads [J]. *Biotechnology and bioengineering*, 1989, 33(1):79 ~ 89.
- 14 Audet, P., Lacroix, C., Paquin, C. Continuous fermentation of a supplemented whey permeate medium with immobilized *Streptococcus salivarius* ssp. *Thermophilus*[J]. *International Dairy Journal*, 1992, 2(1):1 ~ 15.
- 15 Wunwisa, K., Bhesh, B., Hilton, D. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt [J]. *International Dairy Journal*, 2003, 13(1):3 ~ 13.
- 16 Audet, P., Paquin, C., Lacroix, C. Immobilized growing lactic acid bacteria with k ~ carrageenan ~ locust bean gum gel[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1998, 29(1):11 ~ 18.
- 17 Zhou. Y., Martins, E., Goboillot, A., Champagne, C. P. Spectrophotometric Quantification of lactic bacteria in alginate and control of cell release with chitosan coating[J]. *Journal of Applied microbiology*, 1998, 84(3):342 ~ 348.
- 18 Hyndman, C. L., Goboillot, A. F., Pncelet, D. Microencapsulation of *Lactococcus Lactis* within cross ~ linked gelatin membranes[J]. *Journal of chemical Technology and Biotechnology*, 1993, 56(3):259 ~ 263.
- 19 Kearney, L., Upton, M., Loughlin, A. Enhancing the viability of *Lactobacteria plantarum* inoculum by immobilizing the cells in calcium ~ aggligate beads [J]. *Applied and Enviromental Microbiology*, 1990, 56(10):3112 ~ 3116.
- 20 Mrin, N., Bernier ~ Cardou, M., champagne, C. P.. Production of *Lactococcus Lactis* biomass by immobilized cell technology[J]. *Journal of Industrial Microbiology*, 1992, 9(2):131 ~ 135.

(上接第 54 页)

强还原剂,能抑制氧化酶系统的活性,可减少 Vc 氧化损失,防止酶褐变,因此在脱水野菜生产中采用 0.25 %亚硫酸氢钠溶液热烫野菜 1 ~ 2 min 为最佳预处理,既能保持制品的色泽,又能提高营养成分的保存率。

### 2.3 干制方法对制品质量的影响

从表 3 可知传统干制方法晒干和烘干的制品质量最差,色泽呈褐绿色,组织皱缩严重,Vc 保存率最低;远红外干燥的制品呈黄绿色,皱缩,Vc 保存率为 24.4 %;微波 ~ 烘干的制品为深绿色,Vc 保存率较低,为 11.3 %;干制质量最好的是微波、微波 ~ 远红外干燥的制品为深绿色,组织稍有皱缩,Vc 保存率为 59.5 %、30.3 %,是晒干和烘干制品的 5 ~ 11 倍,而干燥时间缩短 1/2 以上,因此微波、微波 ~ 远红外干燥是脱水野菜最适的干制方法。

### 3 结论

本试验通过对野菜生长期间主要营养成分的分析测定,确定了野菜麦瓶草、地肤最适采收期。脱水野菜生产中用 0.25 %亚硫酸氢钠溶液热烫野菜 1 ~ 2 min 为最佳预处理。

微波、微波 ~ 远红外干燥是最适的干制方法,其制作工艺既能保持野菜的色泽,又能提高营养成分保存率,同时缩短了干制时间。而且制品复水率高,在适宜的条件下可长期保持其良好的品质。

### 参考文献

- 1 陈学平.果蔬产品加工工艺学[M].北京:中国农业出版社,1995.
- 2 杨明.浅谈蔬菜盐渍保鲜中变色反应及色泽控制[J].食品工业科技,1997(4):63 ~ 66.
- 3 梁瑞红,屈乾娜,刘成梅,等.脱水蔬菜研制[J].中国畜产品与食品,1997(4):30 ~ 31.
- 4 王成芝,张敏,张凤东,等.脱水蔬菜干制前预处理工艺的试验研究[J].农业工程学报,1996(1):166 ~ 170.
- 5 洪若豪.出口脱水花椰菜热风干制技术[J].农村实用工程技术,1997(1):28;1997(2):25.
- 6 罗自生.果蔬原料加工时的变色和护色措施[J].食品科技,1997(6):23 ~ 24.
- 7 郝明.蔬菜干制中常见的问题[J].食品工业科技,1997(3):27 ~ 28.